

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers
Spécialité/Option: Phytopathologie et phytopharmacie
Département : Ecologie et Génie de l'Environnement
Filière : science agronomique

Thème

Activité antifongique d'huile de cade sur deux
champignons pathogènes de la tomate; *Botrytis cinerea* et
Fusarium oxysporum

Présenté par :

Nasri Mabrouka

Smati Amira

Devant la commission composée de :

Allioui Nora	MCb	Président	Université de Guelma
Boumaaza Boualem	MCb	Encadreur	Université de Guelma
Chahat Nora	MCb	Examineur	Université de Guelma
Ouchtati Nadia	MCb	Membre	Université de Guelma
Laouar Hadia	MAa	Membre	Université de Guelma
Zitouni Ali	MAa	Membre	Université de Guelma

Juin 2017

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous tenons à remercier DIEU tout puissant, De nous avoir accordé la force, le courage, la Volonté et la patience pour achever ce modeste travail de fin d'études de master.

Je remercie mon encadreur de son grand aide durant la réalisation de mon travaille, il est orienté moi vers le succès avec ses connaissances et partageants des idées et aussi l'encouragement tout on long de mon épreuve, comme il a été présent à tout moment qu'on à besoin de lui :
Mr Boumaaza Boualem

Nos sincères remerciements vont également mais jury Et les Enseignants de spécialité Phytopathologie et Phytopharmacie:
Mr KHALADI O Mr BENAADA M, Mr BAALI S.
Mdm Alioui N, Mdm LAOUAR, ... Et tous les Enseignants à la Faculté des sciences de la Nature et La Vie, Université 08 mai 1945 GUELMA.

Nous remercions également tous les ingénieurs et techniciens de laboratoire ayant été disponibles pour notre travail pratique sur paillasse.

Nous tenons à remercier aussi les Membres du jury .

Nous tenons à remercier Mdm chahat N et Mdm ALLIUI N Pour l'honneur qu'ils nous ont fait en Acceptant de juger notre travail.

A mon père mohammed

*J'ai vécu dans l'admiration
ta bonté. Tu es pour moi l'exemple de la réussite et du grand cœur. Puisse
Dieu, le tout puissant, te protéger et t'accorder meilleure santé et longue
vie afin que je puisse te rendre
un minimum de ce que je te dois.*

A ma mère

*Ta noblesse et ta bonté sont sans limites. Je ne trouve pas les mots pour
traduire tout ce que je ressens envers une mère
exceptionnelle dont j'ai la fierté d'être le fils. Et que
Dieu tout puissant, préserve ton sourire et t'assure une bonne santé et
une longue vie afin que je puisse te combler
à mon amour.*

*A mes Frères :
Ameur , Alla et Razane*

*Vous savez que l'affection et l'amour fraternel
que je vous porte sont sans limite. Je remercie en vous les sœurs et les
amies. J'implore Dieu qu'il vous apporte bonheur et vous aide à
réaliser vos vœux. Je vous souhaite une
vie pleine de joie.*

A mes Ancles et mes Tantes et toutes les familles

****NASRI ET FAKAR****

MABROUKA

*Je remercie mon **Papa Salah***

pour avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Merci pour les valeurs que tu as su m'inculquer : le travail, la politesse, la gentillesse et le respect. Sache que pour moi, tu es un exemple à suivre, je t'admire et je t'aime très fort.

Maman

*je te remercie pour ta patience, pour les heures passées au téléphone à m'écouter, m'encourager, me rassurer sans jamais me juger. Merci pour ton amour et ton soutien sans faille.
Je t'aime maman.*

Merci à ma sœur Hana

*à tous nos bons moments partagés.
Je n'ai pas toujours été une soeur « facile à vivre » alors merci pour ton soutien, tes conseils, ton amour et tes autres qualités qui font de toi la meilleure des grandesses.*

A ma belle famille

wassila, chahira, linda et nabil pour votre accueil, toujours très chaleureux, au sein de votre famille. Merci également pour votre soutien et vos encouragements durant ces années d'étu

AMIRA

Résumé

L'activité antifongique d'huile essentielle de cade a été réalisée *in vitro* sur deux champignons parasites de tomate ; *B.cinerea* et *F.oxysporum* par la méthode de contact direct et de macrodilution en milieu liquide. *In vitro*, l'huile essentielle de cade s'avère efficace sur les isolats de *Fusarium oxysporum* et *Botrytis cinerea* avec des taux d'inhibition compris entre 17.63 et 63.95 % pour la croissance mycélienne, 8.37 et 67.26 % pour la production des conidies et 28.44 et 77.58 % pour leur germination. Les résultats ont montré que l'huile de cade possède une activité antifongique. La plus faible CMI a été obtenue à 6%, tandis que la plus haute valeur a été obtenue contre *F.oxysporum* (> 25%).

Mots clés : Activité antifongique, huile de cade, huile essentielle, *B. cinerea*, *F.oxysporum*, CMI.

Abstract

The antifungal activity of essential oil of cade was carried *in vitro* against two fungal diseases of tomato; *B.cinerea* and *F.oxysporum* by the direct contact and macrodilution method in liquid medium. *In vitro*, the essential oil of cade is effective on the isolates of *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea* with inhibition rates between 17.63 and 63.95% for mycelial growth, 8.37 and 67.26% for the production of conidia and 28.44 and 77.58% for their germination. The results showed that the oil of cade presents an antifungal activity. The lowest MIC was obtained at 6%, while the highest value was obtained against *F.oxysporum* (> 25%).

Keywords: antifungal activity, oil of cade, oil essential, *B. cinerea*, *F.oxysporum*, MIC.

المخلص

تم تنفيذ نشاط الزيت المضاد للفطريات في المختبر على اثنتين من الفطريات الطفيلية من الطماطم (*F.oxysporum* و *B.cinerea*) بطريقة الاتصال المباشر و التخفيف في وسط سائل. الزيت الأساسي للقطران فعال على عزلات (*B.cinerea* و *F.oxysporum*) مع معدل تثبيط بين 17.63 و 63.95 % لنمو الفطر ، 8.37 و 67.26 % لإنتاج الأبواغ، 28.44 و 77.58 % لانتاش هذه الأبواغ. أظهرت النتائج أن زيت القطران له نشاط مضاد للفطريات . تم الحصول على ادنى جرعة عند 6 % في حين انه تم الحصول على اعلى جرعة (<25%) ضد *F.oxysporum*

كلمات البحث:

نشاط مضاد الفطريات ، زيت القطران ، بوتريتيس سيناريا ، فوزاريوم اوكسيسبوروم، ادنى جرعة مثبطة .

TABLE DES MATIERES

Remerciement

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Table Des Matières

Chapitre -I.....Erreur ! Signet non défini.

Plante Hôte : la tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller)Erreur ! Signet non défini.

I.1.Introduction..... **Erreur ! Signet non défini.**

I.2.Historique de la tomate **Erreur ! Signet non défini.**

I.3.Classification botanique de la tomate **Erreur ! Signet non défini.**

I.4.Diversité génétique **Erreur ! Signet non défini.**

I.6.Description botanique du plant de la tomate..... **Erreur ! Signet non défini.**

I.7.Cycle biologique de la tomate..... **Erreur ! Signet non défini.**

I.9.Production nationale et mondiale de la tomate **Erreur ! Signet non défini.**

I.9.1- Production mondiale..... **Erreur ! Signet non défini.**

I.9.2- Production nationale **Erreur ! Signet non défini.**

I.10.Contraintes de la production de tomate..... **Erreur ! Signet non défini.**

I.10.1-Principales maladies de la tomate..... **Erreur ! Signet non défini.**

I.10.1.1-Maladies cryptogamiques **Erreur ! Signet non défini.**

I.10.1.2-Maladies bactériennes..... **Erreur ! Signet non défini.**

I.10.1.3-Maladies virales **Erreur ! Signet non défini.**

Chapitre-II- Description des espèces fongiques ; *B.cinerea* et *F.oxysporum*Erreur ! Signet non défini.

