

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Phytopathologie et phytopharmacie

**Thème : Etude in vitro du pouvoir antagoniste de *Trichoderma harzianum*
vis-à-vis de *Botrytis cinerea* agent causal de la pourriture grise de la tomate
(*Lycopersicon esculantum*).**

Présenté par : Zerguine Karima.

Devant le jury composé de :

Président (e) : Mme Azzouz F M.A.A

Université de Guelma

Examineur : Mr Mahdjoubi D M.A.A

Université de Guelma

Encadreur : Mr Boumazaa B M.A.A

Université de Guelma

Juin 2014

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes chers parents qui m'ont encouragé durant toutes mes études.

À mon marié « Imad » qui m'a encouragé durant ce travail.

A mes chères sœurs : « Imene » et « Besma » et ces enfants : « Aness, Shaima et Yasser » et je n'oublie pas ces marient « Samir » et « Youcef ».

À mon frère « Hssine » et sa femme « Fethia » et ces enfants : « Aya » et « wassime ».

A toute la famille « zerguine ».

A tous mes amis « Meriem » et « Yasmine ».

A tous ceux que j'aime.

karima

Remercîment

Remercîment

Mes remerciements vont d'abord à Dieu tout puissant de m'avoir donné la force et la Patience de réaliser ce travail.

J'exprime ma reconnaissance à M Boumazaa.B; Professeur à l'Université de Guelma, pour avoir accepté de m'encadrer. Ses conseils, ses orientations m'ont été très bénéfiques pour la réalisation de ce mémoire, qu'elle soit rassurée de ma profonde gratitude.

Je remercie Mme Azzouz.F Professeur à l'Université de Guelma, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

Je remercie M Mahdjoubi .D ; d'avoir eu l'amabilité d'accepter de faire partie du jury et de juger ce travail.

Je tiens à remercier toutes les techniciennes du laboratoire :Hassiba et Wafa.

Mes remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Trois isolats de *Botrytis cinerea* ont été isolés à partir des feuilles et des tiges de différentes variétés de tomates afin d'étudier le pouvoir antagoniste de *Trichoderma harzianum* à l'égard de *Botrytis cinerea* agent responsable de la pourriture grise de la tomate, et évalué l'effet de la salinité sur les modes d'action antagoniste à l'encontre du *Botrytis cinerea*. Tous les isolats testés se sont développés de 50 à 150ppm, le chlorure de sodium reste encore efficace que le chlorure de calcium sur le développement de la croissance mycélienne. Les pourcentages inhibiteurs de la croissance mycélienne les plus faibles ont été notés en présence de CaCl₂. Ils atteignent 34.78 % pour l'isolat TR46 et 26.72 % pour l'isolat F27. L'effet des sels se traduit par une stimulation de la production des conidies à différentes concentrations testés. On remarque que le chlorure de calcium qui est moyennement efficace à la sporulation de trois isolats testés. Les résultats obtenus mettent en évidence une action inhibitrice de *T. harzianum* sur les trois stades du cycle de vie de *B. cinerea*. L'effet de la salinité sur le pouvoir antagoniste de *T. harzianum* vis-à-vis de *B. cinerea* a montré que les conditions salines de milieu de culture provoqué une inhibition de la croissance mycélienne de cet agent pathogène. Cet effet est nettement plus marqué lorsqu'on utilise la technique de confrontation entre *T. harzianum* et *Botrytis cinerea* en présence de chlorure de calcium.

Mots clés : Tomate, *Lycopersicon esculent Miller*, *Botrytis cinerea*, *Trichoderma harzianum*, Confrontation, Antagonisme.

Abstract

Three isolates of *Botrytis cinerea* were isolated from the leaves and stems of different tomato varieties to study the antagonistic power of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea* responsible for gray mold of tomato agent and evaluated effect of salinity on patterns of antagonistic action against *Botrytis cinerea*. All isolates tested grew 50 to 150 ppm, the sodium chloride is still effective as calcium chloride on the development of mycelia growth. Inhibitors of the percentages lowest mycelia growth were noted in the presence of CaCl₂. They reach 34.78% for the isolate TR46 and 26.72% for isolate F27. The effect of the salts results in a stimulation of the production of conidia at different concentrations tested. Note that the calcium chloride is moderately effective sporulation of three isolates tested. The results obtained show an inhibitory effect of *T. harzianum* in the three stages of the life cycle of *B. cinerea*. The effect of salinity on the power of *T. harzianum* antagonist vis-à-vis *B. cinerea* showed that salt conditions of culture medium caused inhibition of mycelia growth of the pathogen. This effect is much more pronounced when using the technique of confrontation and *Botrytis cinerea* *T. harzianum* in the presence of calcium chloride.

Keywords: Tomato, *Lycopersicon esculent* Miller, *Trichoderma harzianum*, *Botrytis cinerea*, Confrontation, Antagonism.

ملخص

ثلاث عزلات من *Botrytis cinerea* اخدت من أوراق والسيقان أصناف مختلفة من نبات الطماطم لدراسة القوة المعادية لـ *Trichoderma harzianum* ضد *Botrytis cinerea* المسؤول عن العفن الرمادي لطماطم و كذلك لتقييم تأثير الملوحة على الأنماط العدائية لـ *Botrytis cinerea*. جميع العزلات المختبرة نمت في الأوساط من 50 إلى 150 mmp، و يبقى كلوريد الصوديوم فعال على كلوريد الكالسيوم في تطوير النمو أفطوري (Croissance Mycélienne). كما لوحظت نسب نمو أدنى بحضور $CaCl_2$. حيث وصلت إلى 34.78% للـ TR46 و 26.72% للـ F27. تأثير الأملاح يؤدي إلى تحفيز إنتاج غبيرات (Conidia) بمختلف التركيزات المختلفة التي تم اختبارها. و تجدر الإشارة بأن كلوريد الكالسيوم متوسط الفعالية بالنسبة لتبوغ العزلات الثلاث. النتائج التي تم الحصول عليها تظهر تأثير كابح من *T. harzianum* على المراحل الثلاثة لدورة حياة *Botrytis cinerea*. تأثير الملوحة على قوة *T. harzianum* ضد *B.cinerea* أظهرت بان الأوساط المالحة تسبب تثبيط نمو الفطر المسبب للمرض. هذا التأثير يكون أكثر وضوحا عند استخدام أسلوب المواجهة بين *B.cinerea* و *T. harzianum* بحضور كلوريد الكالسيوم.

الكلمات الرئيسية: الطماطم، *Trichoderma harzianum*، *Botrytis cinerea*، *Lycopersicon esculent Miller*، المواجهة، والعداء.

Liste des abréviations

Liste des abréviations

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture.

ha : Hectare.

% : Pourcentage.

DSA : Direction des services agricoles de la wilaya de Mostaganem, service des Statistiques 2010.

°C : Degré Celsius.

mm : Millimètre.

cm : Centimètre.

INRA : Institut national de la recherche agronomique.

µm : Micromètre.

PDA : Milieu de culture (*Potato Dextrose Agar*).

SV: Substance volatile.

ans : Année

Ppm : Part per million (partie par million), désignant une concentration d'une substance égale à 10^{-6} , soit un millionième.

ml : Millilitre.

mm/j : Millimètre par jour.

NaCl : Chlorure de sodium.

CaCl : Chlorure de calcium.

P : Probabilité.

CM: Carré moyen.

DDL: Degrée de liberté.

Liste des abréviations

TEST F: Teste de Fisher.

S.C.E: Somme carré des écarts.

Liste des figures

Figures	Titre	Pages
1	Origine et distribution de la culture de la tomate dans le monde	1
2	Les principaux pays producteurs de tomate dans le monde	4
3	Évolution de superficie et de la production mondiale de tomate de 1999 à 2009	5
4	Superficies et production de tomate de 1999 à 2009 en Algérie	5
5	Description de <i>Botrytis cinerea</i>	15
6	Symptômes causés par l'agent pathogène <i>Botrytis cinerea</i> sur différents hôtes	16
7	Cycle de développement (production asexuée) de <i>Botrytis cinerea</i> sur différentes culture	17
8	Dégâts causés par <i>B. cinerea</i> dans une serre de tomate et chancre développé sur tige de tomate suite à un effeuillage.	18
9	Le marché mondial des biopesticides et des pesticides synthétiques, 2003-2010	24
10	Aspect morphologique d'un conidiophore de <i>Trichoderma</i>	28
11	dispositif expérimental pour le test de confrontation directe entre <i>T.harzianum</i> et <i>B.cinerea</i> .	33
12	dispositif expérimental utilisé pour tester l'influence des substances volatiles, émises par <i>T.harzianum</i> , sur la croissance mycélienne de <i>B.cinerea</i> .	34
13	L'effet de salinité de milieu sur la croissance mycélienne de champignon pathogène <i>Botrytis cinerea</i> .	35
14	L'effet de salinité de milieu sur la sporulation de champignon pathogène.	36
15	L'effet de salinité de milieu sur la germination de conidies de champignon pathogène.	37
16	Effets inhibiteurs de <i>Trichoderma harzianum</i> sur la croissance mycélienne (mm) et taux d'inhibition des isolats de <i>B.cinerea</i> (technique de confrontation directe).	39
17	Effets inhibiteurs de <i>T. harzianum</i> sur la croissance mycélienne (mm) et taux d'inhibition des isolats de <i>B.cinerea</i> (technique de confrontation indirecte).	42
18	Effet inhibiteur de <i>T. harzianum</i> sur le nombre de conidies produites par le champignon <i>B.cinérea</i> .	44
19	Effet de la salinité sur l'antagonisme in vitro de <i>Trichoderma harzianum</i> vis-a-vis de <i>B. cinerea</i> (confrontation directe).	45
20	Effet de la salinité sur l'antagonisme in vitro de <i>T. harzianum</i> vis-à-vis de <i>B. cinerea</i> (confrontation indirecte).	46

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	les maladies bactériennes de la tomate et leurs dégâts	10
2	les maladies virales de la tomate et leurs dégâts	11
3	Les micro-organismes inscrits en tant que biopesticides à l'agence de protection de l'environnement des Etats-Unis.	25
4	Isolats de <i>B.cinerea</i> avec leurs désignations et origine.	30
5	Analyse de variance de test de confrontation directe.	39
6	Les groupes homogènes de test de confrontation directe.	40
7	Analyse de variance de test de confrontation indirecte.	40
8	Les groupes homogènes de test de confrontation indirecte.	41
9	synthèse des résultats obtenus en confrontation directe et en confrontation indirecte.	42
10	le nombre de spore des isolats de <i>Botrytis cinerea</i> par cellule.	43
11	Taux d'inhibition pour la confrontation directe et confrontation indirecte.	47
12	Analyse de variance de test de confrontation directe.	47
13	Les groupes homogènes pour le test de confrontation directe.	48
14	Analyse de variance de test de confrontation indirecte.	48
15	Les groupes homogènes de test de confrontation indirecte.	49

Liste des annexes

Liste des annexes

Annexe	Titre
1	Planche 1 : effet de la confrontation directe entre <i>T.harzianum</i> et <i>B.cinerea</i> .
2	Planche 2 : effet de la confrontation indirecte entre <i>T.harzianum</i> et <i>B.cinerea</i> .
3	Planche 3 : effet de la confrontation directe entre <i>T.harzianum</i> et <i>B.cinerea</i> (Tr 46) à la présence de deux sels NaCl et CaCl ₂ .
4	Planche 4 : effet de la confrontation directe entre <i>T.harzianum</i> et <i>B.cinerea</i> (F 27) à la présence de deux sels NaCl et CaCl ₂ .
5	Planche 5 : effet de la confrontation directe entre <i>T.harzianum</i> et <i>B.cinerea</i> (B 26) à la présence de deux sels NaCl et CaCl ₂ .

Table des matières

Dédicace

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

Introduction

Première partie : Etude bibliographique

Chapitre I. La plante hôte : *La tomate (Lycopersicon esculentum Miller)*

1. Historique et origine de la tomate.....	1
2. Classification de la tomate	1
2.1. Classification botanique.....	1
2.2. Classification génétique.....	2
2.2.1 .variétés fixées	2
2.2.2. Variétés hybrides.....	2
2.3. Classification culturelle.....	2
3. Description botanique de la plante de la tomate.....	3
4. le cycle de la culture de la tomate.....	3
5. culture de la tomate.....	3
5.1. La culture de plein champ.....	3
5.2. La culture sous abris.....	4
6. Importance économique.....	4
7. Les principaux pays producteurs de tomate.....	4

8. Surfaces et productions de la tomate en Algérie.....	5
9. Situation phytosanitaire de la tomate.....	6
9.1. Contrainte abiotique.....	6
9.1.1. Stress thermique.....	6
9.1.2. Stress salin.....	6
9.1.3. Stress hydrique.....	7
9.2. Contrainte biotique.....	7
9.2.1. Les ravageurs	7
9.2.1.1. Les pucerons.....	7
9.2.1.2. Les thrips.....	7
9.2.1.3. La noctuelle de la tomate.....	7
9.2.1.4. Mineuse de la tomate <i>Tuta absoluta</i>	7
9.2.1.5. Les aleurodes.....	8
9.2.1.6. Les acariens.....	8
9.2.2. Les maladies de la tomate.....	8
9.2.2.1. Maladies cryptogamique.....	8
9.2.2.1.1. Mildiou.....	8
9.2.2.1.2. Alternariose.....	9
9.2.2.1.3. Fusariose.....	9
9.2.2.1.4. Verticilliose.....	9
9.2.2.1.5. Anthracnose.....	9
9.2.2.1.6. Oïdium.....	9
9.2.2.1.7. Pourriture grise.....	10
9.2.2.2. Maladies bactériennes.....	10
9.2.2.3. Maladies virale.....	10
9.2.2.4. Les mauvaises herbes.....	12

Chapitre. II. L'agent pathogène : *Botrytis cinerea* Pers. (anamorphe)

1. Taxonomie.....	13
2. Description.....	13
3. Gamme d'hôtes de <i>Botrytis cinerea</i>	15
4. Cycle de développement de <i>Botrytis cinerea</i>	16
5. Symptômes de <i>Botrytis cinerea</i>	18
6. Facteurs de développement de <i>B. cinerea</i>	19
6.1. Température/humidité.....	19
6.2. La lumière.....	19
6.3.-Exigences nutritives.....	20
7 .Moyens de lutte.....	20
7.1 Lutte chimique	20
7.2 Lutte génétique	20
7.3 Lutte biologique	21
Chapitre. III. L'agent antagonisme : <i>Trichoderma harzianum</i>.	
1. Introduction.....	22
2. Les modes d'action des agents antagoniste.....	22
2.1. Antibiose	23
2.2. Mycoparasitisme	23
2.3. Compétition	23
3. Le marché des biopesticides	24
3.1. Avantage des biopesticides.....	25
3.2. Désavantages des biopesticides.....	25

4. Cas de <i>Trichoderma harzianum</i>	26
4.1. Classification taxonomique.....	27
4.2. Aspect morphologie.....	27
4.3. Ecologie.....	28
4.4. Habitats.....	28
4.5. Interaction <i>Trichoderma</i> -Pathogènes.....	29

Deuxième partie : Etude expérimentale

Chapitre I. Matériel et méthodes

1. Matériel.....	30
1.1. Matériel fongique.....	30
1.1.1. Les isolats de <i>Botrytis cinerea</i>	30
1.1.2. Le champignon antagoniste.....	30
2.1. Etude morphologique des isolats du champignon pathogène.....	30
2.1.1. Impact de la salinité du milieu sur les mécanismes d'action de <i>B. cinerea</i>	30
2.1.1.1. Effet sur la croissance mycélienne.....	31
2.1.1.2. Mesure de la vitesse de la croissance mycélienne.....	31
2.1.1.3. Evaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène	31
2.1.1.4. Effet sur la sporulation	32
2.1.1 .5. Effet sur la germination des conidies	32
2.2. Activité antagoniste du <i>Trichoderma</i> vis-à-vis de <i>B. cinerea</i>	33
2.2.1. Technique de confrontation directe.....	33
2.2.2. Technique de confrontation indirecte	33
2.3. Influence de la salinité du milieu sur l'antagonisme vis-à-vis de <i>B.cinérea</i>	34

Chapitre II : Résultats et discussions

I. Résultats	35
1. Etude morphologique des isolats du champignon pathogène.....	35
1.1. Impact de la salinité du milieu sur les mécanismes d'action de <i>B. cinerea</i>	25
1.1.1. Effet sur la croissance mycélienne et mesure de la vitesse de la croissance mycélienne	35
1.1.2. Effet sur la sporulation.....	36
1.1.3. Effet sur la germination des conidies.....	37
2. Activité antagoniste du <i>Trichoderma</i> vis-à-vis de <i>B. cinerea</i>	38
2-1-Technique de confrontation directe	38
2-2- Technique de substances volatiles.....	40
2-3-Comparaison entre les deux techniques de confrontations.....	42
2-4-Effet sur la sporulation.....	43
3- Influence de la salinité sur l'antagonisme in vitro de <i>T. harzianum</i> vis-à-vis de <i>B.cinerea</i>	44
3-1-Evaluation de l'effet de la salinité sur la croissance mycélienne (confrontation directe et indirecte).....	44
II. Discussion.....	50

Conclusion

Références bibliographique

Annexes

Introduction

La tomate constitue une composante importante des régimes alimentaires quotidiens en Algérie, et des sources importantes en protéines et de sa composition en vitamines et d'autres éléments essentiels pour la santé.

La production de la tomate en Algérie n'a pas augmenté en raison d'une faible productivité avec un rendement instable. Les causes de cette régression sont d'ordres agronomiques, abiotiques et biotiques.

En culture sous serres, la tomate est sujette à de nombreuses maladies cryptogamiques qui peuvent contribuer à l'altération qualitative et quantitative de récolte. Ces maladies sont liées à des changements dans l'environnement, notamment la température, l'humidité et la salinité.

Botrytis cinerea est le principal agent des pourritures grises de différentes cultures en Algérie, notamment les cultures d'intérêt économique comme la tomate. Le pathogène peut infecter les fleurs, les feuilles, les bourgeons, les pousses, les tiges et / ou des fruits, ce qui limite souvent le développement des plantes, la nouaison, le rendement et la qualité des fruits.

La lutte contre cet agent pathogène s'effectue principalement au moyen de produits phytosanitaires de synthèse. Ces produits chimiques est considérés comme l'arme la plus efficace pour faire face à ce problème, mais ces substances présentent des inconvénients sur (1) l'environnement comme l'accumulation de résidus et la pollution des sols, (2) l'apparition de nouveaux pathotypes résistants, (3) le déséquilibre écologique, dû au fait que beaucoup de ces composés de synthèse ont un large spectre d'action, détruisant non seulement les agents nuisibles, mais également les autres populations de l'écosystème.

Au regard de ces inconvénients, il est important de trouver des solutions alternatives qui permettront de continuer à lutter contre cet agent pathogène tout en diminuant l'emploi de pesticides. Celles-ci peuvent faire appel à la rationalisation des pratiques agricoles, à l'utilisation de variétés végétales résistantes (croisements sélectifs, insertion de gènes...) ou au développement des biopesticides. La lutte génétique est l'une des méthodes les plus efficaces pour lutter contre les maladies.

Le contrôle biologique de cette maladie par l'introduction de microorganismes bénéfiques dans la rhizosphère a été proposé comme une alternative à l'utilisation des substances chimiques. Ces biopesticides ou agents de lutte biologique, peuvent être définis

Introduction

comme des produits phytosanitaires dont le principe actif est un micro-organismes (bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les plantes vis-à-vis d'agent phytopathogène, mais aussi de substances d'origine naturelle telles que des extraits végétaux, phéromones.

Des résultats positifs ont été obtenus, sur plusieurs d'expérimentation, avec les champignons du genre *Trichoderma*, *Penicillium*, et les bactéries du genre *Bacillus*. Ces microorganismes se sont révélés être les plus performants à supprimer le *Botrytis cinerea*

Trichoderma harzianum est parmi les microorganismes bénéfiques les plus utilisés dans la bioprotection des plantes contre les champignons phytopathogènes. Cet antagoniste s'est montré très efficace dans la lutte contre *Rhizoctonia solani* (Elad et al., 1981 et Camporota, 1985), *Botrytis* (Eden et al., 1996 ; Harman et al., 1996), *Pythium* (Lifshitz et al., 1986 ; Besnard & Davet, 1993 ; Howell, 2002), *Fusarium* (Datnoff et al., 1995 ; Haggag & Amin, 2001, Essalmani & Lahlou, 2002), *Phytophthora nicotianae* (Stefanova et al., 1999), et *Verticillium* (D'Ercole et al., 2000 ; Regragui & Lahlou, 2005) et autres. Par ailleurs, certaines souches de *Trichoderma* semblent exercer une action stimulatrice de la croissance des plantes en l'absence de tout agent pathogène (Windham et al., 1986 ; Ozbay & Newman, 2004).

A la lumière de ces données, ce travail a eu pour objectifs d'étudier in vitro, l'effet antagoniste de *Trichoderma harzianum* vis-à-vis de 3 isolats de *Botrytis cinerea*

Ce présent mémoire contient trois (3) parties :

- La première, comporte une étude bibliographique sur la plante hôte, la tomate, *Botrytis cinerea* , les biopesticides et certaines données sur l'agent de lutte biologique (*Trichoderma harzianum*).
- La deuxième partie concerne une étude expérimentale
- Enfin, dans la troisième partie de ce mémoire comporte conclusion.

Chapitre I :

La plante hôte : la tomate (Lycopersicon esculentum Miller)

Partie Bibliographique

Chapitre III:

L'agent antagoniste :Trichoderma harzianum

Partie Expérimentale

Chapitre II :

L'agent pathogène : Botrytis cinerea Pers. (anamorphe)

Chapitre I :
Matériels Et Méthodes

Chapitre II :
Résultats et Discussion

Conclusion générale

Introduction Générale

Annexe

Référence bibliographique

Chapitre I : la plante hôte : La tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller)

1-Historique et origine de la tomate

La tomate est d'origine sauvage américaine, en particulier d'Amérique centrale et Amérique du Sud (Kolev., 1976). Le centre de domestication de *Lycopersicon esculentum* se situe au Mexique. La tomate s'est largement installée dans toutes les zones tropicales et subtropicales d'Amérique, allant jusqu'aux Texas et en Floride, puis introduite en Europe en 1544 (Naika et al., 2005). La tomate fut introduite par les portugais aux philippines puis dans les autres régions d'Asie. C'est l'Europe qui verra les premières variétés cultivées aux Etats-Unis.