II.1-Généralités sur le *B. cinerea*..... **Erreur ! Signet non défini.**

II.1.1-Description de l'agent pathogène..... **Erreur ! Signet non défini.**

II. 1.3-Cycle infectieux de *B. cinerea* **Erreur ! Signet non défini.**

II. 1.4-Symptôme et dégâts **Erreur ! Signet non défini.**

II. 1.5-Gamme d'hôte de *B. cinerea* et cycle épidémiologique**Erreur ! Signet non défini.**

II. 1.6-La lutte contre *Botrytis cinerea* **Erreur ! Signet non défini.**

II.1.6.1- Lutte culturaux **Erreur ! Signet non défini.**

II.1.6.2- Lutte chimique..... **Erreur ! Signet non défini.**

II.1.6.3- Lutte biologique **Erreur ! Signet non défini.**

II.2-Généralités sur le *Fusarium oxysporum*..... **Erreur ! Signet non défini.**

II.2.1-Position systématique **Erreur ! Signet non défini.**

II.2.2-Biologie de *F. oxysporum* **Erreur ! Signet non défini.**

II.2.3-La pathologie **Erreur ! Signet non défini.**

II.2.3.1-La flétrissure fusarienne (*Fusariumwilt*)..... **Erreur ! Signet non défini.**

II.2.3.2-La pourriture racinaire (*Fusarium crown and rootrot*).. **Erreur ! Signet non défini.**

II.2.4-Les moyens de lutte..... **Erreur ! Signet non défini.**

II.2.4.1-La lutte culturale..... **Erreur ! Signet non défini.**

II.2.4.2-La lutte génétique **Erreur ! Signet non défini.**

II.2.4.3-La lutte biologique	Erreur ! Signet non défini.
II.2.4.4-La lutte physique	Erreur ! Signet non défini.
II.2.4.5-La lutte chimique.....	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre –III-Les huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
III.1-Généralités sur les huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
III.2-Composition chimique des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
III.3-Propriétés physico-chimiques	Erreur ! Signet non défini.
III.4-Activités biologiques des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
III.4.1-Activité antioxydante	Erreur ! Signet non défini.
III.4.2-Activité antibactérienne	Erreur ! Signet non défini.
III.4.3-Activité antifongique.....	Erreur ! Signet non défini.
III.4.4- Activité antivirale.....	Erreur ! Signet non défini.
III.4.5-Activité insecticides	Erreur ! Signet non défini.
III.5-Mode d'action des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
Partie expérimentale	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre-I.....	Erreur ! Signet non défini.
I.2-Milieu de culture utilisée	Erreur ! Signet non défini.
II.2-Préparation de l'inoculum	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre II-Résultats et discussion	Erreur ! Signet non défini.
I- Résultats	Erreur ! Signet non défini.
I.1- Action d'huile de cade sur la croissance mycélienne	Erreur ! Signet non défini.
I.1.a-Action d'huile de cade sur la croissance mycélienne de <i>Botrytis cinerea</i>	Erreur ! Signet non défini.
Signet non défini.	
I.1.b-Action d'huile de cade sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i>	Erreur ! Signet non défini.
I.2- Action d'huile de cade sur la sporulation	Erreur ! Signet non défini.
I.2.a-Action d'huile de cade sur la sporulation de <i>Botrytis cinerea</i> ..	Erreur ! Signet non défini.
défini.	
I.2.b-Action d'huile de cade sur la sporulation de <i>Fusarium oxysporum</i>	Erreur ! Signet non défini.
non défini.	
I.3- Action d'huile de cade sur la germination.....	Erreur ! Signet non défini.
I.3.a-Action d'huile de cade sur la germination de <i>Botrytis cinerea</i> ..	Erreur ! Signet non défini.
défini.	
I.3.b-Action d'huile de cade sur la germination de <i>Fusarium oxysporum</i>	Erreur ! Signet non défini.
non défini.	
1.4- Concentration minimale inhibitrice	Erreur ! Signet non défini.
Discussion	Erreur ! Signet non défini.
Conclusion.....	Erreur ! Signet non défini.
Références bibliographiques	Erreur ! Signet non défini.
ANNEXES.....	Erreur ! Signet non défini.

Liste des Figures

Fig. 1- Histoire hypothétique de la domestication de la tomate. Les fonds de carte proviennent du DEMIS -WorldMapp Server (In Nicolas, 2010).....	5
Fig.2 - Figure 1-8. Coupe longitudinale d'une fleur de tomate.....	5
Fig.3 - Différentes formes de tomates utilisées pour décrire une variété (descripteur..... IPGRI) (In Nicolas, 2010).....	6
Fig.4 - Productions des 13 premiers pays producteurs de tomate en Million de tonnes (FAO, 2010)..	7
Fig.5- Superficies et production de tomate de 1999 à 2009 en Algérie(FAOSTAT, 2010)	7
Fig.6 -Conidies observés en utilisant un microscope électronique à balayage.....	12
Fig.7 - Cycle de développement (production asexuée) de <i>Botrytis cinerea</i> sur différentes culture (d'après Agrios, 2005).....	14
Figure 8: Morphologie du <i>Fusarium oxysporum</i> (Leslie et Summerell, 2006) A – B: Macroconidies ; C – D: Microconidies ; E – F: Conidiophores et microconidies.....	19
Figure 9 : Cycle de vie de <i>Fusarium oxysporum</i> (Marion Triolet, 2014).....	19
Fig.10: Activité inhibitrice d'huile de cade sur la croissance mycélienne de <i>B.cinerea</i>	31
Fig.11 : Activité inhibitrice d'huile de cade sur la croissance mycélienne de <i>F.oxysporum</i> Erreur ! Signet non défini.	
Fig.12: Activité antifongique d'huile de cade sur la sporulation de <i>Botrytis cinerea</i>	31
Fig.13: Activité antifongique de d'huile de cade sur la sporulation de <i>F. oxysporum</i>	34
Fig.14: Activité antifongique d'huile de cade sur la germination de <i>Botrytis cinerea</i>	35
Fig.15: Activité antifongique de d'huile de cade sur la germination de <i>F.oxysporum</i>	36

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Les maladies cryptogamiques de la tomate (Snoussi, 2010)**Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 2 - Les maladies bactériennes de la tomate (Snoussi, 2010).**Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 3 - Les maladies virales de la tomate (Idrenmouche, 2011).**Erreur ! Signet non défini.**

Tableau.4: Taux d'inhibition d'huile essentielle de cade sur la sporulation de *B. cinerea*
..... **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau.5: Taux d'inhibition d'huile essentielle de cade sur la sporulation de *F. oxysporum*
..... **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau.6: Taux d'inhibition d'huile essentielle de cade sur la germination de *B.cinerea*
..... **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau.7: Taux d'inhibition d'huile essentielle de cade sur la germination de *F.oxysporum*
..... **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau.8 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'huile essentielle de cade sur les deux champignons étudiés **Erreur ! Signet non défini.**

Liste des abréviations

- ❖ % : pourcentage
- ❖ °C : degré celsius
- ❖ µm: micrometre
- ❖ Cm : centimètre
- ❖ FAO : Food and agriculture organization(Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)
- ❖ g : gram
- ❖ ha : hectare
- ❖ mg : milligramme
- ❖ ml : millilitre
- ❖ PDA : patato-dextrose-agar
- ❖ Qx : quintaux
- ❖ Stat : statistique
- ❖ CMI : concentration minimale inhibitrice
- ❖ MADR :Ministère de l'Agriculture , du Développement Rural

Introduction

Introduction

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) compte parmi les cultures légumières les plus cultivées du monde, elle occupe la deuxième place dans la production maraîchère après la pomme de terre (ShankaraNaika, 2005). La production globale de tomates est de 130 millions de tonnes en 2016. En Algérie, la culture de la tomate occupe une place célèbre dans l'économie agricole. La superficie consacrée annuellement à cette culture était de 33 000 ha soit une production moyenne de 11 millions de quintaux et des rendements moyens d'environ 311 Qx/ha (MADR, 2009).

Cette culture a connu depuis quelques années un problème phytosanitaire majeur liées à des changements dans l'environnement comme la température, la sécheresse, la salinisation et au développement des maladies, telles que celles causées par *Botrytis cinerea*, et *Fusarium oxysporum* conduisant non seulement à une diminution de rendement, mais aussi à d'importantes altérations qualitative du produit.

Les *F. oxysporum* et *B. cinerea* sont responsables de deux types de symptômes distincts : les flétrissements et les pourritures (Williamson et al., 2007). Les deux espèces ont d'ailleurs été classés parmi les champignons phytopathogènes, sur la base de son importance économique et de son intérêt scientifique. Ils provoquent des maladies qui entraînent des pertes économiquement importantes chez des plantes cultivées aux champs et en serres (Dean et al., 2012).

De nos jours la lutte chimique s'est révélée être une méthode de lutte performante et indispensable pour combattre les agents pathogènes (Leroux, 2003 ; Pezet et al., 2004). Ce sont essentiellement des pesticides de synthèse qui sont considérés comme l'arme la plus efficace, mais l'épandage massif et répété de certains de ces pesticides chimiques conduit à une pollution de notre environnement. Ainsi, des résidus sont retrouvés dans l'eau, dans les sols et dans les produits finis (Thakore, 2006). En effet, l'utilisation massive des pesticides a engendré l'apparition de souches pathogènes multi-résistantes, contre lesquelles les produits actuels sont devenus peu efficaces voire inefficaces.

Eu regard à ces inconvénients, il est important de trouver des solutions alternatives qui permettront de continuer à lutter contre maladies tout en diminuant l'emploi de produits chimiques. Néanmoins à l'heure actuelle où les pressions économique, écologique, sanitaire et législative sont de plus en plus fortes, on comprend l'intérêt d'exploiter d'autres moyens de lutte. Ces moyens sont donc basés sur la rationalisation des pratiques agricoles (fumigation-stérilisation en horticulture, désinfection des graines, rotation des cultures, contrôle du vecteur de la maladie...), par l'utilisation de variétés résistantes, des micro-organismes bénéfiques.

Une autre alternative à l'utilisation des pesticides consiste à utiliser des composés naturels et qui peuvent être essentiellement connues pour leur pouvoir antifongique ont une efficacité dans le traitement de quelques agents phytopathogènes (Regnault-Roger, 2012 ; Kassi et *al.*, 2014 ;Xue et *al.*, 2014).