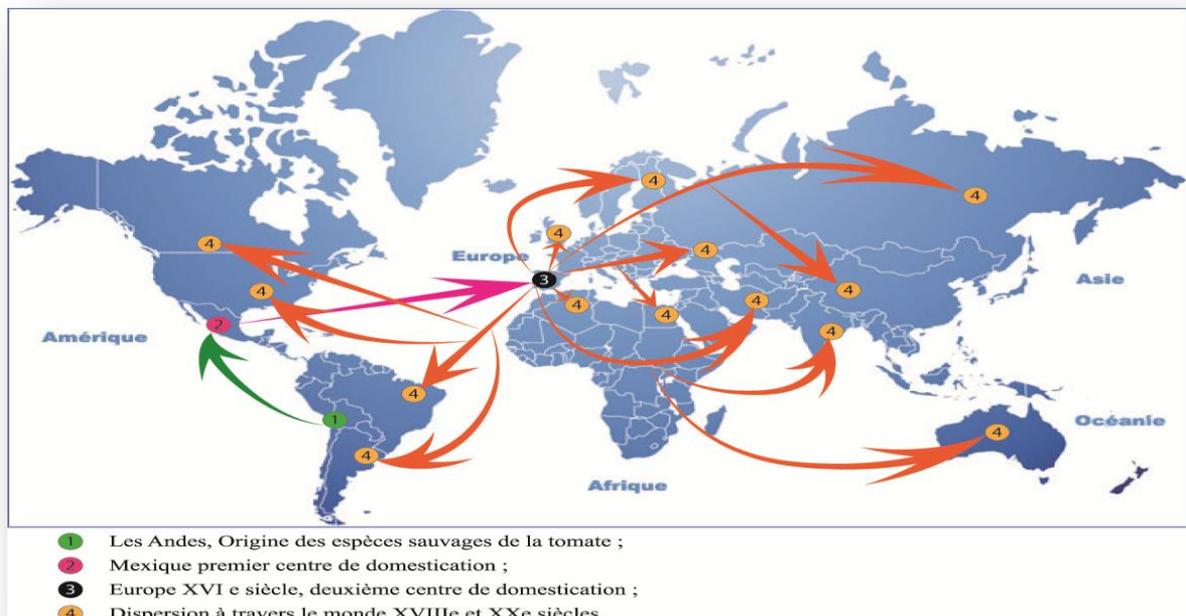


Figure 01 : Origine et distribution de la culture de la tomate dans le monde (Philouze., 1986 ; Philouze et Laterrot., 1992, Naika, et al., 2005 ; Celma et al., 2009 ; Vanier, 2009).

2-Classification de la tomate

2-1-Classification botanique

La tomate a été classée scientifiquement par Linné en 1753 dans le genre *Solanum*, avec comme nom binomial *Solanum lycopersicum* mais en 1768 Miller a reclassé cette espèce dans le genre *Lycopersicon*. Sa dénomination officielle devient alors *Lycopersicon esculentum* Miller (Andrew., 2001).

Sa classification est la suivante :

Règne	Plantae (plantes)	Ordre	Solanaeae
Section	Angiospermes	Famille	Solanaceae
Embranchement	Anthophyta	Genre	Lycopersicon
Classe	Dicotylédons	Espèce	<i>Lycopersicon Esculentum.</i> Miller

2-2-Classification génétique

La sélection génétique de la tomate vise aujourd'hui à produire des variétés ou des cultivars adaptés à certaines conditions climatiques, a des techniques précises, ainsi qu'à une utilisation particulière. Mais l'amélioration génétique garde toujours pour principaux objectifs des rendements élevés, la résistance à une ou plusieurs maladies et ou ravageurs.

2-2-1-Variétés fixées

Il existe plus de cinq cents variétés fixées (conserver les qualités parentales). Leurs fruits sont plus ou moins réguliers, sont sensibles aux maladies, mais donnent en général des fruits d'excellente qualité gustative.

2-2-2-Variétés hybrides

Les variétés hybrides sont plus nombreuses. Elles sont relativement récentes, puisqu'elles n'existent que depuis 1960. (Polese., 2007).

2-3-Classification culturelle

Il existe deux types de croissance chez la tomate:

- variétés à croissance déterminée : La tige émet un nombre donné de bouquets de fleurs. La tige principale est terminée par un bouquet de fleurs et de ce fait, la croissance s'arrête. Elle donne des pieds qui ont 60 à 80 cm de hauteur. Ces variétés donnent une récolte élevée mais peu étendue dans le temps. Ce sont des variétés pour la culture industrielle (tomate pelée...).

- variétés à croissance indéterminée : La tige principale forme un bouquet de fleurs toutes les 3 feuilles. La production de fruits est prolongée. On arrête la croissance par pincement de la tige principale à la hauteur désirée. Les rendements sont importants et répartis sur une période assez longue (Blancard.,2009).

3-Description botanique de la plante de la tomate

Sur le plan botanique la tomate est une espèce diploïde ($2n = 24$). C'est une plante de famille de solanacées, comme la pomme de terre, l'aubergine et le poivron. C'est une plante vivace dans sa région d'origine, mais en culture on la considère comme plante annuelle.

La feuille est composée, à foliole ovale, un peu denté. Les fleurs, petits, jaunes, en forme d'étoile, sont groupées sur un même pédoncule.

Le fruit est une baie, c'est-à-dire un fruit charnu, à peau lisse. Les tomates sont les plus souvent rouges, mais il existe des variétés à fruits jaunes ou violacés et parfois même blancs de forme ronde ou plus ou moins allongée, lisse ou creusée de sillons. (Chaux et Foury., 1994, Shankara *et al.*, 2005)

La tomate a un système racinaire important. De nombreuses racines primaires, secondaires, tertiaires prennent naissance sur un pivot puissant. Les racines peuvent atteindre 85 à 90 cm de long, mais les principales racines nourricières se rencontrent entre 25 et 35 cm de profondeur.

Sa tige est verte pourvue de poils blanchâtres. Elle porte les feuilles, les fleurs et les fruits. On distingue deux grandes catégories de tige : La tige à croissance déterminée et La tige à croissance indéterminée. (NAIKA *et al.*, 2005).

4- Le cycle de la culture de la tomate

Le cycle complet graine à graine est de 90 à 120 jours dans des conditions optimales ; la première fleur apparaît de 50 à 60 jours après le semis et il faudra encore de 40 à 70 jours après la fleur pour que le fruit soit mûr. Le cycle de culture de la tomate est fonction de la variété en présence. (Polese., 2007).

5- Cultures de la tomate

La tomate est cultivée selon deux systèmes principaux qui sont:

5-1- La culture de plein champ

Ce système de culture est le plus répandu. Si l'irrigation est disponible, les plantations peuvent être faites en saison sèche. La mécanisation est souvent réduite à la préparation du sol.

5-2- La culture sous abris

Ce système de culture vise à produire les tomates au long de l'année. Généralement, les tomates cultivées sous tunnels à couverture plastique sont plantées en sol. Elles sont conduites en rangs simples ou jumelés, avec une tige par plante érigée verticalement par une ficelle.

La culture sous abri fournit aujourd'hui une part essentielle du marché de frais pour les légumes-fruits tels que la tomate. (Snoussi ., 2010).

6- Importance économique

La tomate est cultivée dans le monde entier y compris dans des régions relativement froides grâce au développement des cultures sous abri. Par son volume de production, la tomate est classée deuxième culture légumière après la pomme de terre (FAO stat., 2010). A l'échelle mondiale selon la FAO en 2010, près de cinq millions d'hectares (4.98 million /ha) sont réservés annuellement à la culture de la tomate dont la production représente 141.4 millions de tonnes avec un rendement moyen de 28.3 tonnes à l'hectare.

7- Les principaux pays producteurs de tomate

La Chine est le premier producteur mondial de tomate avec plus de 24% de la production totale en 2009 (FAO stat., 2010). Les États-Unis qui produisent 10 % de la production mondiale occupent la 2^{ème} position. Ils sont suivis par l'Inde avec 7.88%, la Turquie (7.59%), l'Égypte (7.07%), l'Italie (4.51%), l'Iran plus de 5 millions de tonnes, l'Espagne et le Brésil avec plus de 4 millions de tonnes chacun (FAO stat.,2010).

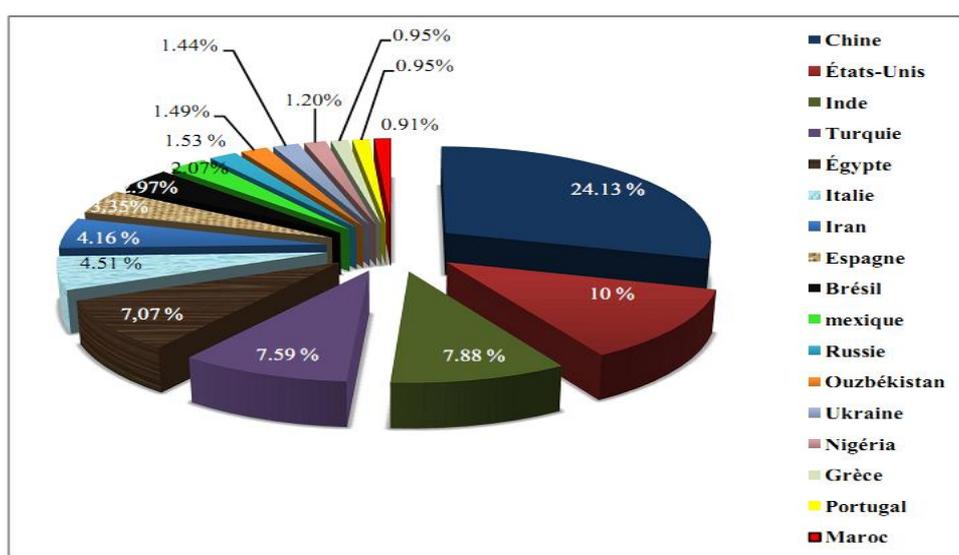


Fig. 02 : Les principaux pays producteurs de tomate dans le monde (FAO stat., 2010)

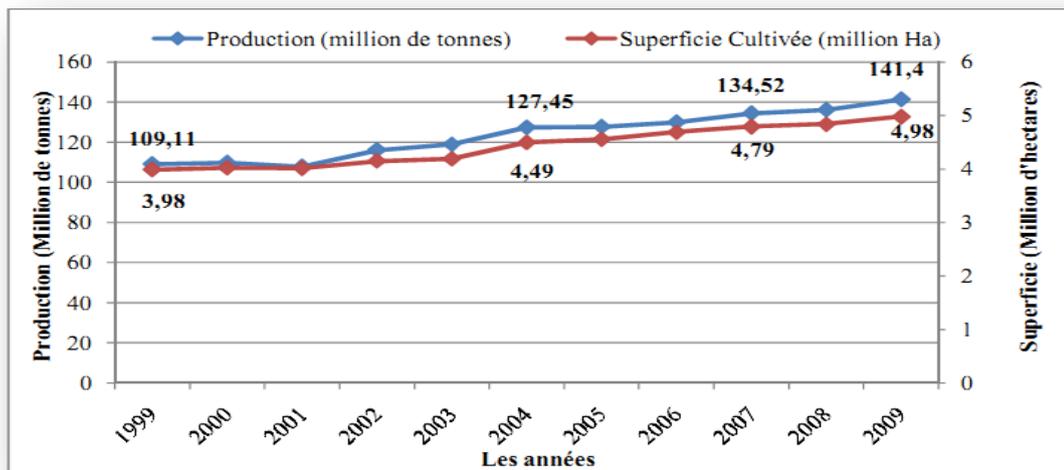


Fig. 03 : Évolution de superficie et de la production mondiale de tomate de 1999 à 2009 (FAO stat., 2010).

8-Superficies et productions de la tomate en Algérie

La tomate est l'une des productions maraîchères les plus cultivées en Algérie. En 1999 sur une superficie de 55210 Ha la production était de 945,8 mille tonnes. En 2004, sur une superficie globale de 46739 ha consacrée à la tomate, la production a atteint 1092.2 mille tonnes. Entre 2006 et 2007 la production a été de 796,1 mille tonnes sur une superficie de 31005 ha. En 2008 on note une réduction qui a ramené les superficies à 19655 ha, la production a été estimée à 559.24 mille tonnes (FAO stat., 2010). Les statistiques de l'année 2009 établies par le Ministère de l'agriculture algérienne font état d'une superficie globale de tomate cultivée de 20789 ha, dont 18620 ha ont été consacrés à la tomate de plein champ, et 2170 ha cultivés sous serre. (DSA., 2010).

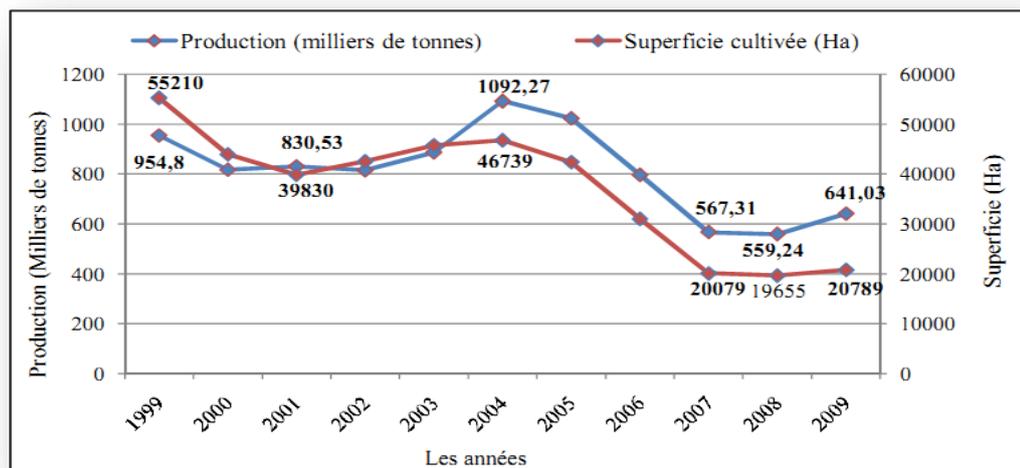


Fig. 04 : Superficies et production de tomate de 1999 à 2009 en Algérie (Faostat., 2010).

La figure 04 montre des variations dans la production algérienne entre 1999 et 2009 ainsi que les variations dans les superficies consacrées à la culture de tomate.

9- Situation phytosanitaire de la tomate

9-1- Contraintes abiotiques

9-1- 1 Stress thermique

La tomate est une espèce exigeante en chaleur pour sa croissance et son développement. Par conséquent elle est donc très sensible au froid. Il y a lieu de noter qu'un abaissement progressif de la température produit moins de dégât qu'un abaissement brutal. Wacquand (1995) note que le zéro de végétation de la tomate est de 10°C, mais elle peut supporter pendant quelques heures aussi bien des températures basses (5 à 8 °C) que des températures supérieures ou égales à 35°C sans compromettre le rendement. Pour cela, il faut choisir des espèces et des variétés résistantes.

9-1- 2 Stress salin

La salinité est un facteur environnemental très important qui limite la croissance et la productivité (Allakhverdiev et al., 2000b in Parida et Das., 2005). La tomate est classée parmi les plantes à tolérance modérée vis-à-vis de la salinité. La chute de rendement est imperceptible pour une conductivité électrique de 2,50 mmhos/cm. Une baisse de rendement, peut être de 10% à une (CE) égale à 9,3 mm hos/cm et de 100% (maximale) quand la (CE) est de 12,5 mm hos/cm. La phase de sensibilité la plus importante au sel correspond à la germination et à la levée des jeunes plantules. (Doorenbos et al., 1980).

9-1- 3 Stress hydrique

Le stress hydrique occupe une place particulière du fait de sa fréquence et de la place que l'eau occupe dans les phénomènes métaboliques. De part son rôle dans la photosynthèse, le transport et l'accumulation, ainsi que dans la multiplication et le grandissement cellulaire, l'eau a un rôle essentiel dans la croissance et le développement des plantes (Mazliak, 1995; Heller et al., 1998; Hopkins, 2003; Enixon, 2004)

9-2- Contraintes biotiques

9-2-1- Les ravageurs

Parmi les insectes, il existe plusieurs groupes qui sont très redoutables

9-2-1-1-Les pucerons

Près de 4700 espèces de pucerons ont été recensées sur les plantes de par le monde. Parmi elles, un nombre plus limité affecte la tomate. Les espèces *Myzus persicae* (Sultzer), *M. certus* (Walker), *Aulacorthum solani* (kaltenbach) et *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas), *Aphis fabae* (Scopoli), *A. frangulae* (kaltenbach), *A. gossypii* (Clover) sont les espèces les plus fréquentes sur tomate (Csizinszky et al., 2005).

9-2-1-2-Les thrips

Les thrips sont des petits insectes de l'ordre des Thysanoptères famille des Thripidae qui causent des dommages sur les feuilles et peuvent leur transmettre des maladies virales très importantes comme le Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV). Deux espèces sont rencontrées sur tomate en serre il s'agit de *Thrips tabaci* (Lindeman) et *Frankliniella occidentalis* (Pergande).

9-2-1-3-La noctuelle de la tomate

Helicoverpa armigera (Hübner) (*Lepidoptera: Noctuidae*) est l'espèce la plus importante sur tomate, mais en Algérie ses attaques sont sporadiques (Guenoui, com.per 2010). Les dégâts causés par les chenilles se traduisent par des trous dans les tomates ; ces attaques qui passent inaperçues entraînent des pertes commerciales très élevées lorsque la production est destinée à la conserverie (Inra, 2008).

9-2-1-4- La mineuse de la tomate *Tuta absoluta*

T. absoluta est un ravageur exclusif des solanacées, mais il attaque préférentiellement la tomate. Cette espèce s'est introduite récemment en Algérie. Le premier signalement s'est produit dans la région de Mostaganem (Nord ouest d'Algérie) à la fin de l'hiver 2008 (Guenoui,

2008). Ce microlépidoptère provoque des pertes de rendement de la tomate car ses larves peuvent se nourrir sur toute la plante (feuilles, tiges, fleurs, et fruits).

9-2-1-5-Les aleurodes

Les aleurodes (*Homoptera : Aleyrodidae*) sont des insectes qui peuvent causer des dégâts importants sur tomate. On y rencontre deux espèces : *Bemisia tabaci* (Gennadius) et *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood).

9-2-1-6-Les acariens

Les acariens sont un groupe de la classe des Arachnides qui peuvent causer des dégâts importants sur la tomate. En Algérie, un acarien du genre *Tetranychus* a été signalé sur tomate par Guenaoui (2010). Cet acarien identifié comme *Tetranychus evansi* Baker et Pritchard a été observé sur tomate en octobre 2008 avec des populations denses.

9-2-2- Les maladies de la tomate

9-2-2-1-Maladies cryptogamiques

9-2-2-1-1-Mildiou

Le mildiou, causé par *Phytophthora infestans*, est une des principales maladies de la tomate du fait des pertes financières induites. Il est caractérisé par l'apparition de taches brunes huileuses à la face supérieure des feuilles se desséchant en leur centre et correspondant à un duvet blanc à la face inférieure. Les portions de nervures comprises dans ces plages brunissent. Taches brunes sur tiges et pétioles. Les jeunes fruits mildiousés présentent des bosselures brunes, dures et marbrées avec parfois un feutrage blanc. Ils ne parviennent pas à mûrir. (Snoussi ., 2010).

9-2-2-1-2-Alternariose

L'Alternariose (aussi appelée brûlure alternarienne) est caractérisée par l'apparition de taches noires arrondies à la surface des feuilles, des tiges et des fruits. Ces taches sont caractérisées par une croissance en anneaux concentriques, donnant aux lésions une forme de cible. L'Alternariose étant un parasite de faiblesse, il est primordial de mettre la plante dans des conditions optimales afin d'éviter tout risque de carence. Les apports en éléments fertilisants doivent donc prévenir tout risque de stress au niveau de l'alimentation de la plante. (Snoussi ., 2010).

9-2-2-1-3-Fusariose

La tomate peut être victime de deux maladies fusariennes différentes soit le flétrissement fusarien (fusarium wilt) causé par *fusarium oxysporum f.sp lycopersici*. Abrégées fol et la pourriture de la racine et du collet (*fusarium crown and root rot*) causé par *fusarium oxysporum f.sp radialis lycopersici* Abrégées forl. Les agents des fusarioses sont de graves agents de flétrissement chez la tomate, on parle alors de fusariose vasculaire. Qu'il s'agisse de jaunissement puis de flétrissement, ces symptômes sur une plante en relation avec la phyllotaxie sur des Plantes ramifiées certaines branches peuvent être entièrement flétrites alors d'autres restent demi-saines ou saines. (Snoussi ., 2010).

9-2-2-1-4-Verticilliose

Les verticillioses, sont des maladies fongiques vasculaires (trachéomycoses) causées par des ascomycètes du genre *Verticillium*. Les parasites de ce genre se rencontrent fréquemment sous les climats tempérés où ils attaquent une large gamme d'espèces cultivées ou ornementales. Le champignon responsable de cette maladie se trouve dans le sol et pénètre dans la plante par ses racines puis progresse à l'intérieur de celui-ci véhiculé par la sève.

Comme les autres trachéomycoses, les verticillioses provoquent des flétrissements et des chloroses suivis de nécroses et de défoliation. L'attaque commence par la partie basse de la plante et souvent sur un côté seulement. Les feuilles flétrissent et se dessèchent comme si la plante était arrivée à maturité. (Snoussi ., 2010).

9-2-2-1-5-Anthraxose

L'Anthraxose est une maladie due à un champignon, appelé *Colletotrichum gloeosporioides*, et qui attaque de nombreuses autres plantes. Son développement est favorisé en saison humide et il peut provoquer des dégâts importants par temps de pluie. Cette maladie provoque habituellement des dessèchements des tiges, des tâches noires circulaires de 05 à 10 mm sur les fruits rouges. La zone affectée, de consistance molle, s'étend graduellement et se déprime. (Snoussi ., 2010).

9-2-2-1-6-Oïdium

L'oïdium est une des plus importantes maladies foliaires. Appelée aussi maladie du blanc", causer des dommages assez importants sur les cultures. En général, cette maladie apparaît tardivement, aussi il n'est pas toujours nécessaire d'intervenir. (Snoussi ., 2010).

9-2-2-1-7-Pourriture grise

Il fait l'objet de notre étude avec pour objectif principal, la possibilité de la bioprotection de la tomate contre *Botrytis cinerea* par l'utilisation de champignon Antagoniste en particulier le *Trichoderma sp.* Le chapitre 2 est consacré à la synthèse bibliographique sur cet agent pathogène. (Snoussi ., 2010).

9-2-2-2- Maladies bactériennes**Tableau 1** : les maladies bactériennes de la tomate et leurs dégâts (Snoussi ., 2010)

Maladies	Symptômes et dégâts
Moucheture bactérienne (<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>)	Petits points noirs habituellement inférieurs à 2 mm de diamètre, entourés d'une auréole jaune et par des taches noires rarement supérieures à 1mm de diamètre, entourées parfois d'un halo vert foncé, sur les fruits.
Gale bactérienne <i>Xanthomonas. Spp</i>	Sur feuilles, tiges et pétioles de tomate, les lésions se présentent sous forme des zones circulaires (1-5 mm) saturées d'eau, d'abord vertes, puis brunes et nécrosées. Les fruits de tomate portent des taches subérisées de 2 à 10 mm de diamètre, circulaires et à marges saturées d'eau.
Chancre bactérien (<i>Clavibacter michiganensis</i> sub sp. <i>Michiganensis</i>)	Tiges spongieuses avec présence de cavités d'air. Petites taches chancreuses sur les folioles de couleur blanc marron. Jaunissement de la moelle en bordure des vaisseaux sur les tiges. Présence de petites taches blanches, brunes au centre sur les fruits.
Le flétrissement bactérien (<i>Ralstonia solanacearum</i>)	flétrissement irréversible de l'appareil végétatif aérien de la plante qui survient après blocage, par la bactérie de la circulation de l'eau dans la plante.

9-2-2-3- Maladies virales

Un grand nombre de virus sont susceptibles de produire de multiples anomalies sur les feuilles de tomate. La mosaïque et la déformation des feuilles sont les deux principaux symptômes des maladies virales de la tomate. Actuellement l'Algérie ne dispose pas de

substances chimiques permettant de guérir les maladies d'origine virale. Seule la sélection sanitaire, suivie de méthode prophylactique ainsi que l'utilisation des variétés résistantes sont utilisées.

Tableau 2 : les maladies virale de la tomate et leurs dégâts (Idrenmouche., 2011)

Maladies	Symptôme et dégâts
CMV : Cucumber Mosaic Virus	Lorsque l'infection est précoce, on peut observer une stérilité des plantes ou une mal formation des fruits.
TICV : Tomato Infectious Chlorosis Virus	un jaunissement internervaire sur les feuilles basales puis médianes et un retard du développement de la plante. Aucun symptôme n'est visible sur le fruit mais une réduction de calibre est possible en cas de très forte infestation.
TMV : Tobacco Mosaic Virus	une mosaïque verte ou blanche, des folioles gaufrés devenant filiformes et ont tendance à s'enrouler, les fruits encore vert présentent une surface légèrement bosselée avec des plages nécrotiques brunes .Les fruits murs sont parsemés de plages vertes.
ToCV : Tomato Chorosis Virus	Les dégâts observés sont un jaunissement internervaire sur les feuilles basales puis médianes, un jaunissement généralisé à l'ensemble des folioles d'une feuille et un retard du développement de la plante.
TSWV : Tomato Spotted Wilt Virus ou virus de la maladie bronzée de la tomate.	Il est à observer des mouchetures en mosaïque avec une décoloration des feuilles. Sur les tiges et pétioles, il y a apparition des tâches nécrotiques. Par contre sur les fleurs, on observe un nanisme, une déformation et une décoloration. la maladie peut entraîner un rabougrissement du plant.
TYLCV : Tomato Yellow Leaf Curl Virus ou maladie des feuilles jaunes en cuillères de la tomate.	La croissance des plantes atteintes est fortement perturbée .Les feuilles sont de tailles réduites et présentent un jaunissement et ou un enroulement en forme de cuillères. En cas d'infection précoce, les plantes sont naines et ne produisent plus de fruits.

9-2-2-4- Les mauvaises herbes

Plusieurs espèces adventices sont inféodées à la culture de tomate. Les plus fréquentes sont: La morelle noire (*Solanum nigrum*), les chénopodes (*Chenopodium album*, *C. murale*), l'amarante réfléchie (*Amaranthus retroflexus*)...etc.(Snoussi.,2010).

Chapitre II : l'agent pathogène : *Botrytis cinerea* Pers. (anamorphe)

À la frontière des diverses maladies cryptogamiques, *Botrytis cinerea* Pers., agent causal de la pourriture grise, est un champignon polyphage capable d'attaquer plus de 230 espèces de plantes (Jarvis, 1980). La maladie causée par cet agent pathogène conduit à des pertes importantes de rendement sur presque tous les cultures de serre (tomates, haricots, fraises, etc.) à n'importe quel stade de leur développement. Chez la tomate en serre, le champignon infecte les fleurs, les fruits et laisse et peut croître à travers le pétiole dans la tige (Shtienberg et al., 1998).

1. Taxonomie

Botrytis cinerea appartient à la classe des Deutéromycètes, à l'ordre des Moniliales et à la famille des Moniliaceae. Cette espèce possède une forme sexuée classée dans les Ascomycètes, connue sous le nom de *Botryotinia fuckeliana* (Farr et al., 1989). Cette forme sexuée est rarement observée dans le milieu naturel mais peut être obtenue au laboratoire.

C'est la forme asexuée, *B. cinerea*, qui est prédominante et associée à la pourriture grise. *Botrytis cinerea* est un champignon parasite saprophyte qui se conserve l'hiver sur les débris végétaux sous forme de conidies, de mycélium ou de sclérotés (fig. 2).

La systématique des espèces appartenant au genre *Botrytis* est la suivante

Règne	<i>Eumycota</i>
Embranchement	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Deuteromycota</i>
Ordre	<i>Moniliales</i>
Famille	<i>Moniliaceae</i>
Genre	<i>Botrytis</i>
Espèce	<i>Botrytis cinerea</i> Pers.

2. Description

Le nom *Botrytis cinerea* a été donné par Persoon en 1801 à un agent pathogène de la vigne. Ce champignon comme beaucoup d'autres connaît une double classification:

➤ une forme parfaite (téleomorphe), *Botryotinia fuckeliana* (de Barry) Wetzl. C'est un Ascomycète, de la classe des Discomycètes, de l'ordre des Léotiales, famille des Sclerotiniaceae.

➤ une forme imparfaite (anamorphe), *Botrytis cinerea* Pers. C'est un Deutéromycète de la classe des Hyphomycètes, de l'ordre des Moniliales, famille des Moniliaceae. C'est de Bary (1866) qui a établi une relation génétique entre *Botrytis cinerea* Pers., organisme asexué, et *Botryotinia fuckeliana* appelé au départ *Peziza fuckeliana*, organisme sexué. Groves et Drayton (1939) observent pour la première fois, *in vitro*, la formation d'apothécies par *B. cinerea* confirmant le lien systématique entre les deux formes du champignon. C'est cependant le nom de *B. cinerea*, largement connu par les mycologistes et phytopathologistes qui fut retenu alors que généralement le nom scientifique d'un champignon est donné par sa forme sexuée.

B. cinerea possède un mycélium hyalin, cylindrique et cloisonné, grisâtres ou olivâtres, dont le diamètre varie considérablement suivant les conditions de développement des hyphes 11-23 µm. Le mycélium peut se conserver dans les débris de plantes de la culture précédente.

En conditions favorables de l'environnement, *B. cinerea* fructifie pour donner des conidies (figures 2). Les conidies sont généralement unicellulaires apicales produites en amas à la fin de ramifiées (Pearson & Goheen, 1988). Le développement des conidies se manifeste par la production de conidiophores grisâtres (figure 5). Les conidies prennent une part importante dans la dissémination du champignon. Leur libération est favorisée par un climat humide, puis elles sont transportées par le vent, la pluie et les insectes (Holz et al., 2004). En conditions défavorable de l'environnement, *B. cinerea* peut produire des sclérotés (2-4 x 1-3 µm) qui sont extrêmement résistantes, de structures dures, de couleurs gris-noir, qui adhèrent fermement aux surfaces végétales (Pearson & Goheen, 1988). Lorsque les conditions sont favorables, les sclérotés peuvent germer et produire du mycélium ou des conidies.

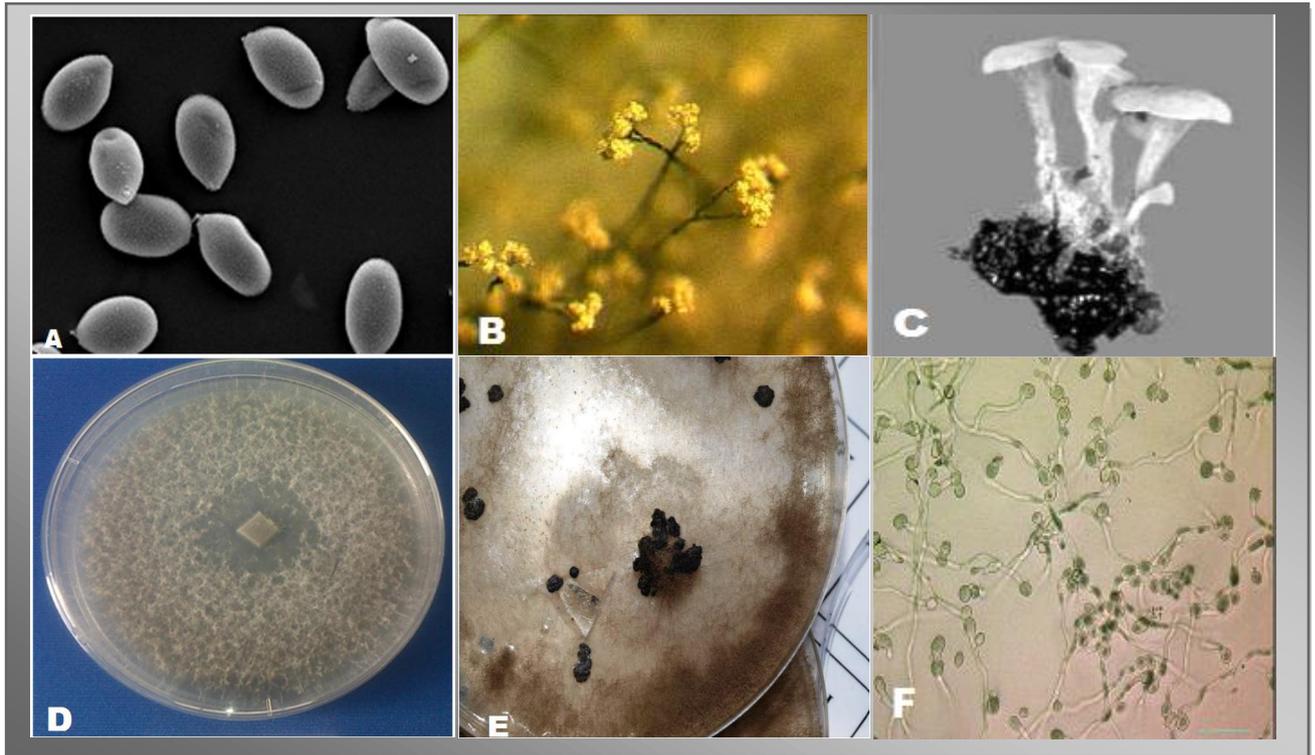


Figure 5 : Sclérote de *Botrytis cinerea* produites sur boîte de pétri après un mois de culture sur un milieu PDA à 21°C(**E**). Conidiphores observés en utilisant une loupe binoculaire (**B**) Apothécie produisant des ascospores sur un sclérote (**C**). *Botrytis cinerea* sur milieu de culture PDA à 25°C (**D**) et en microscopie électronique à balayage (**A**). Observation de la germination des conidies sur milieu riche PDA au microscope optique (**F**). (Sakhr Ajouz.,2009)

3. Gamme d'hôtes de *Botrytis cinerea*

Botrytis cinerea possède une large gamme d'hôtes et peut infecter plus de 230 espèces végétales dont la majorité serait des dicotylédones (Farr et al ., 1989). Parmi ces espèces, certaines comme les cultures maraîchères, horticoles et viticoles ont une importance économique.

Le pathogène peut infecter les fleurs, les feuilles, les bourgeons, les pousses, les tiges et / ou des fruits, ce qui limite souvent le développement des plantes, la nouaison, le rendement et la qualité des fruits dans les cultures fruitières (Maude, 1980; Nicholas et al, 1994), et le rendement et la qualité des récoltes dans les légumes (Maude, 1980; Alfonso et al, 2000). (Fig 6).



Figure 6 : Symptômes causés par l'agent pathogène *Botrytis cinerea* sur différents hôtes. (Sakhr Ajouz.,2009)

4. Cycle de développement de *Botrytis cinerea*

Botrytis cinerea est un champignon nécrotrophe mondialement répandu. Il a la particularité d'être polyphage et ainsi s'attaquer à diverses plantes dès que les conditions climatiques lui sont favorables (Elad et *a l.*, 2004).

Lorsque les conditions deviennent favorables, *B. cinerea* fructifie pour donner de conidie. C'est une cellule unique, différenciée qui a atteint son stade final de développement. Dans de bonnes conditions d'humidité et de température, elle va produire une première cellule fille, le tube germinatif, qui à son tour va se diviser et former un filament multicellulaire, l'hyphe. Celui-ci va former un réseau de plus en plus important, le mycélium. Des facteurs principalement nutritionnels et climatiques vont progressivement arrêter la croissance hyphale et induire la formation d'organes reproducteurs, les conidiophores, sur lesquels un grand nombre de conidies vont apparaître. Le mycélium donne également naissance à des amas mycéliens très denses, les sclérotés, considérés comme les organes de résistance du champignon durant l'hiver.

Les sclérotés ne sont pas directement infectieux mais ils produisent du mycélium qui portera des conidiophores et des conidies. Dans des conditions particulières, développent des apothécies qui donnent des ascospores. Le plus souvent, les sclérotés germent au cours du printemps, forment d'importantes masses de mycélium qui produisent des spores dispersées ensuite par le vent.

B. cinerea pénètre généralement dans le tissu de l'hôte à travers les blessures ou les ouvertures naturelles (Leone et al., 1990 ; Cotorra et Silva, 2005). L'infection s'effectue par l'intermédiaire des hyphes en croissance ou du tube germinatif des conidies (Verhoeff, 1980).

Le développement de *B. cinerea* est dépendant des conditions environnementales. De façon générale, les fortes humidités relatives, la présence d'eau à la surface des feuilles et des températures modérées sont les principaux facteurs reconnus comme favorisant le développement de la pourriture grise (Blakeman, 1980). Outre ces conditions climatiques, le développement de *B. cinerea* dépend notamment de la disponibilité en nutriments dans le milieu et de la qualité de la lumière pour la sporulation (Jarvis, 1992).

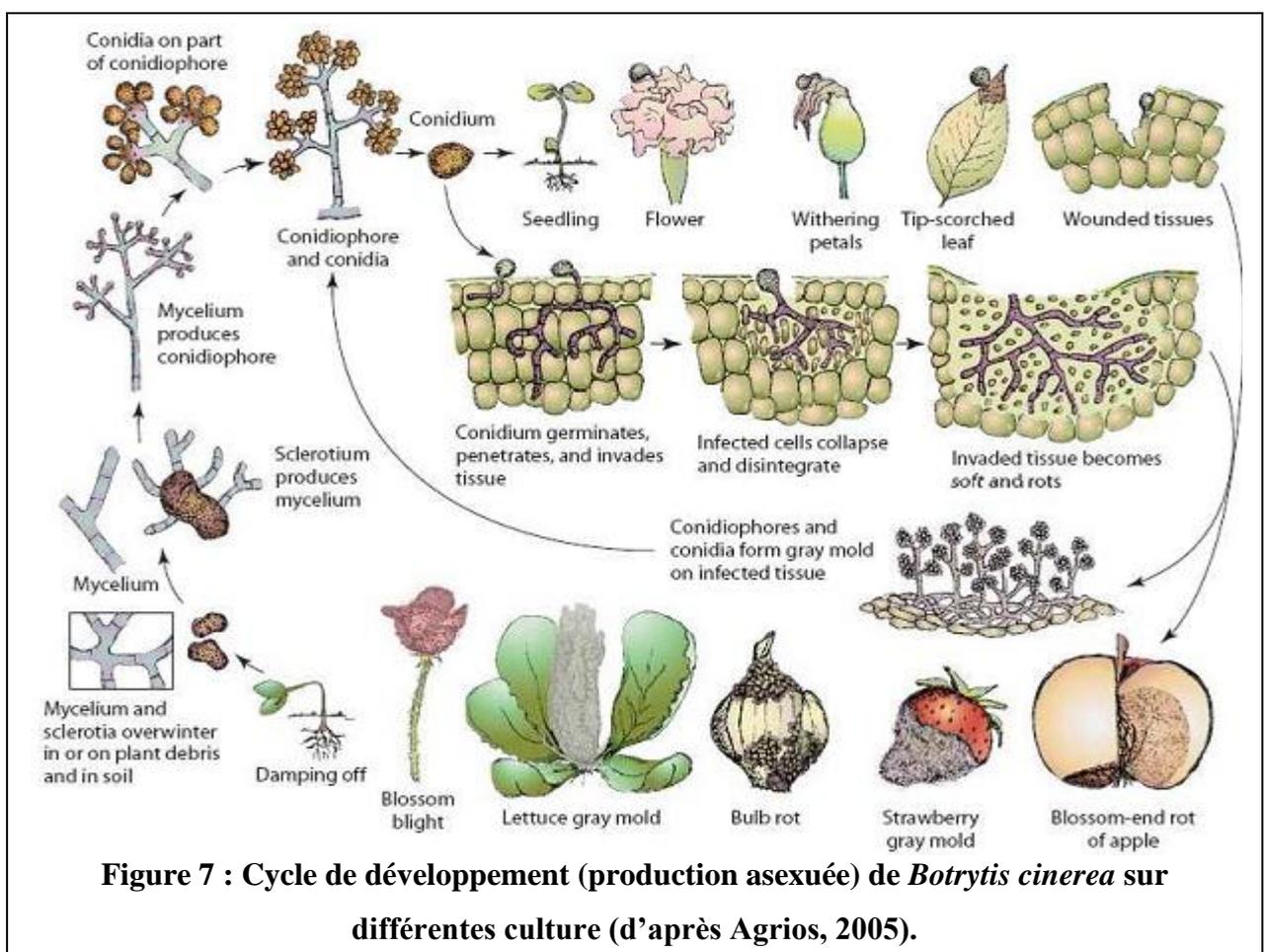


Figure 7 : Cycle de développement (production asexuée) de *Botrytis cinerea* sur différentes culture (d'après Agrios, 2005).

5. Symptômes de *Botrytis cinerea*

B. cinerea est l'agent responsable de la pourriture grise. Le pathogène provoque des pertes très importantes sur un grand nombre d'espèces (légumes et plantes ornementales). Cet agent pathogène peut entraîner la destruction partielle ou totale de la plante hôte, et dans certains cas de la récolte. *B. cinerea* s'attaque à tous les organes verts de la plante (feuilles, pédoncules, sépales, fleurs, fruits et tige.). Le premier signe visible sera un changement de couleur et de texture sur la plante. Des pourritures marron et humides souvent liées à des blessures occasionnées lors du repiquage se forment au collet. Des taches en anneaux concentriques plus foncés apparaissent sur la face supérieure des folioles. Sur tiges, des chancres beiges ou marron foncé apparaissent à l'endroit de blessures faites lors de l'effeuillage ou du palissage.

Sur fruits de la tomate, les symptômes typiques de la pourriture grise sont des lésions de forme généralement circulaire avec un contour net et de couleur jaune clair. (Figure8).



Figure 8 : Dégâts causés par *B. cinerea* dans une serre de tomate et chancre développé sur tige de tomate suite à un effeuillage. (Sakhr Ajouz.,2009).

6. Facteurs de développement de *B. cinerea*

6.1.-Température/humidité

L'humidité relative et la température jouent un rôle clef pour l'infection de la plante par *B. cinerea* et le développement de la maladie. La température optimale pour le développement de l'infection tant sur les fleurs que sur les fruits est d'environ 20°C et le taux d'humidité relative de 93% ou plus. L'infection était grandement réduite lorsque les températures étaient inférieures à 15°C ou supérieures à 25°C.

La température optimale pour la germination des conidies était comprise entre 20 et 30°C. À des températures inférieures à 5°C et supérieures à 35°C (Shiraishi et al., 1970a). A 10°C la germination est très retardée avec seulement 60% de conidies germées 48 heures après l'inoculation (Shiraishi et al., 1970a).

Jarvis (1977), estime que 80% des conidies de *B. cinerea* germent à 15°C et 5°C à 95% d'humidité relative, en revanche 100% des spores germent à 20°C. À 90% d'humidité relative, 85% des conidies germent à 20°C, et la germination s'arrête quand les conditions d'humidité relative et de température sont plus faibles (Jarvis, 1977).

Le mycélium aérien et la sporulation se développent d'une manière plus rapide à 21°C, 94% d'humidité relative et en présence d'un vent limité (Thomas and Marois, 1986).

La sporulation est limitée à 10°C et stoppée à une température inférieure à 5°C ou supérieure à 30°C (Davidson and Krysinska-Kaczmarek, 2007). D'après O'Neill et al., (1997), la phase de sporulation est favorisée par une forte humidité relative et l'interruption de ces conditions entraîne un retard de sporulation.

6.2.-La lumière

La germination des conidies de *B. cinerea* se produit aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité, pourvu qu'il y ait de l'eau et des nutriments en quantité suffisante (Blakeman, 1980). La sporulation de *B. cinerea* est par contre dépendante de la qualité de la lumière reçue et surtout des UV (Elad, 1997; Nicot et al., 1996; West et al., 2000).

La survie des conidies dans l'air est également influencée par la qualité de la lumière. D'après Rotem et Aust (1991), les rayons UV influencent fortement la mortalité des conidies; la longévité sous UV a été réduite à 3 minutes (Rotem and Aust, 1991) contre 14 mois pour les conidies sèches incubées à température ambiante (Salinas et al., 1989).

6.3.-Exigences nutritives

Les spores de *B. cinerea* ont des besoins nutritifs Afin de pouvoir germer. De nombreuses expériences ont montré que la germination de *B. cinerea* dans l'eau était significativement plus faible que dans une solution nutritive (Kosuge and Hewitt, 1964). La germination des spores de *B. cinerea* dans l'eau (absence de nutriments) a cependant été observée pour certaines souches (Doehlemann et al., 2006).

La présence de nutriments tels que le glucose et le fructose favorise la germination et l'élongation du filament germinatif (Clark and Lorbeer, 1977; Kosuge and Hewitt, 1964) et permettent à des conidies âgées de retrouver leur pouvoir germinatif (Shiraishi et al., 1970b).

7 .Moyens de lutte

7.1 Lutte chimique

Le contrôle de *Botrytis cinerea* est rendu difficile par le fait qu'il peut contaminer un grand nombre d'hôtes et d'organes végétaux et qu'il se développe très rapidement après sa période de latence.

La lutte chimique se définit par l'utilisation de fongicides pour détruire, affaiblir ou réprimer le champignon. A partir des années 1950, il y a eu une expansion rapide de l'emploi de produits phytopharmaceutiques, liée à l'essor de la chimie de synthèse. Les fongicides anti-Botrytis utilisés en végétation ont largement évolué depuis le début des années 1970, où les premières matières actives apparues sur le marché français pour lutter contre la pourriture grise furent le folpel, le captafol, l'euparène (dichlofluanide) et le thirame. Des progrès ont été réalisés dans les années 1970 avec la commercialisation des benzimidazoles, des thiophanates, et des dicarboximides à partir de 1976 (Leroux et al., 1999). La plupart des fongicides affectent directement des fonctions essentielles, comme par exemple la respiration, la biosynthèse des stérols ou la division cellulaire (Leroux, 2004). Plusieurs familles de fongicides de synthèse sont disponibles pour lutter contre *B. cinerea*. Elles sont classées en 5 catégories, selon leurs modes d'action biochimique sur le pathogène : les fongicides affectant la respiration, le fonctionnement des microtubules, l'osmorégulation, la biosynthèse de méthionine ou des stérols.

7.2 Lutte génétique

La transformation génétique offre une alternative intéressante puisqu'elle permet l'introduction d'un ou plusieurs gènes dans le génome de la plante tout en maintenant son patrimoine génétique, ses caractères agronomiques et la qualité de ses produits (Yamamoto et al.

2000 ; Vidal et al., 2003 ; Bornhoff et al., 2005 ; Franks et al., 2006). Dans la lutte contre *B. cinerea*, les stratégies visent à surexprimer des gènes codant des molécules à fonction antimicrobienne. Ainsi, l'intégration d'un gène codant une stilbène synthase a permis une production plus importante de resvératrol dans les plantes transgéniques (Fan et al., 2008) et une meilleure tolérance in vitro vis-à-vis de *B. cinerea* (Coutos-Thévenot et al., 2001).