L'objectif général de ce travail est d'étudier l'activité antifongique d'huile de cade sur la croissance *in vitro* de *Botrytis cinerea* et *fusariumoxysporum*.

En vue de rendre compte de la démarche scientifique adoptée, ce manuscrit comportera deux parties. Dans une première partie, une revue bibliographique sera présentée sur la plante hôte, les huiles essentielles et la description des deux champignons pathogènes utilisées dans ce travail. La deuxième partie du manuscrit présente la démarche expérimentale. Elle s'articule selon trois sections distinctes : dans un premier chapitre, le matériel et les méthodes utilisés, notamment les huiles essentielles ainsi que les deux champignons pathogènes. Les résultats obtenus, suivis de la discussion puis la conclusion et les perspectives feront l'objet de la deuxième et troisième partie, respectivement. Les références bibliographiques constitueront la dernière partie du manuscrit.

Chapitre -I

**Plante Hôte : la tomate (*Lycopersicon
esculentum* Miller)**

I.1.Introduction

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) est après la pomme de terre, le légume le plus consommé dans le monde, avec une production mondiale de 159 millions de tonnes en 2011 (FAOSTAT, 2013). Elle constitue une source non négligeable de minéraux, vitamines et certains composés naturels secondaires ayant un potentiel antioxydant important (Zidani, 2009).

I.2.Historique de la tomate

La tomate est originaire des Andes d'Amérique de Sud. Elle a été découverte en 1519 par Hermann Cortès dans le Golfe du Mexique (Harlan, 1987). La première évocation de la tomate en Europe est celle du botaniste italien Pietro Andreas Matthioli en 1544. Ce dernier la présente comme une espèce portant « des fruits aplatis et côtelés, qui de vert deviennent jaune d'or ». Une décennie plus tard, il indique qu'il existe des tomates jaunes et des tomates rouges. Dans le Vieux Monde, les premières représentations graphiques de la tomate sont celles de Rembertus Dodonaeus (Anvers, 1553), Georg Oelinger (Nuremberg, 1553) et Castore Durante (Blancard, 2009). De là, sa culture s'est propagée en Asie du Sud et de l'Est et en Moyen Orient. L'apparition de la tomate en Afrique du Nord a lieu au XVIII^{ème} siècle au Maroc d'abord puis en Algérie et en Tunisie. On suppose que l'origine de son introduction est due aux morisques chassés d'Espagne lors de la Reconquista. (Boumendjel et al., 2001).

En Algérie, ce sont les cultivateurs du Sud de l'Espagne (Tomateros), qui l'ont introduite étant donné les conditions qui lui sont propices. Sa consommation a commencé dans la région d'Oran en 1905 puis, elle s'étendit vers le centre, notamment au littoral Algérois (Latigui, 1984).

I.3.Classification botanique de la tomate

La tomate, *Lycopersicon esculentum* Miller, est une plante herbacée annuelle à port buissonnant. Elle appartient à la famille des Solanacées, incluant également l'aubergine, le poivron et la pomme de terre. Cette famille comprend 2300 espèces tropicales et subtropicales originaires de l'Amérique centrale et de l'Amérique du Sud (D'arcy, 1991 cité par Doganlar, 2002). Elle est classée selon des critères différents liés à l'aspect botanique, la composition génétique et le type de croissance (Gallais et Bannerot, 1992).

Tournefort est le premier à distinguer la tomate cultivée et à créer un nouveau genre pour classer cette espèce : le genre *Lycopersicum*, (Peralta And Spooner, 2007). Linné, en 1753, revoie la taxonomie de la tomate et l'intègre à nouveau dans le genre *Solanum* sous le nom spécifique de *Solanum lycopersicum*. Un an après, Miller reconsidère la classification

évoquée par Tournefort et réactualise le genre *Lycopersicon* dans la quatrième édition de *The Gardener's Dictionary*.

I.4. Diversité génétique

La domestication de la tomate s'est réalisée à partir d'accessions sauvages *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (*S. l. cerasiforme*), qui aurait évolué directement à partir des espèces sauvages auto-incompatibles RICK (1976) (**Figure 1**).

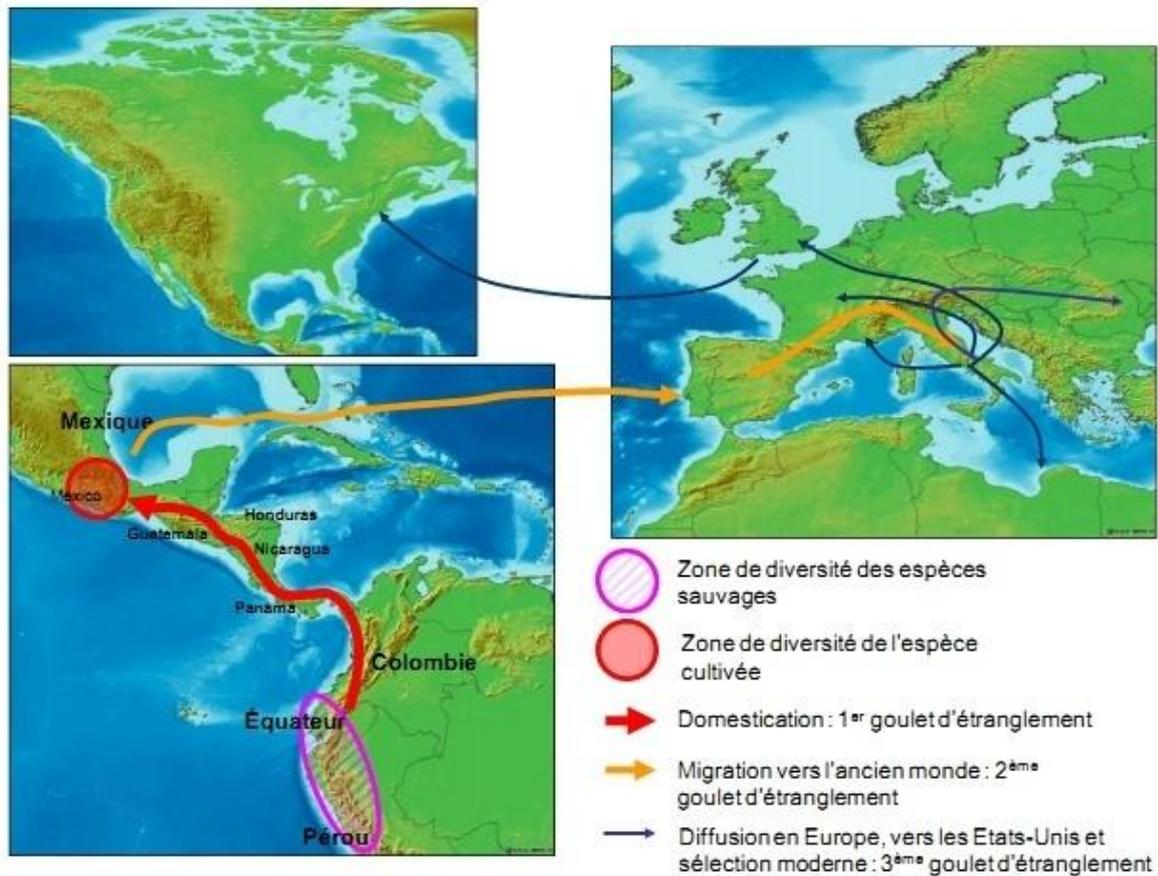


Fig. 1- Histoire hypothétique de la domestication de la tomate. Les fonds de carte proviennent du DEMIS -WorldMapp Server (In Nicolas, 2010).

L'auteur suggère même que l'espèce *S. pimpinellifolium* serait issue d'une branche parallèle lors de l'évolution de la tomate. Cependant, les travaux de phylogénie sur des caractères morphologiques et sur les marqueurs moléculaires montrent une affiliation directe entre *S. pimpinellifolium*, et *L. esculentum*. Aujourd'hui, l'espèce *L. cerasiforme* est considérée comme un type primitif de tomate cultivée ou comme une forme transitoire entre *L. cerasiforme* sauvage et *L. esculentum* cultivé. Il semblerait aussi que de nombreuses accessions soient d'origine férale (Rick And Holle, 1990; Peralta And Spooner, 2007).

I.6. Description botanique du plant de la tomate

La tomate est une plante annuelle buissonnante, poilue et aux tiges plutôt grimpantes. Elle est aromatique lorsqu'on la froisse. Cette plante potagère herbacée voit sa taille varier de 40 cm à plus 5 mètres selon les variétés et le mode de culture (Dumortier et *al.*, 2010). La racine de la tomate pivotante, pousse jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus. La racine principale produit une haute densité de racines latérales et adventices. La tige présente un port de croissance entre érigé et prostré, elle pousse jusqu'à une longueur de 2 à 4 m, elle est pleine, fortement poilue et glandulaire. Des feuilles sont disposées en spirale, 15 à 50 cm de long et 10 à 30 cm de large. Les folioles sont ovées à oblongues, couvertes de poils glandulaires. L'inflorescence est une cyme formée de 6 à 12 fleurs. Le pétiole mesure entre 3 et 6 cm. les fleurs sont bisexuées, régulières et entre 1,5 et 2 cm de diamètre, elles poussent opposées aux - ou entre les feuilles. Le tube du calice est court et velu, les sépales sont persistants, jaunes et courbées lorsqu'elles sont mûres. Il y a 6 étamines et les anthères ont une couleur jaune vif et entourent le style qui a une extrémité stérile allongée. L'ovaire est supère avec entre 2 et 9 carpelles. En général la plante est autogame, mais la fécondation croisée peut avoir lieu (fig. 02).