7.3 Lutte biologique

La lutte biologique a pour principe d'utiliser des micro-organismes antagonistes afin de réduire la densité de l'inoculum de l'agent pathogène ou d'altérer son activité pathogène. La protection conférée par un agent biologique peut être basée sur un ou plusieurs mécanismes d'action : la compétition pour les éléments nutritifs ou l'espace, le parasitisme, la production de substances toxiques pour le pathogène (antibiose) et/ou la stimulation des défenses de la plante (Thomashow & Weller, 1996 ; Yedida et al., 1999 ; Haas et al., 2000).

Le champignon le plus largement étudié est le *Trichoderma spp.* Les travaux sur le biocontrôle de *B. cinerea* à l'aide de ce champignon ont débuté il y a 30 ans (Dubos et al. 1978, 1982). Des produits à base de *Trichoderma harzianum* et *T. viride* ont été formulés afin d'être commercialisés en tant qu'anti-Botrytis. De plus, des rhizobactéries appelées PGPR pour « plant growth-promoting rhizobacteria » ont montré une efficacité dans la lutte contre *B. cinerea*.

Chapitre III : l'agent antagonisme : *Trichoderma harzianum*.

1. Introduction

Les maladies sont largement contrôlées par l'application des fongicides synthétiques. Cependant, la progression des pertes d'efficacité de ces fongicides à cause de l'apparition des souches de pathogènes résistantes (Spotts et Cervantes, 1986 ; Stehmann et Ward, 1996 ; Errampalli et *al.*, 2005), la détection de résidus sur les denrées alimentaires et le retrait de l'agrément de certains fongicides efficaces destinés à cet usage (Lennox et Spotts, 2003) ont motivé la recherche d'autres méthodes alternatives et intégratives.

La lutte biologique grâce à l'utilisation d'organismes vivants ou de produits issus de ces organismes apparaît comme une alternative ou un complément prometteur à l'utilisation des fongicides synthétiques, de part l'ubiquité de ces microorganismes, leur grande diversité et leur dissémination dans les sols rhizosphériques (Chen et *al.*, 1995 ; Benhamou et *al.*, 1996 b ; Berg et *al.*, 2005).

Le terme "lutte biologique" recouvre différents concepts selon les disciplines impliquées dans la protection des cultures (Nordlund, 1996). La définition officielle par l'OILB (Organisation Internationale de la Lutte Biologique) stipule que la protection biologique est « l'utilisation d'organismes vivants pour prévenir ou réduire les dégâts causés par des ravageurs ». Le principe de la lutte biologique est basée sur l'exploitation par l'homme et à son profit d'une relation naturelle entre deux êtres vivants : la **cible** et l'**agent de protection**.

Les biopesticides ou agents de lutte biologique, peuvent être définis comme des produits phytosanitaires dont le principe actif est un organisme vivant ou l'un de ses dérivés. Ils peuvent donc être constitués d'organismes (plantes, insectes, nématodes) ou de micro-organismes (bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les plantes vis-à-vis d'agents phytopathogènes, mais aussi de substances d'origine naturelle telles que des extraits végétaux, phéromones, etc.... (Thakore 2006).

La littérature a présenté plusieurs exemples de microorganismes antagonistes (champignons, bactéries et levures) qui se sont révélés actifs vis-à-vis des maladies.

2. Les modes d'action des agents antagonistes

L'activité antagoniste peut s'exprimer à travers un ou plusieurs mécanismes d'action. Les plus couramment cités sont la compétition pour l'espace et pour les éléments nutritifs, le

mycoparasitisme (avec entre autre la production d'enzymes lytiques), l'antibiose et l'induction de résistance chez la plante hôte.

2.1. Antibiose

De nombreux microorganismes produisent des métabolites et agissent en provoquant une altération de la germination, de la croissance et/ou de la sporulation du pathogène, une distorsion des hyphes du pathogène. Une étude récente a montré que le filtrat de culture de l'antagoniste *T. harzianum* peut complètement inhiber la germination et causer des gonflements au niveau des conidies des pathogènes responsables de la pourriture du collet du bananier par le mécanisme d'antibiose.

Plusieurs auteurs ont mis en évidence la production *in vitro* d'antibiotique par les agents de lutte biologique. Cependant, cela ne signifie pas toujours une production au niveau du site d'action *in situ* ni que l'antibiotique intervienne en totalité ou en partie dans l'antagonisme (Droby et Chalutz, 1994).

2.2. Mycoparasitisme

Le mycoparasitisme est une relation trophique qu'établit un microorganisme au détriment d'un champignon. La chitine et le β -1,3-glucan (laminarine) sont les principaux constituants de la paroi de la plupart des champignons (Bartnicki-Garcia, 1968). Ainsi les agents antagonistes produisant les enzymes lytiques comme la glucanase et la chitinase, qui dégradent les parois du pathogène, ont comme mécanisme d'action le parasitisme. Parmi ces antagonistes, les *Trichoderma spp.* sont les plus étudiés (Tronsmo & Raa, 1977 ; Bélanger et *al.*, 1995 ; Carsolio et *al.*, 1999 ; Chet et *al.*, 1998 ; Lorito, & Woo, 1998). Cependant, d'autres études ont montré que c'est la production des enzymes lytiques par les cellules des antagonistes en présence du pathogène qui améliore la capacité de celles-ci à s'attacher aux hyphes du pathogène (Wisniewski et *al.*, 1991 ; Chan et Tian, 2005).

2.3. Compétition

La compétition pour les éléments nutritifs (sucre, éléments minéraux...) est un mécanisme fortement impliqué dans la suppression de nombreux pathogènes. La compétition pour le fer par certaines souches de *P. fluorescens* est la plus documentée. Elle implique la production de différents sidérophores, molécules chélatrices du fer et servant de transporteur de l'ion ferrique à l'intérieur de la cellule bactérienne (Neilands, 1981 ; Duijff et *al.*, 1993 ; Buysens et *al.*, 1996 ; Whipps, 2001) (Figure 6). La compétition pour le fer est démontrée par délétion de gènes spécifiques : l'activité protectrice contre *B. cinerea* d'une souche mutante de *P. putida*

(WCS358), incapable de produire des sidérophores, est fortement diminuée chez la tomate (Meziane et al., 2005).

3. Le marché des biopesticides

Le marché des pesticides synthétiques avait diminué au cours des 5 dernières années grâce au développement des biopesticides, ces biopesticides représentent 2.5% des ventes de produits phytosanitaires (Figure .9), alors qu'il était seulement de 0.2% en 2000. Le marché se développe donc et on prédit qu'il atteindra plus d'un milliard de dollars en 2010 (Thakore 2006). Actuellement, l'Amérique du nord et l'Europe consomment environ 40% et 20% respectivement de la production mondiale de biopesticides. On s'attend à ce que le marché des biopesticides aux USA monte de 205 millions à 300 millions US\$, et le marché européen d'environ 135 millions jusqu'à 270 millions \$ vers la fin de la décennie. Parmi les biopesticides microbiens, les produits à base de bactéries représentent 74% du marché mondial.

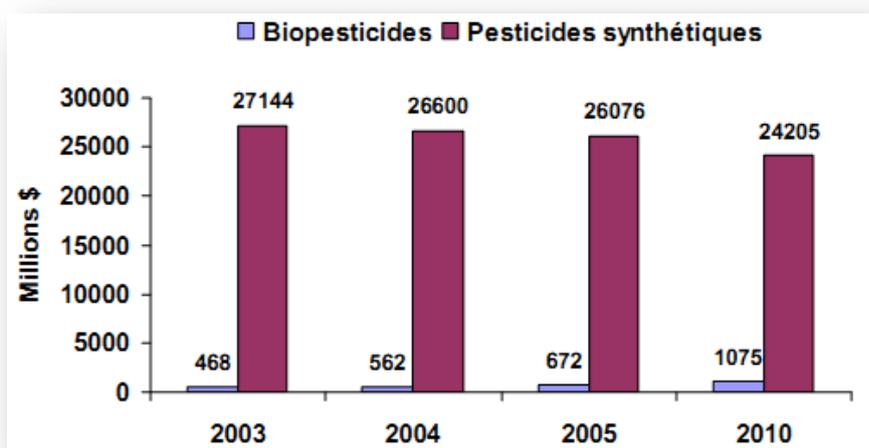


Figure .9. Le marché mondial des biopesticides et des pesticides synthétiques, 2003-2010 (Thakore 2006)

Tableau.3. Les micro-organismes inscrits en tant que biopesticides à l'agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (EPA) (Fravel 2005).

Agent de biocontrôle	Organisme ou maladie ciblée	Culture concernées
<i>Agrobacterium</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Plante ornementales, fruit, noix.
<i>Basillus subtilis GB03</i>	<i>Rhizocotonia fusarium</i> <i>Aspergillus</i> et d'autres	Coton, arachides, soja, blé, orge, pois et haricots.
<i>Strain QST 713</i>	Rouilles foliaires	Légumes foliaires, poivres, pommes de terre, tomates et noix.
<i>Pseudomonas fluorescens A506</i>	Frost damage, fire blight, brunch rot	Fruits amande, pomme de terre et tomate
<i>Trichoderma harzianum stain T-22</i>	Pathogène du sol	Le sol des serres, pépinières, gazon jardins d'amateur.
<i>Trichoderma harzianum stain T-39</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	La plupart des récoltes alimentaires

3.1. Avantage des biopesticides

D'un point de vue écologique, les biopesticides microbiens sont beaucoup plus compatibles que les produits chimiques et ont une spécificité accrue vis-à-vis des pathogènes. Ils sont par conséquent moins dommageables pour les organismes non ciblés de la microflore endogène qui exerce une action bénéfique sur les plantes.

Les biopesticides sont souvent efficaces en faibles quantités et leurs activités protectrices peuvent relever de mécanismes multiples et déclenchent donc rarement des phénomènes de résistance chez le pathogène à cause d'une faible pression de sélection. En plus, ils peuvent compléter les pesticides conventionnels une fois utilisés dans les programmes intégrés de la gestion des parasites (Fravel 2005; Thakore 2006).

3.2. Désavantages des biopesticides

Malgré les avantages de ces agents biologiques, l'effet protecteur de la plupart des agents de lutte biologique est parfois insuffisant par rapport aux produits chimiques (Shishkoff et

McGrath 2002) ou n'est parfois pas constant, dépendant notamment des conditions du milieu (la température, sol, humidité, la plante hôte, pH, etc...) (Larkin et Fravel 2002; Mendoza Garcia et al. 2003). En plus, le coût de la production est élevé pour la plupart des agents de biocontrôle (Fravel et al. 1999). Ainsi, le conditionnement et la formulation sont très difficiles pour des espèces non sporulantes et même parfois pour les espèces sporulantes (Hjeljord et al. 2000; Collins et Jacobsen 2003). D'autre part, les pesticides chimiques ont une activité plus efficace, tandis que les biopesticides peuvent avoir besoin de temps après leur application pour commencer à agir.

4. Cas de *Trichoderma harzianum*

Dans la nature, les agents pathogènes responsables de diverses maladies provoquent d'importantes pertes de récoltes : dont : pourritures des semences, fontes des semis, pourritures racinaires et flétrissements des plantes (Agrios, 1988; Anonyme, 1992), chancres de tiges, taches foliaires, flétrissement des plantes et pourritures sur les fruits, etc... (Agrios, 1988).

Par contre, Plusieurs micro-organismes peuvent, avoir un effet bénéfique dans le contrôle des champignons pathogènes et ainsi minimiser l'effet délétère des pesticides (Adams, 1990).

Dans une perspective de lutte biologique, il est important de sélectionner des champignons antagoniste, et l'étude les modes d'action renseigne sur leurs potentiel à l'égard du pathogène.

Trichoderma est le champignons imparfaits saprophytes qui est naturellement abondant dans le sol et, la matière organique telle le bois mort ou en décomposition, les débris végétaux et la paille (Papavizas, 1985, Sippell et al., 1985, Widden et Scattolin, 1988). Les espèces de ce genre possèdent également des aptitudes à dégrader de nombreux substrats organiques du sol pour se nourrir et se développer ce qui suggère qu'elles peuvent survivre dans plusieurs niches écologiques (Papavizas, 1985).

Au cours des dernières années, le potentiel antagoniste de *T. harzianum* a également été démontré contre les agents pathogènes des substrats dans les cultures serricoles (productions légumières et plantes ornementales) (Caron et al., 2002). En production commerciale, *Trichoderma* a permis d'accroître les rendements de 7% par rapport aux parcelles traitées chimiquement (Caron et al., 1994b).

Le champignon *Trichoderma harzianum* est reconnu comme antagoniste des agents pathogènes du sol (Arla, 2002).

Il prévient l'attaque du système racinaire des plantes par les champignons du sol de plusieurs manières. Tout d'abord, le mycélium de *Trichoderma* colonise le sol et les racines avant les agents pathogènes. De plus, il protège les racines en formation en créant un manchon autour de celles-ci que ce soit à l'enracinement ou sur un plant adulte. Cette habileté à coloniser la rhizosphère et à compétitionner pour l'espace lui permet d'agir à titre préventif sur une période de 10 à 12 semaines (Lambert et al., 2002; Sivan et Harman, 1991).

Le mode d'action de *Trichoderma harzianum* se veut complexe. Il comprend la chimiotaxie, l'antibiose, la production d'enzymes dégradant la paroi cellulaire, le parasitisme, la compétition ou une combinaison de ces divers modes d'action (Howell, 2002; Wells, 1988). L'activité de cet agent de lutte biologique commence par le repérage de l'agent pathogène. L'orientation du *Trichoderma* est rendue possible grâce aux lectines sécrétées dans le milieu par l'agent pathogène. Ces substances se lient aux résidus de galactose sur les parois cellulaires de *T. harzianum* (ARLA, 2002; Harman, 2000). C'est ce qui permet la croissance chimiotactique de *Trichoderma*.

4.1. Classification taxonomique

La taxonomie moderne des champignons a aboli l'embranchement des Deuteromycotina, auquel appartenait le genre *Trichoderma*. La position taxonomique actuelle des *Trichoderma sp* se présente comme suit (selon Bissett, 1991) :

Embranchement	Amastigomycota et/ou Eumycètes
Sous embranchement	Ascomycotina
Classe	Sordariomycètes
Ordre	Hypocréales
Famille	Hypocraceae
Genre	Hypocrea mitosporique (<i>Trichoderma</i>).

4.2. Aspect morphologie

Au microscope on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisse. Les conidiophores (fig10) sont fortement ramifiés selon une structure pyramidale,

se terminant par une ou plusieurs phialides. A leur tour, les phialides portent les spores (phialospores ou bien conidies) (cournut, 1984; landreau, 2001; kubicek et *al.*,2011). Les phialides peuvent être cylindriques ou subglobuleuses, regroupées en masse ou en solitaire. Les conidies sont hyalines, ellipsoïdes et lisses chez la plupart des espèces ; les conidies globuleuses sont rares. certaines espèces peuvent produire des chlamydospores globuleuses, qui sont intercalaires ou terminales (soylu et *al.*, 2002).

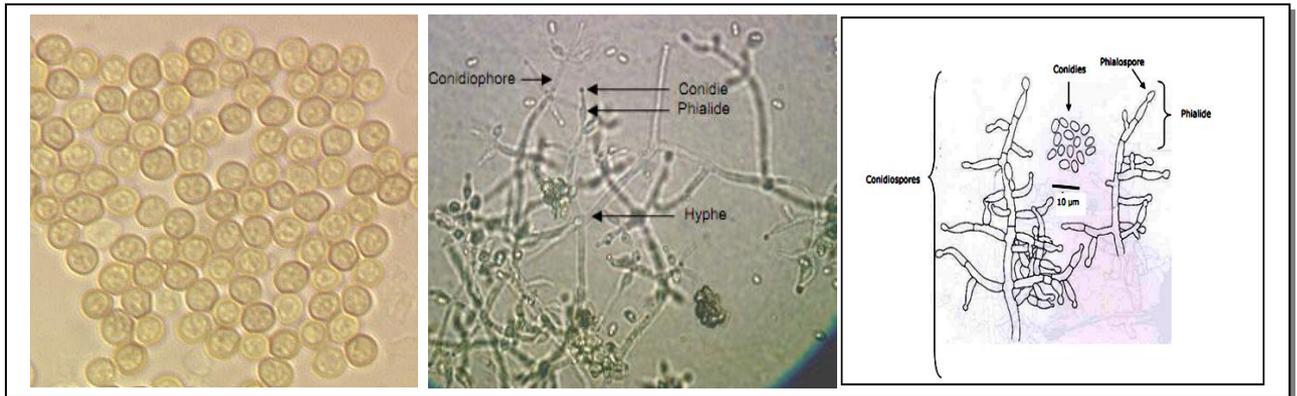


Fig.10. : Aspect morphologique d'un conidiophore de *Trichoderma* (Samuels et *al.*, 1994).

4.3. Ecologie

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin (Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998).

En effet, les *Trichoderma sp.* sont remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats et sont, par conséquent, l'élément majeur dans la mycoflore terrestre et marine (Widden et Abitrol, 1980 ; Kubicek et *al.*, 2003). Les *Trichoderma sp.* Terrestres se développent quasiment dans tous les sols (forestiers ou cultivés) et sur les végétaux en décomposition. Ils contaminent fréquemment le compost de la culture industrielle des champignons comestibles, mais sont rarement parasites de plantes vivantes (Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998).

L'abondance des *Trichoderma sp.* Dans les écosystèmes est due à leur capacité à produire diverses substances bioactives et des enzymes. Ils sont de ce fait un maillon important dans les chaînes biologiques (Widden et Abitrol, 1980 ; Vining, 1990 ; Kubicek et *al.*, 2003).

4.4. Habitats

Trichoderma est un champignon filamenteux cosmopolite très abondant dans les sols, les humus et sur les débris végétaux en décomposition. Bien qu'il soit considéré comme un contaminant universel, *Trichoderma* peut être utilisé en lutte biologique contre des champignons phytopathogènes tels que *Botrytis cinerea* ou *Sclerotinia sclerotiorum*. *Hypocrea spp.* Sont les formes téléomorphes de certaines espèces de *Trichoderma*. (Anonyme. 2014)

4.5. Interaction *Trichoderma*-Pathogènes

Le genre *Trichoderma* possède une batterie de mécanismes d'attaque potentiellement utilisables mais qui demeurent toutefois complexes. Il peut employer un ou plusieurs modes d'action en même temps pour maîtriser un agent pathogène. Le déploiement des modes d'action varie également selon les partenaires en présence et les conditions physico-chimiques du milieu (températures, humidité, etc...). *Trichoderma* est efficace lorsqu'on lui permet de s'installer avant l'arrivée des champignons pathogènes. Son action est donc préventive. Il permet, au niveau des racines, de créer un manchon protecteur autour de celles-ci et ainsi contrer l'entrée des agents pathogènes à l'intérieur des racines. Le même effet est observé lorsqu'il est utilisé en pulvérisation aérienne. Une fois installée, *Trichoderma* peut avoir un effet stimulant pour la plante en absence de champignons pathogènes. (Caron., 2002).

Chapitre I : Matériels et méthodes

Le but de cette étude est l'évaluation « in vitro » du pouvoir antagoniste de *Trichoderma harzianum* à l'encontre de *Botrytis cinerea*.

1. Matériel

1.1. Matériel fongique

1.1.1. Les isolats de *Botrytis cinerea*

Les trois isolats de l'agent pathogène *B. cinerea* utilisés dans cette étude ont été obtenus à partir de feuilles et tiges de pieds de tomate présentant des symptômes de pourriture grise. Les échantillons provenant de serres localisées dans la plaine du Nord-Ouest algérien. Les fragments de feuille ont été placés sur du papier filtre imbibé d'eau stérile dans une boîte de Pétri. *B. cinerea* a été cultivé sur des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA et incubées à 25°C. Les conidies ont été récoltées à partir de 14 jours d'âge cultures en agitant de petits morceaux de gélose, portant mycélium et des conidies, dans un tube de verre.

Tableau 4 : Isolats de *B.cinerea* avec leurs désignations et origine.

Isolats	désignations	Régions
01	Tr46	Ain T'émouchent
02	F27	Mostaganem
03	B27	Mostaganem

1.1.2. Le champignon antagoniste

La souche de *Trichoderma harzianum* est fournis par le laboratoire de protection des végétaux de l'Université de Mostaganem et conservée au laboratoire 04 de microbiologie de l'université de Guelma. Cette souche donne sur milieu PDA une colonie circulaire cotonneuse d'abord blanchâtre puis verdâtre avec l'âge.

2. Méthodes :

2.1. Etude morphologique des isolats du champignon pathogène

2.1.1. Impact de la salinité du milieu sur les mécanismes d'action de *B. cinerea*

2.1.1.1. Effet sur la croissance mycélienne

Des rondelles de 4 mm de diamètre préalablement découpées à l'emporte pièce dans la zone de croissance active d'une culture d'une semaine. Les boutures sont déposés au centre de boîtes de Pétri avec milieu PDA + les deux sels (chlorure de calcium et de sodium) en plusieurs concentration 50, 100,150 et 300 ppm, incuber à l'obscurité et à 25 ± 1°C. Les mesures des moyennes de deux diamètres perpendiculaires de chaque colonie sont faites tous les jours, selon la formule:

$$L = \frac{D - d}{2}$$

Rapilly (1968)

L : croissance mycélienne en mm

D : diamètre de la colonie en mm

d : diamètre de l'explant initial en mm

2.1.1.2. Mesure de la vitesse de la croissance mycélienne

La vitesse de la croissance (mm/j) est calculée en appliquant la formule suivante

$$V = \frac{(L2-L1) + (L3-L2) + (L4-L3) + \dots + (Ln-1-Ln)}{n-1}$$

V : vitesse de croissance (mm/j).

L : croissance mycélienne (mm).

L1 : croissance mycélienne au 1^{er} jour.

Ln : croissance mycélienne du dernier jour.

n : nombre de jours durant le test.

2.1.1.3. Evaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène

Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène est calculé selon la formule suivante :

$$L- I$$

$$T = \frac{L - I}{L} \times 100$$

T : taux d'inhibition en %

L : croissance mycélienne de témoin

I: croissance mycélienne de pathogène en présence de l'antagoniste.

2.1.1.4. Effet sur la sporulation

Les spores ont été récoltées à partir d'une culture de *B. cinerea* âgée d'environ 2 semaines dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre et incubées à 22 °C en 12 h de lumière et 12 heures d'obscurité. Des plaques de culture de 2 semaines ont été agitées au vortex dans un tube contenant 10 ml d'eau distillée stérile et 0,05 ml de Tween 80 pendant 5 minutes afin de détacher les spores. Puis la suspension enrichie en spores est filtrée à travers d'un filtre de verre pour éliminer les débris de mycélium.

2.1.1 .5. Effet sur la germination des conidies

Une goutte contenant 100 conidies est étalée sur la surface d'une couche mince de milieu gélosé + les deux sels. Les étalements, incubés à l'obscurité et à 25 ± 1°C, sont observés 24 heures après ensemencement. Les pourcentages de germination des conidies sont alors déterminés. Le pourcentage de germination est estimé sur 100 spores sous un microscope (x100). On considère la germination comme effective si la longueur du tube germinatif est supérieure au plus petit diamètre de la conidie.