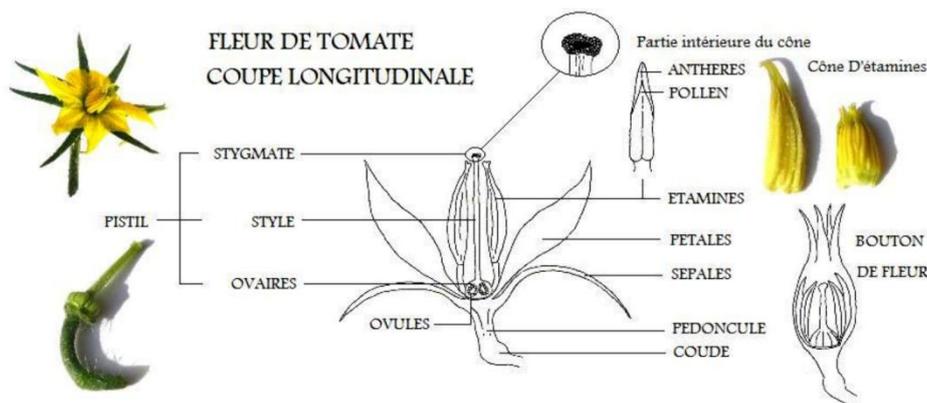


Fig.2- Coupe longitudinale d'une fleur de tomate

Le fruit est une baie charnue, de forme globulaire ou aplatie avec un diamètre de 2 à 15 cm. Lorsqu'il n'est pas encore mûr, le fruit est vert et poilu. La couleur des fruits mûrs varie du jaune au rouge en passant par l'orange (Fig. 03). En général les fruits sont ronds et réguliers ou côtelés. Les graines sont nombreuses, en forme de rein ou de poire. Elles sont poilues, beiges, 3 à 5 mm de long et 2 à 4 mm de large. L'embryon est enroulé dans l'albumen. 1000 graines pèsent approximativement 2,5 à 3,5 g (Naika et *al.*, 2005)

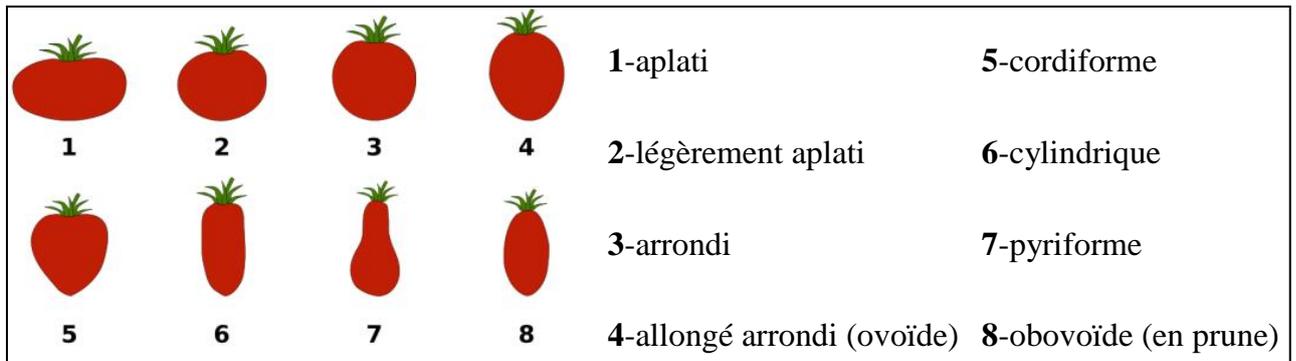


Fig.3 - Différentes formes de tomates utilisées pour décrire une variété (descripteur IPGRI) (In Nicolas, 2010).

I.7.Cycle biologique de la tomate

D'après Gallais et Bannerot (1992), Le cycle végétatif complet de la graine à la graine de tomate varie selon les variétés, et les conditions de culture; il s'étend généralement en moyenne de 3,5 à 4 mois du semis, jusqu'à la dernière récolte (7 à 8 semaines de la graine à la fleur et 7 à 9 semaines de la fleur au fruit).

Le cycle de développement d'un plant de tomate peut être décrit par trois grandes phases biologiques :

1. la « phase végétative » qui correspond à la production phénologique exclusive d'organes végétatifs (feuilles et tiges) et comprise entre la levée et l'apparition de la première inflorescence
2. la « phase reproductive » qui correspond à la période de production des fleurs et des fruits et qui démarre à la floraison pour s'achever en fin de culture
3. la « phase de maturation » des fruits qui démarre sept à dix jours avant la récolte des premiers fruits et se termine à la récolte (Dumas, 1992 in Huat, 2008).

I.9.Production nationale et mondiale de la tomate

I.9.1- Production mondiale

Selon la FAO stat (2010) (figure 04), la Chine se trouve au premier rang avec une production qui dépasse les 34 millions de tonnes en 2009 avec une superficie d'environ 1,5 millions d'hectares soit l'équivalent d'un rendement de 22,67 t/ha

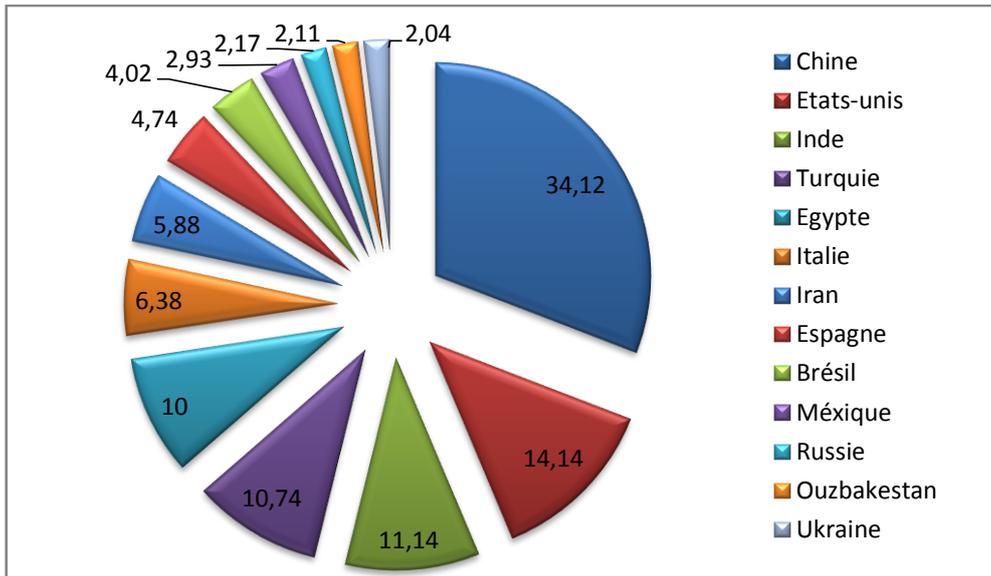


Fig.4 - Productions des 13 premiers pays producteurs de tomate en Million de tonnes (FAO, 2010).

I.9.2- Production nationale

En Algérie, la superficie cultivée en tomate en 1999 était de 55 210 ha et la production de 954 804 tonnes soit un rendement de 17,29 t/ha. (Fig05).En 2009,près de 33 000 ha sont consacrés annuellement à la culture de tomate (maraîchère et industrielle), donnant une production moyenne de 11 millions de quintaux et des rendements moyens d'environ 311 Qx/ha (Madr, 2009).

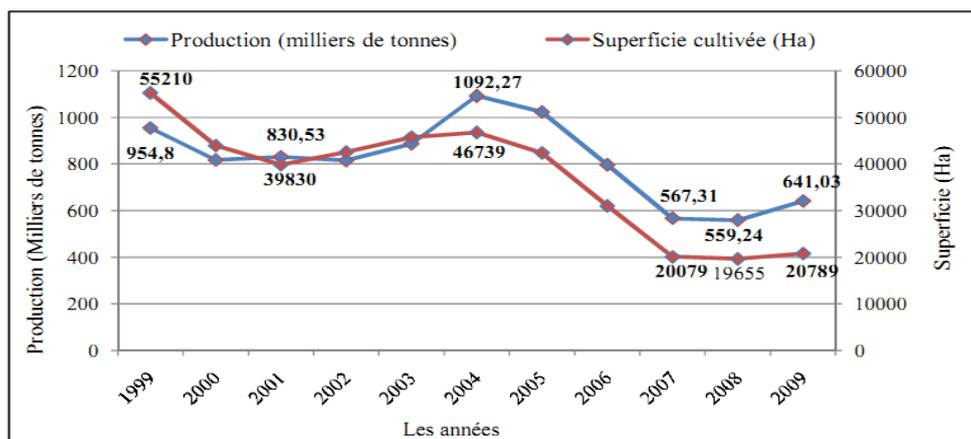


Fig.5- Superficies et production de tomate de 1999 à 2009 en Algérie(FAOSTAT, 2010).

I.10.Contraintes de la production de tomate

En Algérie, comme dans la plupart des pays méditerranéen, la culture de la tomate est soumise à plusieurs contraintes biotiques et abiotiques. Ces contraintes sont liés à des changements de l’environnement, notamment les mauvaises conditions de température, l’humidité de l’air ou du sol, les déséquilibres de la nutrition, la carence ou l’excès de substances minérales, l’acidité ou l’alcalinité du sol, un mauvais drainage et au développement des maladies.

I.10.1-Principales maladies de la tomate

Comme toutes les plantes, la tomate est soumise à l'attaque de nombreux agents pathogènes qui sont responsables de diverses maladies. Elle peut ainsi être attaquée par des virus (CMV, TMV, TSWV ...) (tableau 03), des mycoplasmes (transmis par des insectes vecteurs comme la cicadelle), des bactéries (*Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas. Spp*, *Clavibactermichiganensis*...) (tableau 02), des champignons (*Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, *fusariumoxysporum*...). (Tableau 1).

I.10.1.1-Maladies cryptogamiques

La tomate est sujette à de nombreuses maladies cryptogamiques conduisant non seulement à une diminution du rendement, mais aussi à d'importantes altérations de la qualité de fruits (Tableau01). Certains agents phytopathogènes sont responsables d'importantes pertes de récoltes en causant diverses maladies dont : 1) pourriture des semences (*Fusariumspp.*, *Pythium*spp., etc.), 2) fonte des semis (*Pythium*spp., *Sclerotiniaspp.*, etc.), 3) pourriture racinaire (*Fusarium*spp., *Phytophthora spp.*, *Rhizoctoniaspp.*, etc.) et 4) flétrissement des plantes (*Fusarium*spp., *Verticillium*spp., etc.) (Agrios, 1988).

Tableau 1 : Les maladies cryptogamiques de la tomate (Snoussi, 2010)

Maladies	Agents causals	Symptôme et dégâts
Mildiou	- <i>Phytophthora infestans</i>	Grandes taches brunes sur les feuilles et les tiges.
Alternariose	<i>Alternariasolani</i>	Tâches noires de taille variables sur les feuilles.
Fusariose	- <i>fusariumoxysporumf.splycopersici</i> . - <i>fusariumoxysporumf.spradicislycopersici</i>	Flétrissement des feuilles avec brunissement des vaisseaux et pourriture des racines.
Verticilliose	- <i>Verticilliumalbo-atrum</i> -- <i>Verticilliumdahliae</i>	Flétrissement des feuilles accompagné d'un jaunissement. Unilatéral suivi de dessèchement des feuilles de la base.
Anthraxnose	- <i>Collectotrichumcoccodes</i>	Tâches circulaires de 05 à 10 mm sur les fruits rouges.
Oïdium	- <i>Oidiumneolycopersici</i>	Feutrage blanc sur feuilles
Pourriture grise	- <i>Botrytis cinerea</i>	Feutrage gris sur les feuilles et sur les fruits.

I.10.1.2-Maladies bactériennes

Dans les régions humides, nombreuses maladies s'attaquent la tomate. Parmi celles-ci, la moucheture bactérienne, le flétrissement bactérien, la gale bactérienne et le chancre bactérien, causent de sérieux problèmes aux cultures de tomates en champs. Ces maladies bactériennes peuvent affecter gravement le rendement des tomates et, par conséquent, entraîner des pertes importantes pour le producteur.

Tableau 2 - Les maladies bactériennes de la tomate (Snoussi, 2010).

Maladies	Agents causals	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. (Blancard, 2009).
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. (Blancard, 2009).
Chancre bactérien	<i>Clavibactermichiganensis</i> subsp. <i>Michiganensis</i>	Petites tâches chancreuses sur les folioles de couleur blanc marron. Jaunissement de la moelle en bordure des vaisseaux sur les tiges. Présence de petites tâches blanches, brunes au centre sur les fruits.(Blancard, 2009).
Le flétrissement bactérien	<i>Ralstoniasolanacearum</i>	flétrissement irréversible sur la partie aérien de la plante qui survient après blocage, par la bactérie de la circulation de l'eau dans la plante.

I.10.1.3-Maladies virales

Les maladies d'origine virale se traduisent chez les plantes malades des symptômes externes multiples et variés : altération des fleurs ou des feuillages, dérèglement de croissance. La tomate est toujours exposée à l'attaque d'une grande variété de virus. Les symptômes se manifestent le plus souvent par des altérations de la pigmentation (panachures) mais aussi par des nécroses et des déformations Tableau 3.

Tableau 3 - Les maladies virales de la tomate (Idrenmouche, 2011).

Maladies	Symptômes 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	une jaunisse généralisée et un retard du développement de la plante. Apparition de nécroses ce qui entraine de grandes pertes de rendement.
TMV : Tobacco Mosaic Virus	Virus de la mosaïque du tabac Ce dernier est caractérisé par 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 Chlorosis Virus	virus de la jaunisse de la tomate. 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.

**Chapitre-II- Description des espèces
fongiques ; *B.cinerea* et *F.oxysporum***

II.1-Généralités sur le *B. cinerea*

À la frontière du saprophytisme et du parasitisme, *Botrytis cinerea* Pers., [forme imparfaite du *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel.] est le champignon Ascomycète responsable de la pourriture grise (moisissure grise, pourriture de la grappe) chez des centaines de plantes hôtes au niveau mondial.

La maladie causée par cet agent pathogène engendre des pertes économiques importantes dans plusieurs types de culture (Veloukaset *al.*, 2011) , ce qui engendre des pertes pouvant atteindre 20% des récoltes mondiales (Elad et *al.*, 2004). Sur cultures maraîchères, viticoles et horticoles, en pré- ou en post-récolte, cette maladie conduit à des pertes importantes de rendement (Fernandez-Ortuno *et al.*, 2012). Il s'attaque aux fruits (ex. raisin, fraise) et aux légumes (ex. tomate, laitue) de diverses productions végétales, mais aussi aux plantes ornementales (ex. tournesol, rose) (Kim et Xiao, 2011 ; Leroux *et al.*, 2002 ; Veloukaset *al.*, 2011 ; Yin *et al.*, 2011). En plus d'être considéré comme un champignon nécrotrophe, *B. cinerea* se caractérise principalement par son cosmopolitisme, sa polyphagie, sa variabilité génétique et sa capacité de s'adapter facilement à son environnement (De MiccolisAngelini *et al.*, 2010 ; Kretschmer et Hahn, 2008 ; Martinez *et al.*, 2005).

II.1.1-Description de l'agent pathogène

Sur milieu PDA, ce champignon se présente sous forme de colonies blanches qui prennent ensuite une teinte grise. Les conidies sont ovoïdes ou rondes, hyalines et d'une taille comprise entre 11 et 15 µm. Elles sont produites dans des bouquets à l'extrémité de conidiophores ramifiés. Ce champignon peut produire également des sclérotés à contours irréguliers et noirs (1-5 mm de diamètre). La sporulation est provoquée par l'exposition à la lumière (Rosenberger, 1990). *Botrytis cinerea* peut se présenter ou survivre sous différentes formes telles que le sclérote, le mycélium, les macroconidies, les microconidies et les ascospores.

➤ Le mycélium

Il est aussi une structure qui peut survivre dans les tissus morts de son hôte et est constitué d'hyphes septés. Le mycélium se présente sous forme d'une toile blanchâtre et grisâtre ou olivâtre comprenant des filaments articulés, cylindriques vésiculeux au niveau de la cloison médiane, dont le diamètre varie en fonction des conditions de développement des hyphes. (Ajouz, 2009). Quand ce mycélium devient fructifère (au bout d'un certain temps d'incubation (>7j) sur milieu nutritif, il développe des touffes de conidiophores dressés grisâtres (gris brunâtre ou gris cendré) et présentant des ramifications à leur sommet.

➤ Le sclérote

Il se développe dans les tissus morts de son hôte et est considéré comme la principale structure de survie du champignon durant l'hiver (Williamson *et al.*, 2007). Il est formé par une masse mycélienne dense plutôt arrondie (1-5 mm de diamètre), entouré d'un cortex rigide contenant des pigments de mélanine. Ces caractéristiques le protègent de la dessiccation, des rayons ultra-violet et des attaques de microorganismes sur de longues périodes (Williamson *et al.*, 2007).

➤ Les macroconidies

Les macroconidies sont ovoïdes contrairement aux microconidies (encore appelées spermaties) qui, elles, se présentent sous forme sphérique et de plus petite taille (2 à 4µm). Le fait que les macroconidies possèdent la caractéristique d'être hétérocaryotiques est très avantageux. Cette caractéristique confère au champignon *B. cinerea* une plus grande variabilité génétique et donc, la possibilité de s'adapter plus rapidement aux conditions du milieu, par exemple aux fongicides (Williamson *et al.*, 2007 ; Leroux, 2004).