Le pourcentage d'inhibition de la germination *IG* des conidies du pathogène est déterminé en utilisant la formule suivante :

$$IG (\%) = \frac{NT - NPA}{NPA} \times 100$$

NT : nombre de conidies germées chez le témoin ; les conidies renferment une spore et la germination est observée au microscope.

NPA : nombre de conidies germées en présence de l'antagoniste.

2.2. Activité antagoniste du *Trichoderma* vis-à-vis de *B. cinerea*

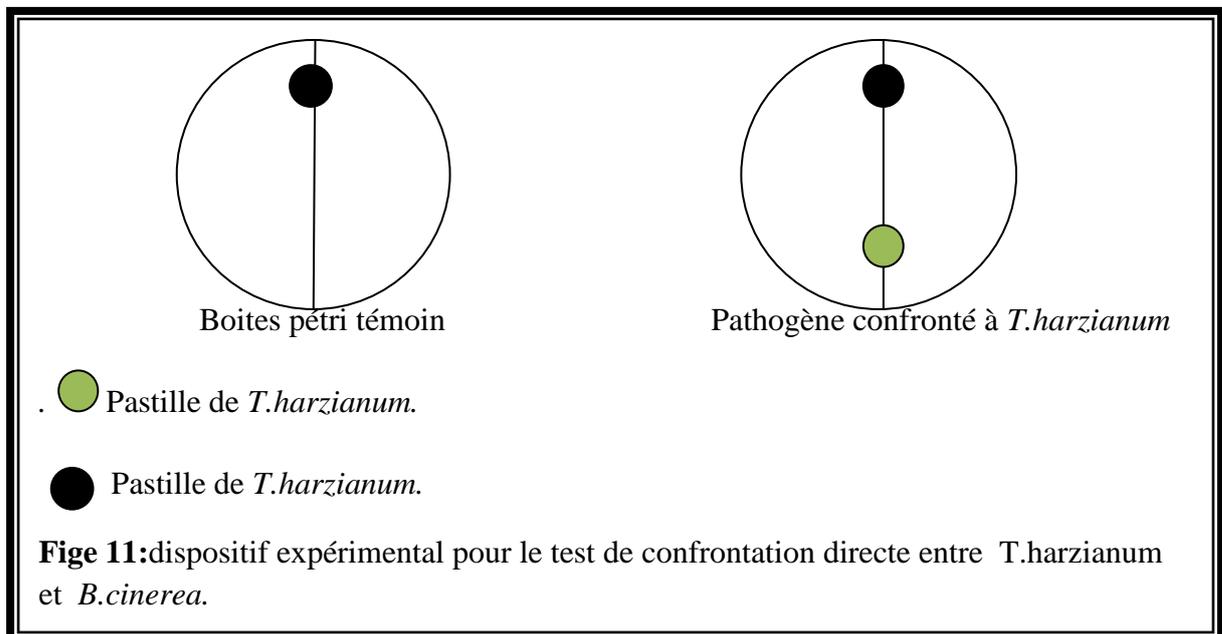
2.2.1. Technique de confrontation directe

La technique est inspirée de celle de Patel et Brown (1969) ; dans une boîte pétri contenant 15 ml de milieu PDA, deux explants mycéliens de 2 mm, l'un provenant d'une colonie jeune de *Trichoderma harzianum*, l'autre provenant d'une colonie jeune du pathogène sont placés à 5 cm l'un de l'autre suivant un axe diamétral (fig11). ce test est réalisé sur 3 isolats de *B.cinerea*. Pour chaque isolat, 3 répétitions sont effectuées. Le témoin est réalisé dans les mêmes conditions sans l'antagoniste (fig11).

Les boîtes contenant les cultures sont mises à incuber à température de 25 °C.

La croissance mycélienne de *B.cinerea* et de *T.harzianum* est évaluée en mesurant, chaque jour, le rayon de chaque colonie. La vitesse de croissance est calculée en mm/j et est comparée par rapport à celle du témoin.

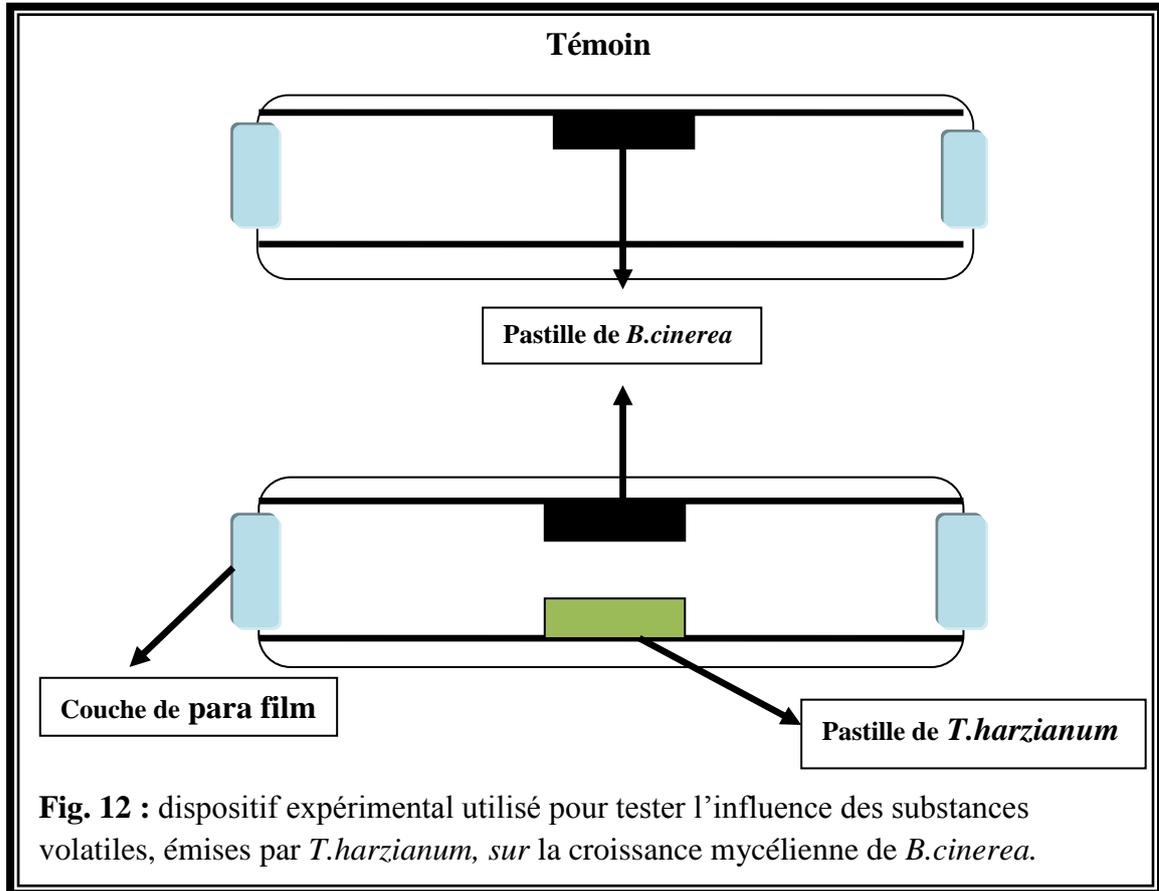
Pour chaque isolat, nous avons calculé le taux d'inhibition sa croissance mycélienne selon la formule donnée le paragraphe (2.1.1).



2.2.2. Technique de confrontation indirecte

Le principe de cette méthode repose sur la technique utilisée par Campora (1985). L'antagoniste (*Trichoderma*) et le pathogène sont repiqués chacun dans une boîte pétri contenant le milieu PDA, les fonds des boîtes sont superposées de façon à avoir *Trichoderma harzianum* en bas et le pathogène en vis-à-vis, en haut. (Fig12).

Les deux boîtes sont assurées par des couches de parafilm. le test est réalisé avec 3 répétitions. Les témoins contiennent uniquement l'isolat *B.cinerea* et réalisée aussi avec 3 répétition.



2.3. Influence de la salinité du milieu sur l'antagonisme vis-à-vis de *B.cinerea*

L'influence de salinité sur la croissance en diamètre a été déterminée par la croissance des isolats dans un milieu PDA à neuf niveaux de concentrations 50, 100, 150, 300 meq en NaCl, et CaCl₂. Trois répétitions sont prévues pour chaque traitement salin.

Afin de déterminer l'influence de solutions de NaCl et CaCl₂ sur la germination des spores de *Botrytis cinerea*, Une goutte contenant 100 conidies est étalée sur la surface d'une couche mince de milieu gélosé enrichi en NaCl et CaCl₂ : 0 ; 50 ; 100 ; 150 et 300 meq. Trois répétitions sont prévues pour chaque concentration saline. Les étalements, incubés à l'obscurité et à 24°C, sont observés 24 heures après ensemencement. Les pourcentages de germination des conidies sont alors déterminés.

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Résultats

1. Etude morphologique des isolats du champignon pathogène

1-1-Impact de la salinité du milieu sur les mécanismes d'action de *B. cinerea*

1-1-1-Effet sur la croissance mycélienne et mesure de la vitesse de la croissance mycélienne

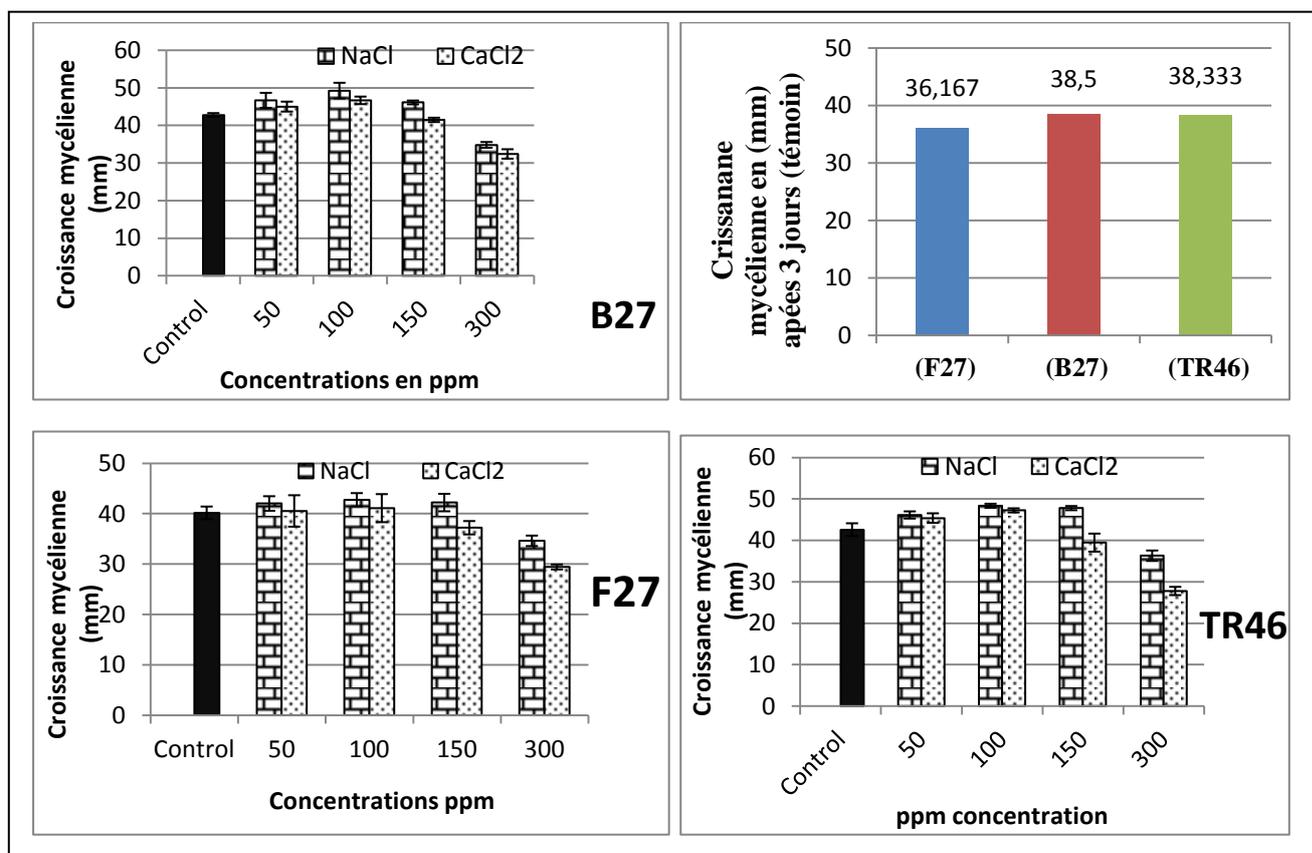


Fig. 13 :L'effet de salinité de milieu sur la croissance mycélienne de champignon pathogène *Botrytis cinerea*.

La croissance mycélienne des colonies de *B. Cinerea* soumis à différentes concentrations de sel a été notée après 3 jours. Les résultats sont reportés sur la figure (13).

Le NaCl comme le CaCl₂ présente une action sur la croissance mycélienne (fig. 13). Entre 50 et 150 ppm, la croissance des trois isolats s'est manifestée par une stimulation de la

croissance mycélienne. Au delà de cet intervalle, la croissance diminue en corrélation avec l'augmentation de la salinité du milieu.

Les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne les plus importants sont obtenus avec le CaCl₂ à 300 ppm. Ils atteignent 34.78 % pour l'isolat TR46 et 26.72 % pour l'isolat F27.

1-1-2- Effet sur la sporulation

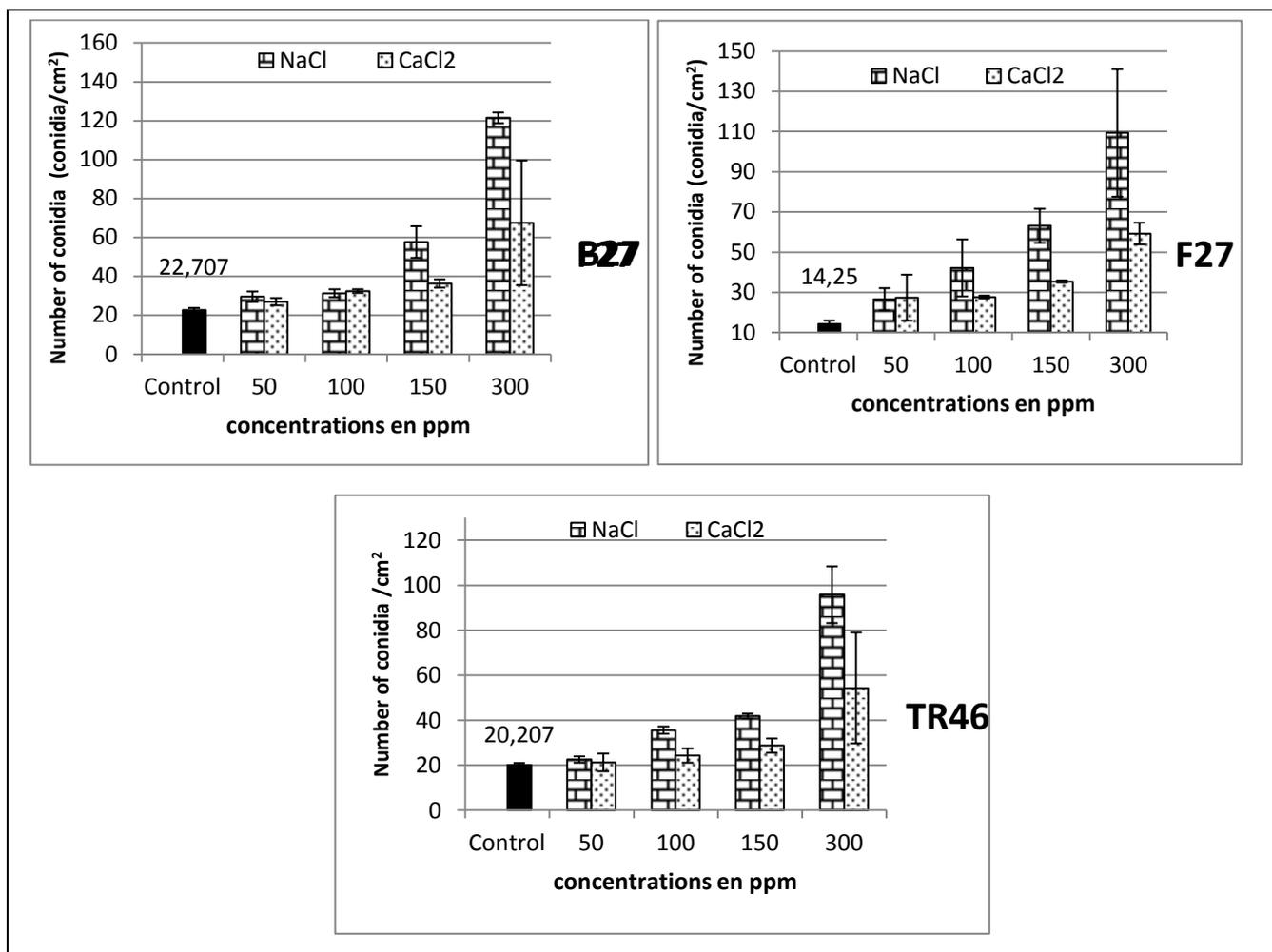


Fig. 14 : L'effet de salinité de milieu sur la sporulation de champignon pathogène.

En absence de sel (figure 14), Les isolats de *B. cinerea* ne présentent pas le même profil de production de conidies. Les isolats B27 et TR46 (de 2.27×10^7 , 2.02×10^7 spores/ml) diffèrent significativement de celle de F27 1.42×10^6 spores/ml.

Il apparaît clairement que l'effet des sels se traduit par une stimulation de la production de la conidiogénèse à différentes concentrations testés.

Pour les concentrations comprises entre 50 et 300 ppm, le chlorure de sodium montre une activité conidiogénèse nettement plus élevée que celle du chlorure de calcium. En effet, à la concentration optimale (300 ppm), on enregistre une augmentation du nombre de conidies produites dépassent de 5 à 7 fois en présence de NaCl et 2 à 4 fois pour le chlorure de calcium par rapport au témoin sans sel.

Sous ces conditions salines, Le chlorure de sodium s'avère le plus favorable à la sporulation in vitro de tous les isolats de *B. Cinerea* suivi de la concentration saline du milieu de culture où la sporulation de l'isolat B27 est maximale (2.27×10^7 spores/ml). Le chlorure de calcium stimule peu la sporulation des isolats, avec seulement 1.42×10^6 spore/ml pour l'isolat F27

1-1 3-Effet sur la germination des conidies

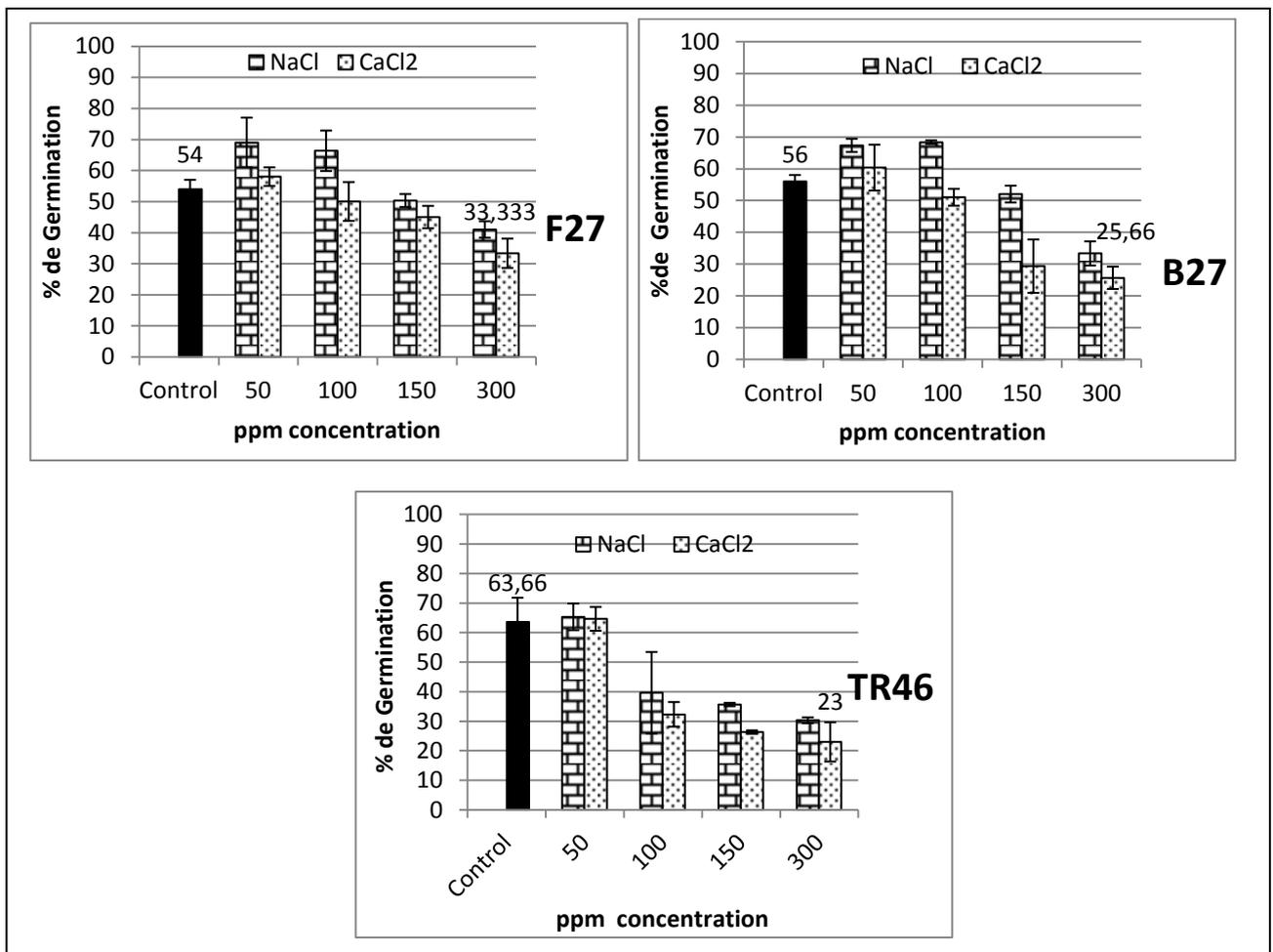


Fig. 15 : L'effet de salinité de milieu sur la germination de conidies de champignon pathogène.

Les résultats concernant le % germinatif des différents isolats étudiés en termes de capacité germinative sous l'effet des différentes concentrations salin apparaissent sur la Fig. 15.

L'analyse des résultats montre que la salinité affecte le % de germination de 3 isolats de *Botrytis cinerea* pour chacune valeurs de sel, on note des différences significatives entre les différents traitements salins.

En absence de sel (figure 15), les % de germination les plus forts sont obtenus par les deux isolats TR (63.67%) et B27 (56%).

On remarque que dans le milieu contenant 50 mmp, la capacité germinative pour la plupart des isolats est augmentée par comparaison avec le témoin, sous les deux types de sel. À 100 ppm, l'effet du NaCl s'exprime avec la même importance que pour 50 ppm. Au delà de cette concentration et jusqu'à 300pmm l'effet du CaCl₂ s'est traduit par une réduction linéaire du % germinatif.

Les pourcentages d'inhibition de la capacité germinative dues à l'exposition des cultures à 300ppm de CaCl₂ est varié de 23 à 33 % par rapport au séries témoins.