➤ Les microconidies (spermaties)

Ce sont des gamètes mâles uninucléés jouant un rôle dans la reproduction sexuée du champignon.

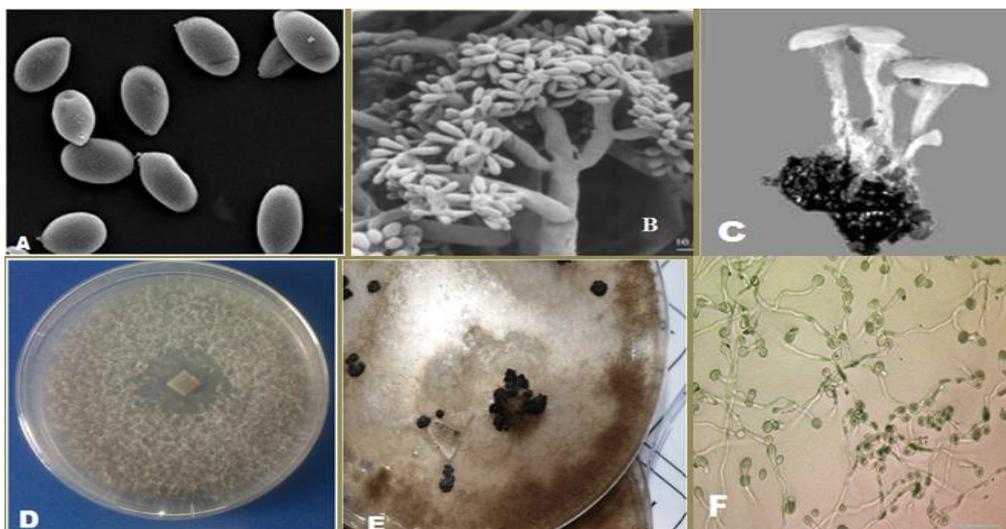


Fig.6 -Conidies observés en utilisant un microscope électronique à balayage

(A). Conidiphores observés en utilisant un microscope électronique (B). Apothécie produisant des ascospores sur un sclérote (C). *Botrytis cinerea* sur milieu de culture PDA à 25°C (D). Sclérote de *Botrytis cinerea* produit sur boîte de pétri après un mois de culture sur un milieu PDA à 21°C (E). Observation de la germination des conidies sur milieu riche PDA au microscope optique (F).

Les ascospores

Au nombre de huit par asque, elles sont oblongues à elliptiques. Un asque contient huit ascospores binuclées qui germeront pour produire un mycélium (Williamson *et al.*, 2007). Les asques sont produits sur des apothécies, fructifications d'ascomycètes assurant la reproduction sexuée (Ajouz, 2009).

II.1.2-Nomenclature et systématique

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 (téléomorphe), *Botryotiniafuckeliana* (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 *Botryotiniafuckeliana* appelé au départ *Pezizafuckeliana*, organisme sexué.

Botrytis cinerease classe comme suit :

- Règne** : Fungi
- Division** : Ascomycota
- Classe** : Leotiomycetes
- Ordre** : Helotiales
- Famille** : *Sclerotiniaceae*
- Genre** : *Botrytis*
- Espèce** : *Botrytis cinerea* (Hakim Alilou, 2012).

II. 1.3-Cycle infectieux de *B. cinerea*

Botrytis cinerease possède un cycle infectieux sexué et asexué. Il peut produire soit des spores asexuées (macroconidies) ou sexuées (microconidies), soit du mycélium ou des sclérotés (Ajouz, 2009). Durant l'hiver, *B. cinerease* conserve principalement sous forme de sclérotés dans les débris morts de l'hôte, la plupart du temps les feuilles tombées au sol. Les sclérotés, dans des conditions particulières, développent des apothécies qui donnent des ascospores. Ces apothécies sont rarement observables mais constituent aussi une forme de dissémination du champignon. Les sclérotés germent et produisent un mycélium qui, grâce à ses appressoria, perforera la cuticule végétale. Il y aura par la suite, développement des conidiophores portant des macroconidies (spores asexuées) qui serviront d'inoculum primaire (Figure10). Les macroconidies libérées seront principalement propagées à l'aide du vent et de la pluie, ce qui sera considéré d'inoculum secondaire. Le mycélium

de *B. cinerea* peut aussi se conserver dans les débris de l'hôte durant l'hiver pour par la suite produire des conidies et servir d'inoculum primaire (Williamson *et al.*, 2007). Pour plusieurs fruits et légumes (ex. courgette, fraise, pomme), l'infection commence généralement sur les fleurs sénescentes puis se propage sur les fruits adjacents en développement (Williamson *et al.*, 2007). L'infection par *B. cinerea* peut aussi être favorisée par des blessures sur les fruits ou les feuilles (Elmer et Michailides, 2004). De plus, *B. cinerea* peut, selon les conditions environnementales, effectuer plusieurs cycles de reproduction asexuée au cours d'une saison.

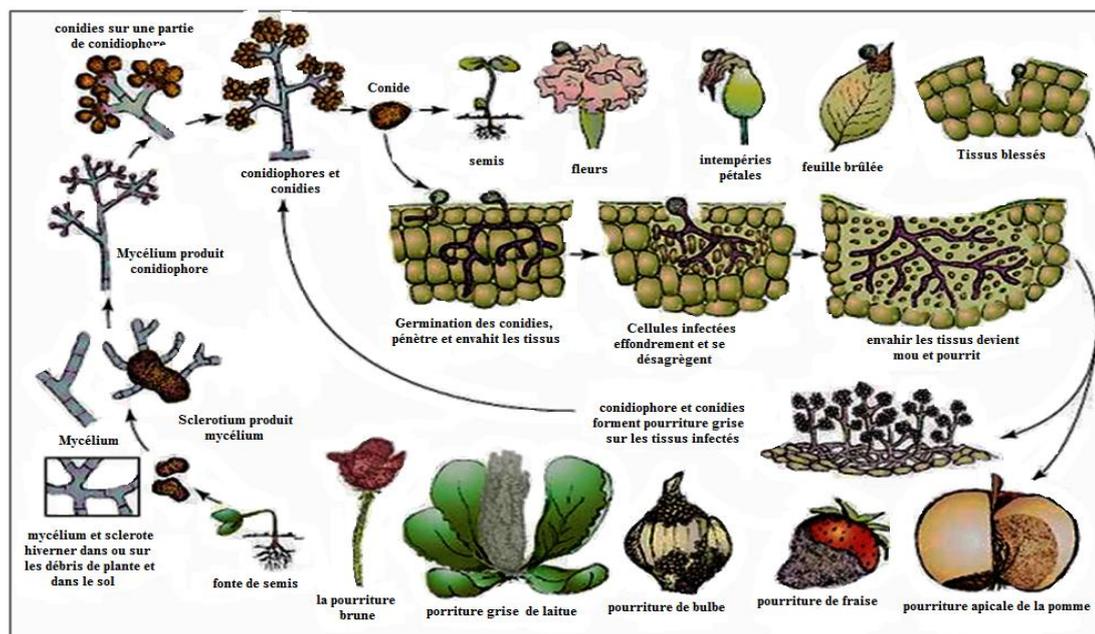


Fig.7 - Cycle de développement (production asexuée) de *Botrytis cinerea* sur différentes cultures (d'après Agrios, 2005).

II. 1.4-Symptôme et dégâts

Au niveau des blessures contaminées, *B. cinerea* a une évolution d'autant plus rapide que les fruits sont plus mûrs. Si l'atmosphère du local de conservation est très humide, un mycélium blanc et dense peut apparaître en surface et contaminer les fruits sains adjacents provoquant la formation de 'nids' de pourriture dans les caisses (Bondoux, 1992). Les symptômes qui sont les plus typiques pour les feuilles et les petits fruits sont l'apparition de taches brunes, suivies par l'apparition de feutrage grisâtre, qui sont en fait les conidies (Williamson *et al.*, 2007).

II. 1.5-Gamme d'hôte de *B. cinerea* et cycle épidémiologique

B. cinerea est un champignon pathogène ubiquiste et polyphage, capable d'infecter plus de 200 espèces de plantes dicotylédones et monocotylédones, causant des pertes économiques importantes sur les cultures avant et après récolte (Rosslénbroich et Stuebler, 2000 ; Gudelj et al., 2004 ; Hubert et al., 2005). Il affecte de nombreuses productions végétales d'importance économique en culture sous serre ou en plein champ, comme par exemple: le raisin, la pomme, la poire, la cerise, la fraise et le kiwi en production fruitière, l'aubergine, la carotte, la laitue, le concombre, le poivron, la tomate, la courgette en production légumière ou des plantes ornementales comme la rose, le gerbera ou le cyclamen.

II. 1.6-La lutte contre *Botrytis cinerea*

II. 1.6.1- Lutte culturaux

Choix du site et type de plantation

Le site et la méthode de plantation doivent faire en sorte d'assurer un séchage rapide du feuillage et des fleurs afin de limiter le développement du champignon. Ainsi, il faut choisir un site où l'air circule facilement, avec une bonne exposition au soleil, sur un sol qui se draine bien.

Irrigation

Les conditions environnementales, en particulier l'humidité relative, joue un rôle clef pour l'infection de la plante par *B. cinerea* et le développement de la maladie. L'idée générale encore une fois est d'éviter que le feuillage reste humide longtemps. L'irrigation goutte-à-goutte permet de réduire les risques de maladie en gardant le feuillage sec.

Rotation

Une façon simple d'éviter les problèmes de pourriture grise est de faire une rotation courte, c'est-à-dire de ne faire la récolte qu'une année.

Variétés résistantes

Pour l'ensemble des cultures attaquées par le champignon, il n'existe aucune variété commerciale résistante à la pourriture grise (Dik and Wubben, 2004). Cependant, il existe une différence importante dans la sensibilité à la pourriture grise pour certaines plantes.

II. 1.6.2- Lutte chimique

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 anti-Botrytis utilisés ont une action directe sur le champignon. Les substances actives comme le folpel, le thirame, le fluazinam et le dichlofluanide inhibent la respiration mitochondriale. En altérant la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ou ADN), l'iprodione, le procymidone, le vinchlozoline et le fludioxonil entraînent une instabilité mitotique qui conduit à une perturbation de la croissance des hyphes mycéliens. Le carbendazime, le bénomyl et le thiophanate de méthyle sont également capables d'inhiber la synthèse d'ADN et perturbent la réplication et la formation de microtubules. La biosynthèse des stérols est affectée chez le champignon soumis au fenhexamide, quand celle de la méthionine est perturbée suite à l'application du pyriméthanil, du cyprodinil et du mépanipyrin (Elad et *al.*, 1992 ; Rosslenbroich et Stuebler, 2000).

II. 1.6.3- Lutte biologique

La lutte biologique a pour principe d'utiliser des micro-organismes antagonistes, champignons filamenteux, levures et bactéries, 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 *T. harzianum* et *T. viride* ont été formulés afin d'être commercialisés en tant qu'anti-Botrytis.

II.2-Généralités sur le *Fusarium oxysporum*

Le genre *Fusarium* a été découvert par Link en 1809. Les champignons du genre *Fusarium* regroupent un grand nombre d'espèces peuvent aussi être responsables des maladies connues sous le terme de fusarioses telles que les flétrissements vasculaires et les pourritures des racines et/ou du collet (Gordon, 1965). Le genre *Fusarium* est économiquement très important et doit être considéré comme un faisceau d'espèces très diversifiées du point de vue morphologique, chacune de ces espèces est représentée dans la nature par une majorité de souches saprophytes ou de parasites regroupant des formes plus ou moins spécialisées et douées d'une véritable virulence. Il regroupe de nombreuses espèces

phytopathogènes susceptibles d'attaquer un grand nombre de plantes (Fravel et al., 2003). Certaines espèces ont un nombre restreint d'hôtes tels que *F. graminearum* (Goswami et Kistler 2004) et d'autres tels que *F. oxysporum* et *F. moniliforme* en attaquent plusieurs (Bezuidenhout et al. 1988; Hsieh et al., 1977; Nelson et al., 1981).

Fusarium oxysporum (Schlecht). Snyder et Hansen (Snyder et Hansen, 1940) est l'espèce la plus répandue. Elle comporte des formes phytopathogènes les plus fréquentes et les plus importantes de la microflore fongique des sols cultivés (Baayen et al., 2000). *F. oxysporum* est un complexe d'espèces ubiquistes comprenant de nombreuses formes spéciales (f.sp.) responsables de diverses maladies, la principale étant le flétrissement vasculaire caractérisé par un flétrissement des plantes dû à l'envahissement des vaisseaux du xylème par le pathogène (Dean et al., 2012).

II.2.1-Position systématique

La forme asexuée, *Fusarium oxysporum*, appartient aux Deutéromycètes, « champignons dits imparfaits », à la classe des Hyphomycètes, thalle filamenteux septé et la production de conidies hyalines généralement unicellulaires sur des conidiophores libres, ordre: Tuberculariales, présence de sporodochies, famille: Tuberculariaceae : seule famille de l'ordre (Blancard, 1998; Botton et al., 1985). La multiplication asexuée fait intervenir des conidies de formes et d'organisations très variées (Bouchet et al., 2000).

Cependant, il existe quelques souches de *Fusarium* qui possèdent une forme parfaite (téléomorphe). Ces formes appartiennent à la division des Ascomycètes, classe: Sordariomycètes présence d'un ascocarpe avec couche fertile, ordre: Hypocreales l' ascocarpe est un périthèce, famille: Nectriacées et aux genres *Gibberella*, *Nectria* et *Plectosphaerella* (Rakotonirainy, 2014).

En outre, il est important de savoir que 120 formes spéciales et races ont été ainsi identifiées, basées sur leur spécificité d'hôtes (O'Donnell et al., 2015), parmi lesquelles les formes spéciales *albedinis*, *lycopersici* et *ciceris* qui sont responsables, respectivement, de la fusariose vasculaire du palmier dattier, de la tomate et du pois chiche (Benzohra et al., 2015; El Komy et al., 2015; Jiménez-Díaz et al., 2015).

La production de métabolites secondaires et notamment de toxines (mycotoxines et phytotoxines) est courante chez les *Fusarium*, et le profil de ces composés peut être utilisé pour la classification des espèces (Thrane, 2001).

II.2.2-Biologie de *F. oxysporum*

Les *F. oxysporum* ont une origine tellurique, ce qui explique leur forte présence au niveau du sol, d'où près de 40-70% de la population fusarienne tellurique totale sont des *F. oxysporum* (Smith, 1965). Ces derniers, mènent une vie en saprophyte en absence de la plante hôte (Blancard, 1997). Il s'agit en effet de parasites des climats tempérés, présentant une croissance optimale à des températures comprises entre 25°C et 30°C (Blancard, 1997). Ces champignons se trouvent le plus souvent dans le sol, sous forme de spores résistantes (Chlamydospores) (Alabouvette *et al.*, 1993) qui en contact de l'hôte, s'adhèrent au niveau des racines de la plante et germent à l'extérieur, une partie du mycélium pénètre à l'intérieur des racines et se ramifie au niveau des cellules épidermiques. Ce pathogène a la capacité de franchir les barrières rigides de la plante hôte grâce aux enzymes hydrolytiques qu'il possède (Beckman et Roberts, 1995), ou par l'intermédiaire de blessures naturelles ou accidentelles.). Le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème (tissu conducteur) entraînant une coloration brune de la plante.

Lorsque le champignon se développe, il produit trois types de spores asexuées qui assurent sa dissémination. Les microconidies sont uni- ou bicellulaires, de petite taille (8-10 µm), ovoïdes et non septées, sont produites abondamment et regroupées en «fausse-tête» sur des phialides portées par le mycélium (Agrios, 2005; Nelson *et al.*, 1983). Les macroconidies sont plus grosses (jusqu'à 45 µm), en forme de fuseau et multiseptées, en bouquets sur des phialides terminales portées par des conidiophores (Agrios, 2005 ; Burgess, 1981). Les chlamydospores sont des spores rondes d'une ou deux cellules, entourées d'une paroi épaisse plus ou moins pigmentée. Elles sont observées au milieu des hyphes ou en position terminale, souvent en forme de paires, quelques fois en triplets et rarement en forme rassemblée (Agrios, 2005; Nelson *et al.*, 1983). Ces caractéristiques permettent l'identification de *F. oxysporum* au microscope (Leslie et Summerell, 2006).

Les chlamydospores restent dormantes et immobiles jusqu'à la stimulation de la germination par des substrats organiques ou exsudats racinaires. Suite à la germination, il y a formation d'un mycélium. Si les conditions sont favorables, le thalle produit des conidies (Beckman et Roberts, 1995; Agrios, 2005). La pénétration directe dans les cellules épidermiques serait possible. Ce champignon produit de nombreuses micro- et macroconidies, voire des chlamydospores sur et dans les tissus colonisés. Sa dissémination peut avoir lieu par les courants d'air et le matériel agricole, ainsi que par les éclaboussures d'eau.