À 150 ppm en NaCl, la fréquence des spores résistantes oscille entre 23 à 25%. Par ailleurs, l'addition au milieu de culture à 300 ppm fait diminuer la capacité germinative de tous les isolats étudiés.

2. Activité antagoniste du *Trichoderma* vis-à-vis de *B. cinerea*

2-1-Technique de confrontation directe

Les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne des souches témoins est plus importante par rapport à celle obtenue avec les différentes confrontations (Pathogène – Antagoniste).

Après une semaine d'incubation, nous avons observé une action inhibitrice exercée par l'antagoniste vis à vis de la croissance mycélienne des trois isolats de *Botrytis cinerea*. Nous avons constaté l'apparition d'une zone d'inhibition suivie par un arrêt de croissance pour l'ensemble des souches du pathogène. Le calcul du taux d'inhibition confirme ces résultats.

Toutes les souches de *Botrytis cinerea* sont inhibées à plus de 60%. L'isolat B27 se montre la plus sensible avec un taux d'inhibition de 69.62%.

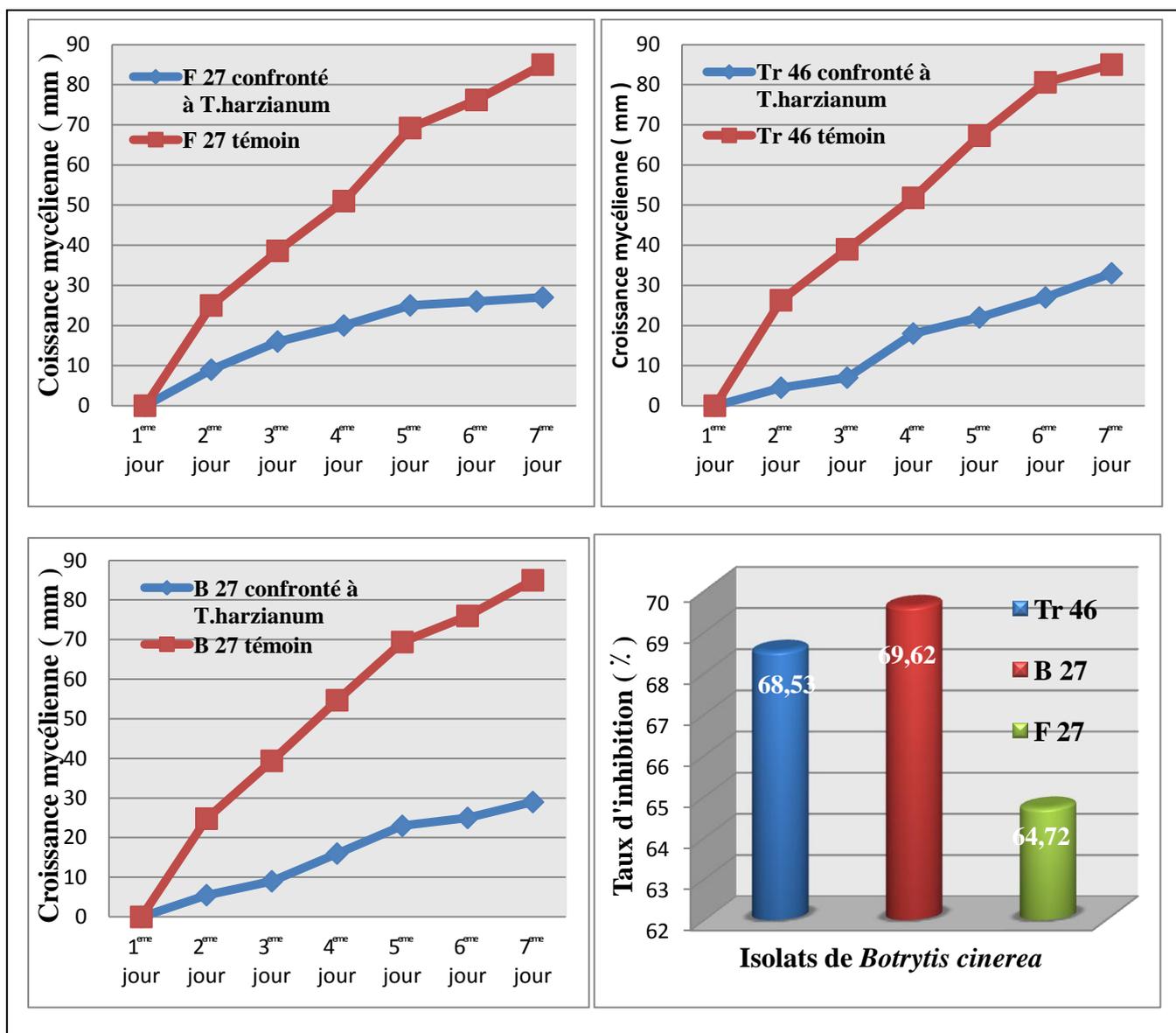


Fig.16 : Effets inhibiteurs de *Trichoderma harzianum* sur la croissance mycélienne (mm) et taux d'inhibition des isolats de *B.cinerea* (technique de confrontation directe).

Nous avons constaté dans l'étude statistique que l'analyse (Minitab par le test ANOVA) de variance montre une signification entre les isolats de *Botrytis cinerea* au test de confrontation directe (Tab.5)

Tableau 5 : Analyse de variance de test de confrontation directe.

	S.C.E	DDL	C.M	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	241,90	2	120,951		
VAR.FACTEUR 1	94,868	6	15,813	10,18	0,019*
VAR.RESIDUELLE1	336,77	8			

Il y'a une différence significative entre les isolats (tableau 6).le test nous a parmi de classer les isolats en trois groupes homogènes.

Tableau 6: les groupes homogènes de test de confrontation directe.

Isolats	Moyennes	Groupes Homogènes		
TR 46 Témoin	173	A		
TR46	54			C
B27 Témoin	172,4	A		
B27	52,4			C
F27 Témoin	171,2	A		
F27	64		B	

2-2- Technique de substances volatiles

Cette technique nous a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur même à distance de la souche de *T.harzianum* vis-à-vis des isolats de *Botrytis cinerea*.

La figure (17) montre les résultats obtenus avec la technique des substances volatiles.

Les résultats illustrés sur la figure 3 montrent que la confrontation indirect dans la même boîte de Pétri contenant du milieu PDA, a entraîné une réduction de la croissance diamétrale de trois isolats de *Botrytis cinerea*. Le pourcentage d'inhibition est de l'ordre de 52.29%, 53.64 et 80.56% respectivement chez TR46, F27 et B27 par rapport aux témoins non confrontés.

Nous avons constaté dans l'étude statiques que l'analyse de variance montre une signification entre les isolats de *Botrytis cinerea* au test de confrontation indirecte.(Tab 7)

Tableau 7 : Analyse de variance de test de confrontation indirecte.

	S.C.E	DDL	C.M	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	4379,122	2	2189,611		
VAR.FACTEUR 1	159,698	6	26,583	88,33	0***
VAR.RESIDUELLE1	4538,92	8			

Il y'a une différence significative entre les isolats (tableau.8).le test nous a parmi de classer les isolats en trois groupes homogènes.

Tableau 8 : les groupes homogènes de test de confrontation indirecte.

Isolats	Moyennes	Groupes Homogènes		
TR 46 Témoin	173	A		
TR46	83		B	
B27 Témoin	172,4	A		
B27	34			C
F27 Témoin	171,2	A		
F27	79,5		B	

Après trois jours de confrontation, l'influence de *Trichoderma* a varié selon les isolats. L'inhibition de la croissance mycélienne devient très forte avec l'isolat B27 et la croissance de ce dernier devient 5 mm par rapport à la série témoin (400mm).

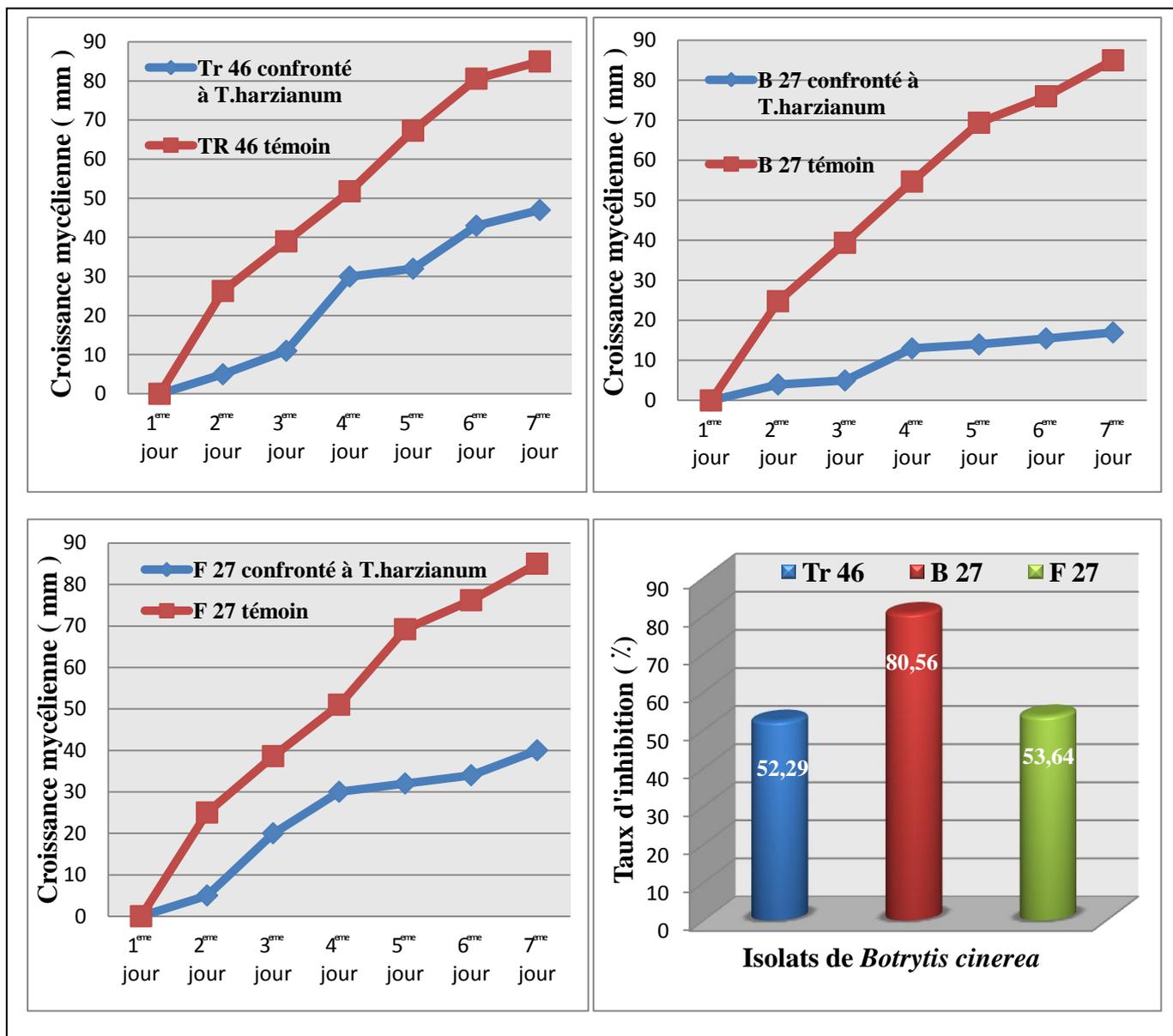


Fig. 17 : Effets inhibiteurs de *T. harzianum* sur la croissance mycélienne (mm) et taux d'inhibition des isolats de *B.cinerea* (technique de confrontation indirecte).

2-3-Comparaison entre les deux techniques de confrontations

Les résultats obtenus dans l'étude « in vitro » sont synthétisés dans le tableau N°4.

Tableau 9 : synthèse des résultats obtenus en confrontation directe et en confrontation indirecte.

Isolats	Croissance mycélienne (mm)		Taux d'inhibition (%)		Vitesse de croissance (mm/j)	
	CD	SV	CD	SV	CD	SV
Tr	54,75	83	68,53	52.29	5,5	7,83
B	52,75	33,75	69.62	80.56	4,83	2,83
F	60,5	97,5	64.72	53.64	4,5	6,66

CD : confrontation directe.

SV : substances volatiles.

2-4-Effet sur la sporulation

L'étude de la sporulation des isolats de *Botrytis cinerea* en bordure de la zone d'inhibition engendrée par *T.harzianum* a révélé une inhibition significative par rapport au témoin. Le pourcentage d'inhibition de la sporulation a varié selon les isolats.

Les résultats sont présentés dans le tableau (10) et la figure (18).

Tableau 10 : le nombre de spore des isolats de *Botrytis cinerea* par cellule.

Isolats	Tr46	B27	F27
Témoins	2.02×10^7	2.270×10^7	1.425×10^7
Confrontation directe	$10,48 \times 10^6$	$7,12 \times 10^6$	$9,32 \times 10^6$
Confrontation indirecte	$4,8 \times 10^6$	$13,48 \times 10^6$	$6,52 \times 10^6$

L'intensité de la sporulation de tous les isolats de *B. cinerea* étudiés diffère significativement vis-à-vis de *T.harzianum*. Les résultats obtenus (Tableau 10) montrent que l'isolat TR46 est plus sensible à *T.harzianum*. L'action inhibitrice de *T.harzianum*, déjà très importante en test de confrontation indirecte à l'exception de l'isolat B27.

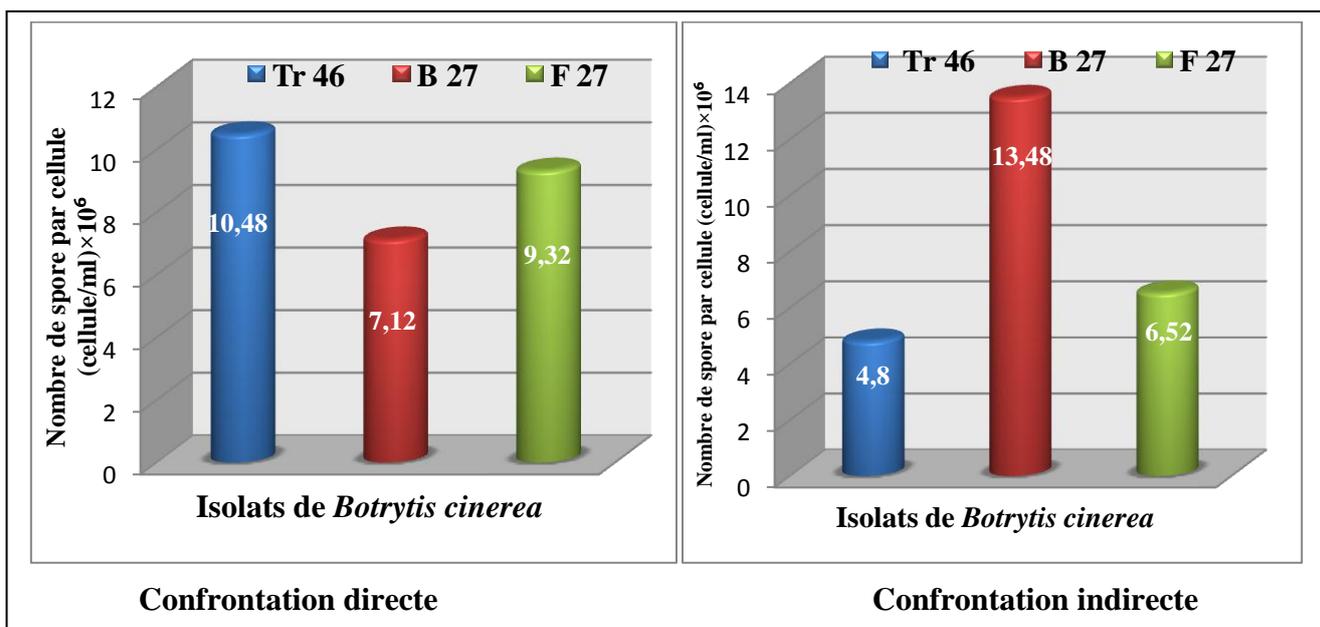


Fig. 18. : Effet inhibiteur de *T. harzianum* sur le nombre de conidies produites par le champignon *B. cinerea*.

3- Influence de la salinité sur l'antagonisme in vitro de *T. harzianum* vis-à-vis de *B. cinerea*

3-1-Evaluation de l'effet de la salinité sur la croissance mycélienne (confrontation directe et indirecte)

La croissance mycélienne des colonies de *B. Cinerea* soumis à différentes concentrations de la salinité a été notée après 4 jours. Les résultats sont reportés sur les figures (17 et 18) pour les deux confrontations directe et indirecte.

Les résultats de taux d'inhibition sont présentés dans le tableau (11).

L'augmentation des concentrations de chlorure de sodium a généralement stimulé la croissance mycélienne pour les trois isolats étudiés. En revanche, les niveaux très élevés à 300 ppm de CaCl₂ ont entraîné une inhibition dépasse de 70 % avec CaCl₂.

Le chlorure de calcium est moyennement efficace contre l'isolat TR46, les pourcentages d'inhibition variant entre 39,3 et 48,84 %. Les champignons testés sont résistants au chlorure de calcium.

L'action combinée de CaCl₂ et *T. harzianum* se traduit par une diminution de ce paramètre aussi bien pour les fortes concentrations que pour des faibles concentrations.

L'apport des concentrations croissantes en NaCl dans le milieu de cultures (PDA) se manifeste par une augmentation sensible de croissance mycélienne chez les trois isolats de *B.cinerea*, mais qui reste toutefois moins supérieure et de manière significative à celle des témoins sans sel.

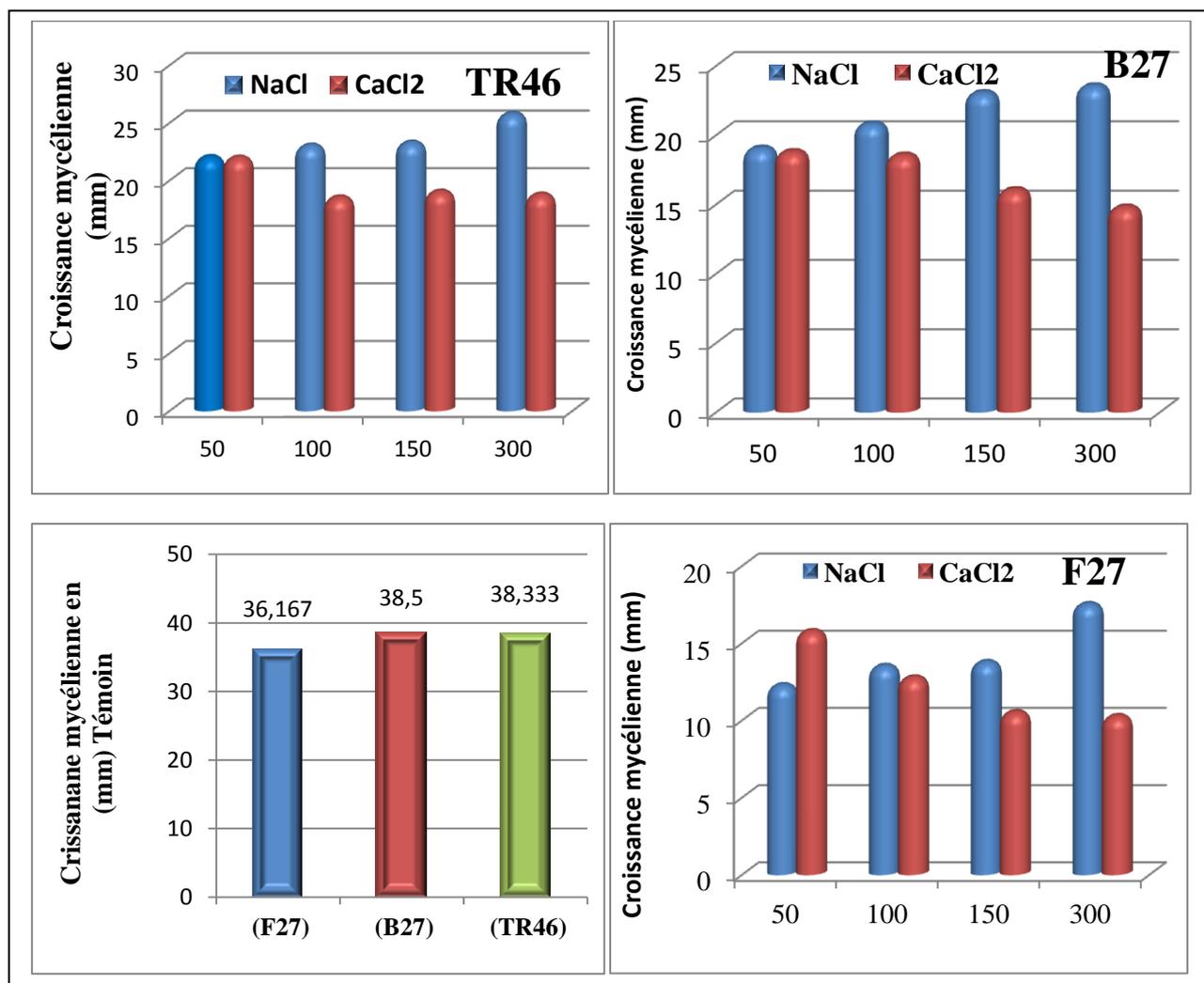


Fig.19 : Effet de la salinité sur l'antagonisme in vitro de *Trichoderma harzianum* vis-a-vis de *B. cinerea* (confrontation directe).

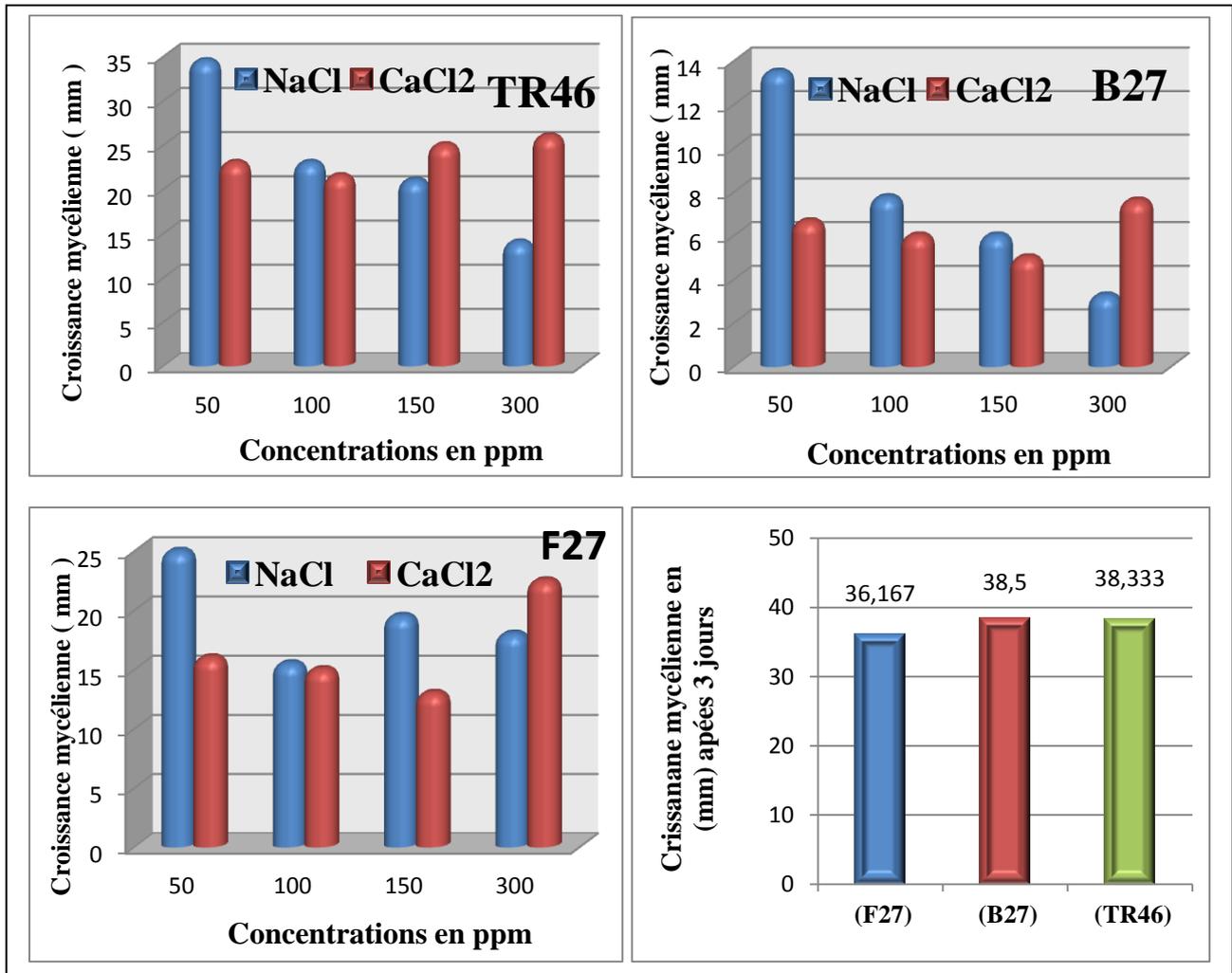


Fig.20 : Effet de la salinité sur l'antagonisme in vitro de *T. harzianum* vis-à-vis de *B. cinerea* (confrontation indirecte).

La combinaison du traitement salinité avec *T. harzianum* selon les différents concentrations salines, montrent une nette réduction de la croissance mycélienne par rapport aux témoins. En effet, la croissance mycélienne est fortement ralentie dans les trois isolats lorsque la concentration dépasse 150 ppm en NaCl. Les résultats (Fig.), montrent une diminution de ce paramètre suite à l'augmentation de la concentration saline en CaCl₂ à l'exception de la concentration 300 ppm, où nous avons constaté également une augmentation sensible de mycélium dans les trois isolats par rapport aux faibles concentrations de 50ppm.

Par rapport au témoin, la croissance mycélienne de trois isolats pour le traitement en NaCl enregistre un taux d'inhibition de 27.99, 37.76 et 69.13% pour le traitement à 50 ppm de NaCl respectivement pour les isolats TR46, F27 et B27. En revanche, l'effet combiné de CaCl₂ et *T. harzianum* ont montré une réduction de croissance mycélienne. L'isolat B27 se montre la

plus sensible avec un taux d'inhibition de 85,97% pour la concentration 100ppm et 88.3% pour la concentration 150ppm en CaCl₂ (tableau 6).

Tableau 11: Taux d'inhibition pour la confrontation directe et confrontation indirecte

Traitements	Confrontation directe			Confrontation indirecte		
	F	B	TR	F	B	TR
NaCl						
50	68,04	50,64	39,17	37,76	69,13	27,99
100	64,77	41,5	36,4	61,41	81,87	45,98
150	64,12	40,25	35,71	51,45	85,97	50,68
300	54,34	38,96	28,8	55,19	92,4	67,12
CaCl₂						
50	58,9	48,05	39,3	60,16	84,45	45,98
100	66,73	51,29	47,46	62,65	85,97	49,5
150	72,6	51,94	48,15	67,63	88,3	41,28
300	73,25	61,68	48,84	43,98	82,23	15,45

Nous avons constaté dans l'analyse statistique que l'analyse de variance montre une signification entre les isolats de *Botrytis cinerea* au test de confrontation directe et indirecte (tab12, 13,14.)

Tableau12 : Analyse de variance pour la confrontation directe.

	S.C.E	DDL	C.M	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	1364,827	2	682 ,395		
VAR.FACTEUR 1	1028,108	6	171,336	352,44	0,003**
VAR.RESIDUELLE1	2392,934	8			

Il y'a une différence significative entre les isolats (tableau 12).le test nous a permis de classer les isolats en 17 groupes.

Tableau 13 : Les groupes homogènes de confrontation directe.

Isolats	Moyennes	Groupes homogènes															
TR46témoin	40,3	A															
TR46 50Na	24,9		B														
TR46 100Na	23,3				D												
TR46 150Na	19,2					F											
TR46 300Na	19,8						H										
TR46 50Ca	19,8							J									
TR46 100Ca	21,2									L							
TR46 150Ca	22,1											N					
TR46 300Ca	24,4																P
B27 témoin	52,8	A	B	C													
B27 50Na	20,2																
B27100Na	22,2				D												
B27 150Na	21					F											
B27 300Na	17,9						H	I									
B27 50Ca	20,3								J								
B27 100Ca	19,3									L							
B27 150Ca	21,4											N					
B27 300Ca	24,2																P
F27 témoin	38,8	A		C													
F27 50Na	17,3																
F27 100Na	12,5				E												
F27 150Na	13,3					G											
F27 300Na	13,8							I									
F27 50Ca	16,4									K							
F27 100Ca	13,6										M						
F27 150Ca	11,2												O				
F27 300Ca	13,9																Q

Tableau 14 : Analyse de variance pour la confrontation directe.

	S.C.E	DDL	C.M	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	4289,502	2	2144,756		
VAR.FACTEUR 1	93,504	6	14,076	1363,83	0**
VAR.RESIDUELLE1	4374,015	8			

Il y'a une différence significative entre les isolats (tableau 14).le test nous a permis de classer les isolats en 25 groupes comme le montre le tableau 15.

Isolats	Moyennes	Groupes homogènes																			
TR46témoin	38,3		B																		
TR46 50Na	33,5			C																	
TR46 100Na	22,8					F															
TR46 150Na	20,2							I													
TR46 300Na	15,8									K											
TR46 50Ca	24,2											M									
TR46 100Ca	21,2													S							
TR46 150Ca	25,5															V					
TR46 300Ca	37,7																		Z		
B27 témoin	41,2	A																			
B27 50Na	13,5				E																
B27 100Na	8,4					G															
B27 150Na	7,2							J													
B27 300Na	3,3									L											
B27 50Ca	7,2											N									
B27 100Ca	7,2													T							
B27 150Ca	6,2															W					
B27 300Ca	8,5																			a	
F27 témoin	40	A	B																		
F27 50Na	27				D																
F27 100Na	16,4							H													
F27 150Na	20,2								I												
F27 300Na	19,2									K											
F27 50Ca	17,5													O							
F27 100Ca	15,2															U					
F27 150Ca	14,3																	Y			
F27 300 Ca	22,3																			b	

II. Discussion

A l'issue de l'étude in vitro de l'impact de la salinité du milieu sur les mécanismes d'action de *B. cinerea*, on peut en conclure que le chlorure de sodium et le chlorure de calcium stimule le développement de ce parasite allant jusqu'à 150ppm, Les concentrations de sel les plus favorables sont situées entre 50 et 150 ppm.

Sous ces concentrations salines, la croissance mycélienne est plus grande que celle manifestée en absence de sels. L'augmentation des concentrations de chlorure de sodium et de chlorure de calcium a généralement diminué la croissance mycélienne. À cet effet, les niveaux très élevés à 300 ppm ont entraîné une inhibition dépasse de 16 % avec NaCl et 23% pour CaCl₂.

Benyahya, (1998) a montré que l'augmentation de la salinité du milieu favorise la croissance mycélienne in vitro de *Phytophthora citrophthora* et *P. parasitica*, agents de la pourriture racinaire des agrumes, avec un optimum situé entre -1.44 et -3.11 bars.

Dans le cas de l'évaluation de l'effet de NaCl et de CaCl₂ sur le nombre de conidies viables produites par le champignon. Tous les isolats de *B.cinerea* sont capables de sporuler à la salinité testée, mais à de degré variable. La sporulation la plus importante est observée pour des différentes concentrations compris entre 50 et 300ppm. L'incorporation de 300ppm de sels a favorisé le nombre de conidies produites. En effet le chlorure de sodium montre une activité conidiogénèse nettement plus élevée que celle du chlorure de calcium

(Benyahya, 1998). Selon cet auteur, les ions Na⁺ et Cl⁻ stimulent la production des sporanges de *P. citrophthora* et *P. parasitica* alors que l'effet osmotique inhibe cette activité biologique. Chez *Verticillium*, l'augmentation de la sporulation sous l'effet du sel ne semble pas être due uniquement à l'effet des ions Na⁺ et Cl⁻ mais aussi à l'effet osmotique.

Aux faibles concentrations (50 ppm), la capacité germinative pour la plupart des isolats est augmentée par comparaison avec le témoin sous les deux types de sel. Au delà de cette concentration l'effet du CaCl₂ s'est traduit par une réduction linéaire du % germinatif.

L'inhibition de la germination due à l'exposition aux fortes concentrations (300ppm) est fortement augmentée sous les deux types de sel.

Wisniewski et al. (1995) ont montré que l'augmentation de la concentration du chlorure de calcium (25-175 mM) entraîne une diminution de la germination et de la croissance du tube

germinatif in vitro du *B. cinerea* et du *Penicillium expansum*, causant respectivement les moisissures grise et bleue chez la pomme entreposée.

L'ajout de calcium dans le milieu de culture liquide à base de dextrose de pomme de terre (PDA) a provoqué une réduction de la germination des spores et un ralentissement de la croissance du tube germinatif de *R. stolonifer* (Tian et al., 2002).

L'étude que nous avons effectuée a montré l'effet antagoniste d'une souche de *Trichoderma harzianum* vis-à-vis de *Botrytis cinerea*.

En confrontation directe, *T.harzianum* inhibe la croissance de l'ensemble des isolats de *B.cinerea* ; cette inhibition est mise en évidence par la présence d'une zone d'inhibition. Cette dernière est apparue à partir du 4^{ème} jour de confrontation. Elle varie selon les isolats du pathogène. Pour le taux d'inhibition de la croissance mycélienne les plus grandes atteignent 69.62 % pour l'isolat B27.

Dans le cas de la confrontation indirecte, nous pouvons remarquer un ralentissement de la croissance mycélienne du pathogène exposé aux substances volatiles de *T. harzianum*. Le taux d'inhibition atteint 80.56% pour l'isolat B27.

Il apparaît clairement que *T.harzianum* provoque une inhibition de l'intensité de la conidiogénèse pour les trois isolats de *B. cinerea*. Le nombre de conidies produites est plus faible que celui des conidies témoins sans confrontation. En effet, à la confrontation indirecte, on enregistre une inhibition importante du nombre de conidies produites par l'isolat TR46 ($4,8 \times 10^6$) par rapport à la confrontation directe ($10,48 \times 10^6$).

D'après Dennis et Webster (1971), les *Trichoderma* émettent des substances chimiques toxiques qui sont des dérivés de l'hydrazine présents sous formes de substances volatiles importantes. Selon Dennis et Webster (1971), les substances toxiques émises par *Trichoderma* sont des dérivés de l'hydrazine présents sous forme de substances volatiles. Brenal-Vicente et al (2009), rapportent également l'efficacité de *Trichoderma* vis-à-vis des champignons telluriques tels que *Fusarium oxysporum* Schltdl. ou *Verticillium dahliae* kleb.

Daami-Remadi (2001) a montré l'effet fortement antagoniste « in vitro » de *T.harzianum* vis-à-vis des *Fusarium* responsables de la pourriture sèche des tubercules de pomme de terre. Cette inhibition était plus marquée (près de 93%) quand l'antagoniste était apporté sous forme d'une suspension de spores dans le milieu de culture.

Huber et al (2005), effectuant des essais de confrontation directe, sur milieu de culture entre *Fusarium oxysporum f.s. radicis lycopersici* et *T.harzianum* ont noté que ce dernier inhibait la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum f.s.paradicis lycopersici* de plus de 65% par rapport au témoin.

Les résultats présentés dans l'étude de l'influence de la salinité sur l'antagonisme in vitro de *T. harzianum* vis-à-vis de *B.cinerea* de montrent que l'apport de sel dans le milieu de culture (PDA) affecte la capacité antagoniste vis-à-vis des isolats de *B. cinerea*.

En absence de sel, l'effet des substances volatiles se manifeste par une inhibition de la croissance de trois isolats de 17 à 47 mm par rapport aux témoins non exposés (Figure 17-18). Cette inhibition est maintenue en présence de concentrations de CaCl_2 allant de 50 à 300ppm.

Les cultures du pathogène conduites sur milieu salin, et ayant porté auparavant une culture de *Trichoderma*, montrent une réduction importante de leur croissance par rapport à leurs témoins respectifs, pour les deux types de sels, et ceci pour toutes les concentrations en sel.

Cependant, l'action antagoniste sur la croissance du pathogène, très significative, est de 58.9 % à 50ppm et elle persiste pour les concentrations élevées de CaCl_2 allant jusqu'à 300ppm (fig.17-18).

On notera de plus que les concentrations de sel favorables à l'expression maximale du phénomène antagoniste se rapprochent des taux de salinité des sols (0,2 à 5g/l) où sévit la verticilliose (Besri, 1981).

Plusieurs travaux ont rapporté que l'augmentation de la salinité du milieu favorise la croissance et la conservation de *Verticillium dahliae* et de *Fusarium oxysporum fsp lycopersici*, principaux agents des trachéomycoses au Maroc (Besri, 1977 ; Ioannou et al., 1977 ; Besri, 1981).

De même, la réduction du potentiel osmotique à des valeurs comprises entre -2 et -20 bars stimule la croissance mycélienne et la sporulation de *Verticillium dahliae*, mais la production des organes de résistance est moins sensible à la baisse du potentiel osmotique (Ioannou et al., 1977).

Les travaux de Swiecki & Mac Donald (1991) rapportent que la formation des sporanges de *Phytophthora parasitica* est plus importante en présence de concentrations modérées de NaCl et de CaCl_2 par rapport aux témoins sans sel.

D'après Meslouhi (1989), Davet (1983a et 1983b) cette action inhibitrice est due à des substances de nature chimique libérées par les souches de *Trichoderma* (phénomène d'antibiose). La capacité à produire de telles substances varie selon les isolats d'une même espèce ou d'espèce différente.

D'après Dennis et Websters (1971), les *Trichoderma* émettent des substances chimiques toxiques qui sont des dérivés de l'hydrazine présents sous formes des substances volatiles importantes.

Conclusion

Au cours de notre travail nous avons essayé de définir l'effet *in vitro* d'une souche de *Trichoderma harzianum* à l'encontre de *Botrytis cinerea* et l'effet de la salinité sur le pouvoir antagoniste de *T. harzianum* vis-à-vis du champignon pathogène.

Le chlorure de sodium stimule la croissance et la sporulation du champignon pathogène alors que l'exposition à chlorure de calcium réduit sévèrement.

La confrontation directe de *Trichoderma harzianum* avec *B. cinerea* se traduit par un arrêt à distance de la croissance mycélienne du pathogène et la formation d'une zone d'inhibition.

Le test des substances volatiles de *T. harzianum* a permis également de mettre en évidence un ralentissement de la croissance mycélienne de *B. cinerea* exercée sous l'effet des substances volatiles émises par *T. harzianum*.

Le test de l'effet de la salinité sur le pouvoir antagoniste de *T. harzianum* vis-à-vis de *B. cinerea* a montré que les conditions salines de culture, provoquent une inhibition de la croissance mycélienne de cet agent pathogène. La réduction de la croissance reste beaucoup plus importante en présence de chlorure de calcium.

Les confrontations ont été ensuite examinées provoquant une modification dans l'expression de l'action inhibitrice de *T. harzianum* sous les différentes concentrations salines.

L'influence de la salinité sur l'action antagoniste des substances volatiles de *T. harzianum* ne se fait que pour les concentrations en sel supérieures à 100ppm pour lesquelles l'effet antagoniste sur la croissance du pathogène diminue. On peut penser qu'un seuil de salinité est nécessaire pour perturber les mécanismes de la libération des substances volatiles par *Trichoderma* et/ou diminuer leur efficacité sur *B. cinerea*.

A l'instar de ces résultats, nous pensons que *Trichoderma harzianum* possède une aptitude pour éliminer *B. cinerea* et peuvent donc avoir des intérêts pratiques en lutte biologique contre pourriture grise de la tomate..

Référence bibliographique

- **Adams PB (1990),** the potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 28: 59-72.
- **Agrios N.G., 1988.** Plant disease epidemiology. In *Plant Pathology*, Academic Press, INC. 3th edition, 156-179.
- **Agrios, G.N. (2005),** *Plant Pathology*, fifth edition. Elsevier Academic Press, 922 p.
- **Alfonso, C., Raposo, R., and Melgarejo, P. 2000.** Genetic diversity in *Botrytis cinerea* populations on vegetable crops in greenhouses in south-eastern Spain. *Plant Pathology* 49: 243-251.
- **Allakhverdiev, S. I., Sakamoto, A., Nishiyama, Y., Inaba, M. and Murata, N. (2000)** Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystem I and II in *Synechococcus* sp. *Plant Physiol.* 123, 1047-1056.
- **Andrew F., (2001),** *The tomato in America, Early history, culture, and cooking*, University of Illinois Press, 2001, (ISBN 0252070097), p. 15.
- **Anonyme. (1992).** Noms des maladies des plantes au Canada. Société de Protection des Plantes du Québec. 477 pp.
- **Bartnicki-Garcia S. (1968),** Cell wall chemistry, morphogenesis and taxonomy of fungus i. *Annual Review of Microbiology.* 22, 87-109.
- **Bélanger R.R, Dufour N., Caron J, Benhamou N. 1995.** Chronological events associated with the antagonistic properties of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea*: indirect evidence for sequential role of antibiosis and parasitism. *Biocontrol Science and Technology.* 5, 41-53.
- **Benhamou N., Kloepper J.W., Quadts-Hallmann A. and Tuzun S. (1996b)** Induction of defense-related ultrastructural modifications in pea root tissues inoculated with endophytic bacteria. *Plant Physiology* 112: 919-929.
- **Benyahya H.,(1998).** Effet de la salinité sur la pourriture racinaire des agrumes due au *Fusarium oxysporum f.sp. lentis*. *Cryptogamie-Mycologie*, 23(2): 221-234.
- **Bernal-Vicente,A.;Ros,M.,Pascual,J.A.,(2009).**Increased effectiveness of the *Trichoderma harzianum* isolate T-78 against *Fusarium* wilt on melon plants under nursery conditions.*J.Sci;Food Agric.*89,827-833.
- **Besnard O. & Davet P., (1993).** Mise en évidence de souches de *Trichoderma spp* à la fois antagonistes de *Pythium ultimum* et stimulatrices de la croissance des plantes. *Agronomie*, 13 : 413-421.
- **Besri M., (1977).** Etude de quelques aspects de l'écologie de *Fusarium oxysporum f.s.p. lycopersici* et de *Verticillium dahliae* Kleb. le long du littoral atlantique marocain. *Thèse de Doctorat essciences. Université de Nancy, 199 p.*

Référence bibliographique

- **Besri M., (1981).** Qualité des sols et des eaux d'irrigation et manifestation des trachéomycoses de la tomate au Maroc. *Phytopathologia mediterranea*, Vol 20, n°2/3:107-111.
- **Bisset, J.A (1991).**, Revision of the genus *Trichoderma*.II.infrageneric classification.(b) *Can.J.bot.*,1991,69:2357-2372.
- **Blakeman, J.P. (1980).**, Behaviour of conidia on aerial plant surfaces, p. 115-151, in: *The Biology of Botrytis*. J. R. Coley-smith, K. Verhoeff and W. R. Jarvis, eds. Academic Press, London.
- **Blancard D., (2009).**, Les maladies de la tomate : identifier, connaitre, maitriser. Édit.Quae, France. 679 p.
- **Bornhoff, B.A., Harst, M., Zyprian, E. and Töpfer, R. (2005).**, Transgenic plants of *Vitis vinifera* cv. Seyval blanc. *Plant Cell Reports*, 24(7), 433-438.
- **Bull C. T., Wadsworth M. L., Sorensen K. N., Takemoto J. Y., Austin R .K .and Smilanick J.L. (1998).**, Syringomycin E produced by biological control agents controls green mold on lemons. *Biological Control*, 12, 89-95.
- **Calvo J., CalventeV., Orellano M.E., Benuzzi D., Tosetti M.I.S. (2007).**, Biological control of postharvest spoilage caused by *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* in apple by using the bacterium *Rahnella aquatilis*. *International Journal of Food Microbiology*, 113(3), 251- 257.
- **Camporota, P., (1985).** *In vitro* Antagonism of *Trichoderma spp.* against *Rhizoctonia solani* Kühn. *Agronomie*, 5(7): 613-620.
- **Caron.,(2002).**,Phytopathologiste horti-protection inc.conférence présentée lors des journées horticoles régionales à St-Rémi.champignons phytopathogènes du sol.*bull.soc.pharm.*144 :211-224 .
- **Carsolio C, Benhamou N, Haran S, Cortés C, Gutiérrez A, Chet I and Herrera-Estrella A (1999).**, Role of *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitism. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 929-935.
- **Castoria R., De Curtis F., Lima G. and De Cicco V. (1997).**, b-1,3-Glucanase activity of two saprophytic yeast's and possible mode of action as biocontrol agents against post-harvest diseases. *Post-harvest Biol. Technol.*, 12, 293-300.
- **Celma R. A., Cuadros F., López-Rodríguez F., (2009).**, Characterisation of industrial tomato by-products from infrared drying process. Department of Mechanical and Energy Engineering, University of Extremadura, Avda Elvas s/n, 06071 Badajoz, Spain. *Food and Bioproducts Processing* 87 (2009) 282–291.
- **Chan Z., Tian S. 2005.** Interaction of antagonistic yeasts against postharvest pathogens of apple fruit and possible mode of action. *Postharvest Biology and Technology*, 36(2), 215- 223.
- **Chaux C.L. et Foury C.L. (1994).**, Culture légumière et maraichère. Tome 3 : légumineuses potagères, légumes fruit.Tec et Doc. Lavoisier, Paris : 563 p.
- **Chet, I., Benhamou, N., Haran, S. (1998).**, Mycoparasitism and lytic enzymes. *Trichoderma and Gliocladium*. 2, 153-172.

Référence bibliographique

- **Clark, C.A., and Lorbeer, J.W. (1977).**, Comparative nutrient dependency of *Botrytis squamosa* and *Botrytis cinerea* for germination of conidia and pathogenicity on onion leaves. *Phytopathology* 67: 212-218.
- **Collins, D.P. and Jacobsen, B.J. (2003).**, Optimizing a *Bacillus subtilis* isolate for biological control of sugar beet *Cercospora* leaf spot. *Biol. Control*. **26**(2):153-161.
- **Cook D. W. M., Long P. G., Ganesh S., and Cheah L.-H. (1997).**, Attachment microbes antagonistic against *Botrytis cinerea* - biological control and scanning electron microscope studies *in vivo*. *Ann. appl. Biol.* 131, 503-518.culture. *Plant Dis.* **86**:915-918.
- **Cotoras M, Silva E. (2005).**, Differences in the initial events of infection of *Botrytis cinerea* strains isolated from tomato and grape. *Mycologia* 97:485-492.
- **Coutos-Thévenot P, Poinsot B, Bonomelli A, Yean H, Breda C, Buffard D, Esnault R, Hain R, and Boulay M, (2001).**, In vitro tolerance to *Botrytis cinerea* of grapevine 41B rootstock in transgenic plants expressing the stilbene synthase *Vst1* gene under the control of a pathogen-inducible PR10 promoter. *J. Exp. Bot.* 52: 901-910.
- **Csizinszky A.A., Schuster D.J., Jones J.B et Van Lenteren J.C., (2005).**, Tomatoes: Edited by Ep Heuvelink. Crop production science in horticulture (13). ISBN 0 85199 3966: CABI Publishing is a division of CAB International. 235 pages.
- **D'ercole, N., P. Nipoti, L. Di Pillo And F. Gavina, (2000).** *In vitro* and *in vivo* Tests of *Trichoderma* spp. As a Biocontrol Agent of *Verticillium dahliae* kleb. In Eggplants. In: *Advances in Verticillium Research and Disease Management*, APS Press, pp: 260-263.
- **Daami-Remadi M. (2001).** Lutte biologique contre les *Fusarium* spp. agents pathogènes responsables de la pourriture sèche des tubercules de pomme de terre. Mémoire de Diplôme d'études Approfondies en Protection des Plantes et Environnement. Tunisie : Ecole supérieure d'Horticulture et d'élevage de Chott Mariem, 72 p .
- **Datnoff, Le., S. Nemeć And K. Pernezny, (1995).** Biological Control of *Fusarium* Crown and Root Rot of Tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. *Biological Control*, 5: 427-431.
- **Davidson, J.A., and Krysinska-Kaczmarek, M. (2007).**, Effects of inoculum concentration, temperature, plant age and interrupted wetness on infection of lentil (*Lens culinaris*) by *Botrytis* spp. conidia. *Australasian Plant Pathology* 36: 389-396.
- **Dennis, C. And J. Webster. (1971).** Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interaction. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 57: 363-369.
- **Doehlemann, G., Berndt, P., and Hahn, M. (2006).**, Trehalose metabolism is important for heat stress tolerance and spore germination of *Botrytis cinerea*. *Microbiology* 152: 2625-2634.
- **Doorenbos., J. et al. (1980).**, Réponse des cultures à l'eau. Bulletin FAO d'irrigation et de drainage .pp 192-194.

Référence bibliographique

- **Droby S. and Chalutz E. (1994).**, Mode of action of biocontrol agents of postharvest disease. In Wilson C.L. and Wisniewski eds. *Biological Control of postharvest disease. Theory and practice*. CRC Press, Boca Raton. USA, 63-75.
- **DSA, (2010).**, Direction des services agricoles de la wilaya de Mostaganem, service des statistiques 2010.
- **Dubos B., Bulit J., Bugaret Y. and Verdu D. (1978-1982).**, The possibilities of using *Trichoderma viride* for the biological control of *Botrytis cinerea* and *Phomopsis viticola* on grapevines. *Comptes Rendus des Seances de l'Academie d'Agriculture de France*, 14: 1159-1168.
- **Eden, Ma., R.A. Hill And A. Stewart, (1996).** Biological controls of *Botrytis* stem infection of green house tomatoes. *Plant Pathology*, 45: 276-284.
- **Elad, Y. (1997).**, Effect of filtration of solar light on the production of conidia by field isolates of *Botrytis cinerea* and on several diseases of greenhouse-grown vegetables. *Crop Protection* 16: 635-642.
- **Elad, Y., and Stewart, A. (2004).**, Microbial control of *Botrytis* spp, p. 223–41, in: *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Press, Dordrecht, the Netherlands.
- **Elad, Y., Y. Hadar, E. Hadar, I. Chet And Y. Henis, (1981).** Biological Control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in Carnation. *Plant Disease* , 65: 675-677.
- **Errampalli D., Northover J., Skog L., Brubacher N., Collucci C.A. (2005).**, Control of blue mold (*Penicillium expansum*) by fludioxonil in apples (cv Empire) under atmosphere and cold storage conditions. *Pest Management Science*. 61, 591 -596.
- **Esposito,E.& Silva,M. (1980).**, systematic and environmental application of the genus *trichoderma*.*crit.rev.microbiol.*,24(2):89-98.
- **Essalmani H. And H. Lahlou, (2002).** *In vitro* study of antagonistic activity of microorganisms against *Fusarium oxysporum f.sp. lentis*. *Cryptogamie-Mycologie*, 23(2): 221-234.
- **Fan, C., Pu, N., Wang, X., Wang, Y., Fang, L., Xu, W. and Zhang, J. (2008).**, Agrobacterium - mediated genetic transformation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) with a novel stilbene synthase gene from Chinese wild *Vitis pseudoreticulata*. *Plant Cell, Tiss. Organ. Cul.*, 92(2), 197-206.
- **FAO., (2010).** Données de la base statistique de l'organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture sur le site : <http://apps.fao.org>. 17 /05/2014.
- **Faostat., (2010).** Base de donnée des statistique de l'organisation des nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.
- **Farr, D., Bills, G.F., Chamuris, G.P., and Rossman, A.Y. (1989).**, Fungi on plants and plant products in the United States. APS Press, St Paul, USA, 1252 p.
- **Fravel, D.R., 2005.** Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43, 337–359.

Référence bibliographique

- **Fravel, D.R., Rhodes, D.J. and Larkin, R.P. (1999).** Production and commercialization of biocontrol products. In *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*, edited by R. Albajes, M. L. Gullino, J. C. van Lenteren and Y. e. Elad: Dordrecht: Kluwer.
- **Groves, J.W., and Drayton, F.L. (1939).** The perfect stage of *Botrytis cinerea*. *Mycologia* 31: 485-489.
- **Guenaoui Y., (2008).** Nouveau ravageur de la tomate en Algérie. Premières observations sur *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae), mineuse de la tomate invasive, dans la région de Mostaganem, au printemps 2008. *Entomologiste*, Université de Mostaganem. *Phytoma- La Défense des Végétaux* n°. 617, pp.18-19.
- **Guenaoui Y., (2010).** *Tetranychus evansi* (Baker & Pritchard) (Acari:Tetranychidae) acarien invasif signalé sur culture de tomate à Mostaganem dans le nord-ouest de l'Algérie. Université de Mostaganem, Mostaganem, Algérie. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 40, Pp. 193–195.
- **Haas D., Blumer C. & Keel C., (2000).** Biocontrol ability of fluorescent pseudomonads genetically dissected: importance of positive feedback regulation. *Curr. Opin. Biotechnol.* 11, 290–297.
- **Haggag W.M. And A.W. Amin, (2001).** Efficiency of *Trichoderma* Species in Control of *Fusarium*-Rot, Root Knot and Reniform Nematode Disease Complex on Sunflower. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4(6): 679-683.
- **Harman Ge., B. Latorre, E. Agosin, R. San Martin, D.G. Riegel, P.A. Nielson, A. Tronsomo and R.C. Pearson, (1996).** Biological and integrated control of *Botrytis* bunch rot of grape using *Trichoderma* spp. *Biological Control*, 7(3): 259-266.
- **Harman, G.E. (2000).** Myths and dogmas of biocontrol – changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis.* 84 : 377-393.
- **Heller, R., Esnault, R., Lance, C. (1998).** *Physiologie végétale*, 1. Nutrition. 6ème édition de l'Abrégé. Paris : Dunod. 323 p.
- **Hjeljord, L.G., Stensvand, A. and Tronsmo, A. (2000).** Effect of temperature and nutrient stress on the capacity of commercial *Trichoderma* products to control *Botrytis cinerea* and *Mucor piriformis* in greenhouse strawberries. *Biol. Control.* 19(2):149-160.
- **Holz, G., Coertze, S., and Williamson, B. (2004).** The ecology of *Botrytis* on plant surfaces, p. 9-27, in: *Botrytis: biology, pathology and control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Press, Dordrecht, the Netherlands.
- **Hopkins W. G., (2003)** *Physiologie végétale*. Editions De Boeck Université : 451
- **Howell C.R., (2002).** Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 92: 177-180
- **Huber DPW, Philippe RN, Madilao LL, Sturrock RN, Bohlmann J. (2005).** Changes in anatomy and terpene chemistry in roots of Douglas-fir seedlings following treatment with methyl jasmonate. *Tree Physiol* 25, 1075-1083.

Référence bibliographique

- **I.N.R.A., (2008).** La noctuelle de la tomate *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera :Noctuidae) <http://www.inra.fr/internet/Produits/HYPPZ/RAVAGEUR/3helarm.htm> consulté le 17 mars 2014
 - **Iaonnou N., Schneider R.W., Grogan R.G., And Duniway J.M., (1977).** Effect of water potential and temperature on growth, sporulation and production of microsclerotia by *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 67: 637-644.
 - **Idrenmouche S., (2011).**, Biologie et écologie de la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera : Gelechiidae) dans la région de Boumerdes. Mémoire Magistère en Sciences Agronomiques. E.N.S.A. El Harrach, 103p.
- Jarvis WR (1977).**, Botryotinia and Botrytis Species: Taxonomy, Physiology, and Pathogenicity. Research Branch, Canada Department of Agriculture, Ottawa, Canada Department of Agriculture, Ottawa, Canada, p. 195.
- **Jarvis WR (1980).**, Epidemiology. In: Coley-Smith JR, Verhoeff K and Jarvis WR (eds) The Biology of Botrytis. (pp. 219-250) Academic Press, London, UK.
 - **Jarvis, W.R. (1992).**, Managing diseases in greenhouse crops. American Phytopathological Society, St Paul, MN, 288 p.
 - **Ji, P., Campbell, H.L., Kloepper, J.W., Jones, J.B., Suslow, T.V. and Wilson, M. (2006).** Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. *Biol. Control.* **36**(3):358-367.
 - **Kibicek,C.P. ;bisset,j. ;druzhinina,i,kullnig-gradiger,c.& sazakacs,g.(2001).**genetic and metabolic diversity of trichoderma sp.:a case on south-east asianisolates.fungal genet.biol.,38 (3) :310-319;
 - **Kolev N. (1976).**, Les cultures maraichères en Algérie. Tome1. Légumes fruits. Ed. Ministère de l'agriculture et des reformes Agricoles : 52p.
 - **Kosuge T and Hewitt WB (1964).**, Exudates of grape berries and their effect on germination of conidia of Botrytis cinerea. *Phytopathology* 54: 167-172
 - **Landreau (2001), A.** Métabolites d'une souche de trichoderma koningii oudemans isolée du milieu marin: étude chimique, biologique et risqué pour le coquillage en culture.th:pharmacie Nantes: .201 p.
 - **LARKIN R.P., and FRAVEL D.R., (2002).** Effect of Varying Environmental Conditions on Biological Control of Fusarium wilt of tomato by Nonpathogenic Fusarium spp. *Phytopathology* 92: 1160-1166.
 - **Lee, J.P., Lee, S.W., Kim, C.S., Son, J.H., Song, J.H., Lee, K.Y., Kim, H.J., Jung, S.J. and Moon, B.J. (2006).** Evaluation of formulations of *Bacillus licheniformis* for the biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea*. *Biol. Control.* **37**(3):329-337.
 - **Lennox CL, Spotts RA and Cervantes LA (2003).**, Populations of Botrytis cinerea and Penicillium spp. on pear fruit, and in orchards and packing houses, and their relationship to postharvest decay. *Plant Disease* 87: 639-644.

Référence bibliographique

- **Leone G (1990).**, In vivo and in vitro phosphate-dependent polygalacturonase production by different isolates of *Botrytis cinerea*. *Mycological Research* 94: 1039-1045
- **Leroux, P. (2004).**, Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides, p. 195-222, in: *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Press, Dordrecht, the Netherlands.
- **Leroux, P., Chapeland, F., Desbrosses, D., and Gredt, M. (1999).** Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from french vineyards. *Crop Protection* 18: 687-697
- **Lifshitz, R., Windham M.T. & Baker, R., (1986).** Mechanism of Biological Control of Preemergence Damping-off of Pea by Seed Treatment with *Trichoderma spp.* *Phytopathology*, 76, 720-725.
- **Lorito M., Woo S.L. (1998).** Advances in understanding the antifungal mechanism(s) of *Trichoderma* and new applications for biological control. *Biological Control of Fungal and Bacterial Plant Pathogens. IOBC Bulletin..21* (9), 73-80.
- **Maude, R.B. (1980).**, Disease control. Pages 275-308 In Coley-Smith *et al.*. 1980. The biology of *Botrytis*. Academic Press, Londres.
- **Mazliak P., (1995).** Physiologie des stress. Ed. Hermann, 432 p.
- **Mendoza Garcia, R.A., Martijn ten Hoopen, G., Kass, D.C.J., SanchezGarita, V.A. and Krauss, U. (2003).** Evaluation of mycoparasites as biocontrol agents of *Rosellinia* root rot in cocoa. *Biol. Control.* 27(2):210-227.
- **Meziane H., van der Sluis I., van Loon L.C., Höfte M. and Bakker P.A.H.M. (2005).** Determinants of *Pseudomonas putida* WCS358 involved in inducing systemic resistance in plants. *Molecular Plant Pathology* 6: 177-185.
- **Mikani A., Etebarian H.R., Sholberg P.L., O’Gorman D.T., Stokes S., Alizadeh A. (2008).** Biological control of apple grey mold caused by *Botrytis mali* with *Pseudomonas fluorescens* strains. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 107-112.
- **Minuto, A., Spadaro, D., Garibaldi, A. and Gullino, M.L. (2006).** Control of soilborne *Mol. Plant Pathol.* 6(2):177-185.
- **Naika S., Jeude J.V.L., Goffau M., Hilmi M., Dam B.V., (2005) .**, Agrodóc 17, la cultura de la tomate, production, transformation et commercialisation Editor: Barbara van Dam / la culture de la tomate. 105 pages.
- **Neilands, J.B., (1981).** Microbial iron compounds. *Annu. Rev. Biochem.*, 50: 715–731.
- **Nicholas P., Magarey P. and Wachtel M. (1994).** Diseases and Pests. Marlestone, South Australia, Winetitles. 106.
- **Nicot, P.C., and Baille, A. (1996).**, Integrated control of *Botrytis cinerea* on greenhouse tomatoes, p. 169-189, in: *Aerial plant surface microbiology*. C. E. Morris, P. C. Nicot and C. Nguyen-The, eds. Plenum Press, New-York.

Référence bibliographique

- **Nordlund, D.A. (1996).** Biological control, integrated pest management and conceptual models. *Biocontrol News and Information* 176-35-44.
- **O'Neill, T.M., Shtienberg, D., and Elad, Y. (1997).** Effect of some host and microclimate factors on infection of tomato stems by *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* 81: 36-40.
- **Ozbay, N. and S.E. Newman, (2004).** Effect of *Trichoderma* strains to colonize Tomato Roots and improve Transplant growth. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(2): 253-257.
- **Papavizas, G.C. (1985).** *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.*23: 23-54.
- **Paulitz, T.C. and Bélanger, R.R. (2001).** Biological control in greenhouse systems. *Annu. Rev. Phytopathol.* **39**:103-133.
- **Pearson R.C. and Goheen, A.C. (1988).** Compendium of Grape Diseases. St. Paul. Minnesota, USA. APS Press, 1-93.
- **Polese J.M., (2007).**., La culture des tomates. Amazon France paris. Edit.n°1, volartemis.95p.
- **Regragui A. And Lahlou H., (2005).** Effect of Salinity on *in vitro Trichoderma harzianum* Antagonism against *Verticillium dahliae*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* **8 (6)**:872-876.
Rhizoctonia solani by *Trichoderma harzianum* in Carnation. *Plant Disease*, 65: 675-677.
- **Roquebert,M.(1996).**,F.Interaction antagoniste des trichoderma sp.dans les systhèmes telluriques : systématique,biologie et écologie des organisms.compte-rendu,paris ,13-15.
- **Rotem J and Aust HJ (1991).**., The effect of ultraviolet and solar radiation and temperature on survival of fungal propagules. *Journal of Phytopathology* 133: 76-84.
- **Rotem, J., and Aust, H.J. (1991).** The effect of ultraviolet and solar radiation and temperature on survival of fungal propagules. *Journal of Phytopathology* 133: 76-84.
- **Sakhr Ajouz,(2009).**.,Estimation du potentiel de résistance de *Botrytis cinerea* à des biofongicides,UNRA, Paris.6,7,8p.
- **Salinas, J., Glandorf, D.C.M., Picavet, F.D., and Verhoeff, K. (1989).** Effects of temperature, relative humidity and age of conidia on the incidence of spotting on gerbera flowers caused by *Botrytis cinerea*. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 95: 51-64.
- **Saravanakumar D., Ciavorella A., Spadaro D., Garibaldi A., Gullino M.L. (2008).** PGPR-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. *Crop Protect.* **26**(4):556-565.
- **Saravanakumar, D., Vijayakumar, C., Kumar, N. and Samiyappan, R. (2007).** PGPR-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. *Crop Protect.* **26**(4):556-565.
- **Shankara N., Van lidt de jeud J., de Goffau M., Hilmi M., Van Dam B. et Florijin. A. (2005).** La culture de la tomate : production, transformation et commercialisation. Seme (ed).foundation agromisa et CTA, Wageningen.

Référence bibliographique

- **Shiraishi, M., Fukutomi, M., and Akai, S. (1970).**, Effects of temperature on the conidium germination and appressorium formation of *Botrytis cinerea* Pers. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 36: 234-236.
- **Shishkoff, N. and McGrath, M.T. (2002).** AQ10 biofungicide combined with chemical fungicides or AddQ spray adjuvant for control of cucurbit powdery mildew in detached leaf culture. *Plant Dis.* **86**:915-918.
- **Shtienberg D, Elad Y, Niv A, Nitzani Y, & Kirshner B (1998).**, Significance of leaf infection by *Botrytis cinerea* in stem rotting of tomatoes grown in non-heated greenhouses. *European Journal of Plant Pathology* 104:753-763.
- **Sippell, D.W., J.G.N. Davidson et R.S. Sadasivaiah. (1985).** Rhizoctonia root rot of raspberry in the peace region of Alberta. *Can. J. Plant Pathol.* 7 : 184-186.
- **Sivan, A. & Harman, G. E. (1991)** Improved rhizosphere competence in a protoplast fusion progeny of *Trichoderma harzianum*. *Journal of General Microbiology* **137**: 23±29.
- **Snoussi S. A., 2010.**, Etude de base sur la tomate en Algérie. Rapport de mission Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient. Rome, 52 p.
- **Soylu, S., Bennet, M.H., Mansfield, J.W., (2002)**, induction of phytoalexin accumulation in broad bean (*Vicia faba*) cotyledons following treatments with biotic and abiotic elicitors. *Turk J Agric For.*, 26, 343-348.
- **Spotts R.A., Cervantes L.A. (1986).** Population, pathogenicity and benomyl resistance of *Botrytis* spp., *Penicillium* spp. and *Mucor piriformis* in packinghouse. *Plant Disease*, 70:106–108.
- **Stefanova, M., A. Leiva, L. Larrinaga and M.F. Courrone, (1999).** Metabolic activity of *Trichoderma* spp. isolates for control of soilborne phytopathogenic fungi. *Rev. Fac. Agro. (Luz)*, 16: 509-516.
- **Stehmann C., De Ward M.A. (1996).** Sensitivity of population of *Botrytis cinerea* to triazoles, benomyl and vinclozolin. *European Journal of Plant Pathology*. 102, 171–180.
- **SWIECKI T.J. and Mac DONALD J.D., (1991).** Soil Salinity Enhances *Phytophthora* Root Rot of Tomato but Hinders Asexual Reproduction by *Phytophthora parasitica* J. *Amer. Soc. Hort. Sci.* **116** (3):471-477.
- **Thakore, Y. (2006).** The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology*. 2 (3):294-208.
- **Thomas, C.S., and Marois, J.J. (1986).** Effect of wind and relative humidity on sporulation and external mycelium formation of *Botrytis* on grape. *Phytopathology* 76: 1114.
- **Thomashow, L.S. (1996).** Biological control of plant root pathogens. *Current Opinion in Biotechnology* 7: 343-347.
- **Tian, S.P., Fan, Q., Xu, Y., Jiang, A.L., (2002).** Effects of calcium on biocontrol activity of yeasts antagonists against the postharvest fungal pathogen *Rhizopus stolonifer*. *Plant Pathol.* 51, 352–358.
- **Tronsmo A. and Raa J. (1977).** Antagonistic action of *Trichoderma pseudokoningii* against the apple pathogen *Botrytis cinerea*. *Phytopathol. Z.* 89, 216-220.

Référence bibliographique

- **Vanier P., (2009).**, La tomate au fil du temps, Usages culinaires, Conservation, Jardinage biologique, Écologie et environnement. Encyclopédie des aliments, www.passeportsanté.net , Date de consultation 20/05/2014.
- **Vidal, JR.; Kikkert, JR.;Wallace, PG. & Reisch, BI. (2003).** High-efficiency biolistic co-transformation and regeneration of ‘Chardonnay’ (*Vitis vinifera* L.) containing npt-II and antimicrobial peptide genes. *Plant Cell Reports*, 22, pp. 252–260.
- **West, J.S., Pearson, S., Hadley, P., Wheldon, A.E., Davis, F.J., Gilbert, A., and Henbest, R.G.C. (2000).** Spectral filters for the control of *Botrytis cinerea*. *Annals of Applied Biology* 136: 115-120.
- **Whipps J.M. (2001)** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 52: 487-511.
- **Widden, P. et V. Scattolin. (1988).** Competitive interactions and ecological strategies of *Trichoderma* species colonizing spruce litter. *Mycologia* 80 : 795-803.
- **Widden,P. & Abitbol, (1980).**J.J.Seasonality of *Trichoderma* specia in a spure-forest soil. *mycologia*, 72:775-784.
- **Windham, Mt., Y.Elad, R.A. Baker, 1986.** Mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma spp.* *Phytopathology*, 76 (5): 518-521.
- **Wisniewski M, Biles C, Droby S, MacLaughlin RJ, Wilson C and Chalutz E (1991).**, Mode of action of postharvest biocontrol yeast, *Pichia guilliermondii* I. Characterization of attachment to *Botrytis cinerea*.*Physiological and Molecular Plant Pathology* 39: 245-258.
- **Wisniewski M, Droby S, Chalutz E, Eilam Y, (1995).** Effects of Ca²⁺ and Mg²⁺ on *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* *in vitro* and on the biocontrol activity of *Candida oleophila*. *Plant Pathology* 44, 1016–24.
- **Yamamoto T., Iketani H., Ieki H., Nishizawa Y., Notsuka K., Hibi T., Hayashi T. and Matsuta N. (2000)** Transgenic grapevines plants expressing a rice chitinase with enhanced resistance to fungal pathogens. *Plant Cell Reports* 19: 639-646.
- **Yedidia I., Benhamou N., Chet I. (1999).** Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, p. 1061–1070.