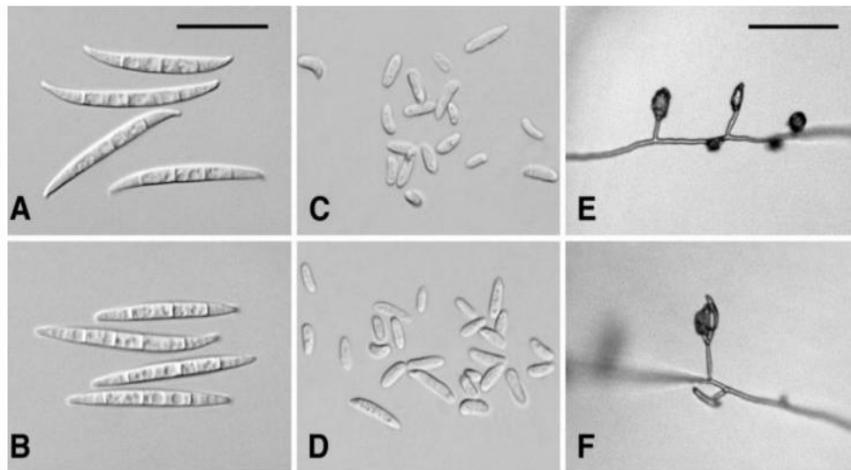


Figure 8: Morphologie du *Fusariumoxysporum* (Leslie et Summerell, 2006) A – B: Macroconidies ; C – D: Microconidies ; E – F: Conidiophores et microconidies

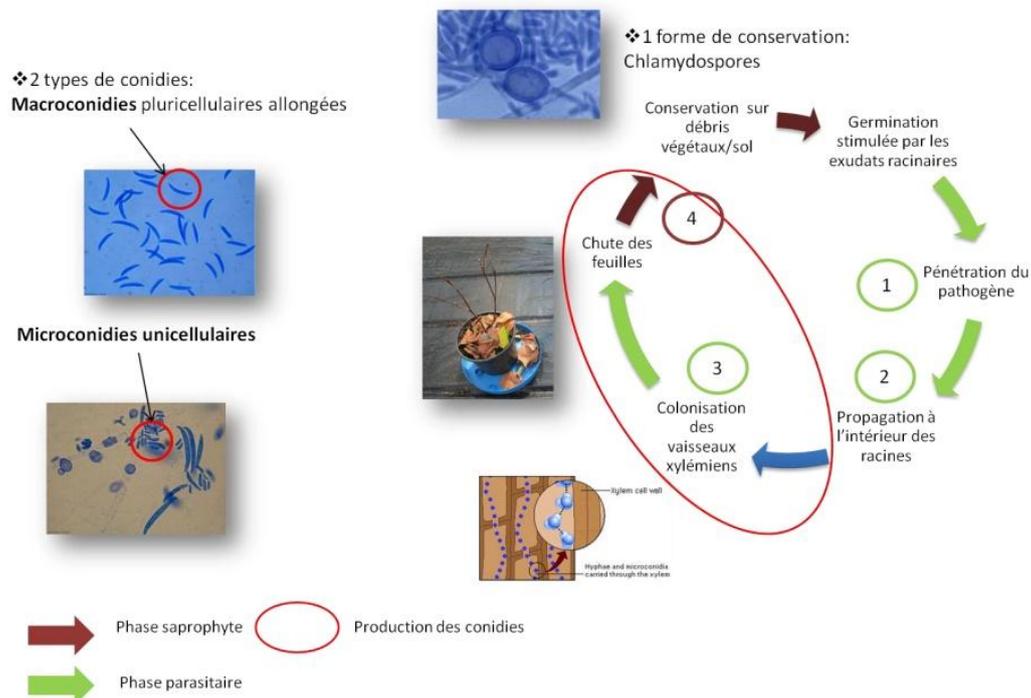


Figure 9 : Cycle de vie de *Fusariumoxysporum* (Marion Triolet, 2014).

II.2.3-Lapathologie

Deux maladies fusariennes différentes sont à l'origine de pertes considérables dans la culture de la tomate à travers le monde, il s'agit de la fusariose vasculaire (*Fusariumwilt*) causée par *Fusariumoxysporumf.sp.lycopersici(Fol)* SnyderetHansen. etlapourrituredesracinesetdu collet (*Fusariumcrown and root rot*) causée par *Fusariumoxysporum f. sp. radidis-lycopersici(Forl)* Jarvis et Shoemaker (Katanet al., 1997).

II.2.3.1-La flétrissure fusarienne (*Fusarium wilt*)

L'une des maladies les plus dévastatrices de la culture de la tomate à travers le monde fut décrite pour la première fois en Europe à la fin du XIXe siècle. Ses dégâts fluctuent en fonction de la race et de la variété cultivée (Blancard, 1997). Il s'agit d'une maladie de climat chaud causée par *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* (Fol) (Walker, 1971). Ces derniers possèdent trois races physiologiques qui sont à l'origine de la résistance à la fusariose vasculaire dans certaines zones de production (Mc Grath *et al.*, 1987).

Ce champignon indigène du sol, pénètre dans la plante via les racines pour envahir par la suite les tissus, provoquant le jaunissement, la flétrissure puis la mort de la plante (Blancard, 1997). Les feuilles asséchées gardent leur chlorophylle et apparaissent avec un aspect gris verdâtre (Laterrot *et al.*, 1978). Il s'ensuit un jaunissement de base en haut des feuilles, puis une nécrose d'une partie ou de la totalité du limbe avec des éclaircissements au niveau des nervures (Messiaen, 1981). Les tissus des vaisseaux conducteurs apparaissent d'une couleur brune suite d'une coupe longitudinale au niveau de la tige d'une plante atteinte, au moment où, des tissus bruns foncés contenant souvent des fragments mycéliens apparaissent lors d'une coupe transversale.

II.2.3.2-La pourriture racinaire (*Fusarium crown and rootrot*)

L'une des principales maladies responsables des pertes économiquement importantes de la culture de tomate partout dans le monde est causée par *Fusarium oxysporum f.sp. radicum- lycopersici* (Forl) (Jarvis et Shoemaker, 1978). Ce champignon provoque, dans un premier temps, de nombreuses lésions brun rougeâtres humides, évoluant rapidement en pourriture suivit d'un développement d'un chancre brun sur seul côté de la tige et du collet en forme d'une flamme. Suit à ces altérations, des symptômes de flétrissements et de jaunissement apparaissent à la périphérie du limbe des vieilles feuilles, suivit de la nécrose des pétioles et de la chute des feuilles. Certaines plantes affectées précocement voient leur croissance réduite (Blancard, 1997). Lors d'une coupe longitudinale au niveau du cylindre central des grosses racines, des brunissements assez marqués apparaissent en s'étendant jusqu'à la tige sur plusieurs dizaines de centimètres au-dessus du collet (Blancard, 1997).

II.2.4-Les moyens de lutte

Le contrôle de la fusariose est difficile à cause de leur pouvoir saprophyte, leur aptitude à coloniser les plantes non hôtes et de survivre à des conditions défavorables, ainsi sa capacité de persister de longues périodes dans le sol en absence de la plante (Benhamou *et al.*, 1997).

II.2.4.1-La lutte culturale

Elle consiste à éviter les conditions qui favorisent la maladie, comme la destruction des débris de récolte des plantes fusariées, la jachère de longue durée, la rotation culturale avec des cultures non- hôtes, peuvent agir sur la densité de l'inoculum présent dans le sol (Edel et al., 1995 ; Scott et al., 2012). De plus, il est connu que des formes spéciales comme melonis, ciceris et lentis peuvent coloniser d'autres plantes sans provoquer de symptômes apparents, ce qui rend impossible l'éradication de la maladie par la pratique des cultures en rotation (Belabid, 2003).

II.2.4.2-La lutte génétique

Comme de nombreuses maladies parasitaires, la méthode la plus efficace pour le contrôle des maladies provoquées par *Fusarium* est l'introduction de gènes de résistance au niveau des plantes qui deviennent plantes trans-génétiques (Fravel et al., 2003). Chez la tomate, le melon, le haricot et le pois chiche des gènes dominants de résistance ont été identifiés (Huang et Lindhout, 1997; Hawkins et al., 2001; Schneider et al., 2001; Halila et al., 2008; Diener et Ausubel, 2005). Cependant, l'efficacité de variétés résistantes dans le contrôle d'une maladie peut être inefficace par le temps, d'où l'apparition de nouvelles races pathogènes par des mutations ou des parasexualités aléatoires et spontanées (1979 ; Beckman, 1987; Cai et al., 2003).

II.2.4.3-La lutte biologique

Les méthodes du contrôle biologique des fusarioses ont acquis un intérêt particulier. Parmi les microorganismes expérimentés avec succès, à l'égard des maladies d'origine tellurique, les *Pseudomonas spp. fluorescents* qui ont été décrites pour empêcher le développement de la maladie du *Fusarium* root rot chez la tomate (Dekkers et al., 2000 ; Bolwerk et al., 2003), d'où ils entrent en en compétition pour les nutriments et la colonisation racinaire avec des souches de *F. oxysporum* pathogènes (Alabouvette et al., 2006). La présence de la souche non pathogène de *F. oxysporum* 47 (Fo47) dans le sol était capable de protéger plusieurs espèces végétales comme le lin, melon et tomate contre ses respectives formes spéciales de *F.oxysporum*: lini, melonis et lycopersici (Aimé et al., 2008).

Des espèces de *Trichoderma* ont démontrés leurs efficacités dans le contrôle des maladies de la pourriture racinaires de nombreuses plantes cultivées (Vermaet al.,2007). Aussi, *T. harzianum* a été décrit comme capable de contrôler les pathologies induites par *F. oxysporum* sur le bananier (Thangavelu et al., 2004). En outre, il s'agit d'une souche de *Trichoderma asperellum* est utilisée en culture ornementale sous serre, cet agent de biocontrôle est utilisé pour lutter contre *F. oxysporum* responsable de la « flétrissure fusarienne » chez les plantes ornementales, et

notamment pour les œillets. Ce dernier agit en parasitant le champignon pathogène, en entrant en compétition nutritive et spatiale et en stimulant les réactions naturelles de défense chez la plante (Grégoire, 2013). L'espèce *Pythiumoligandrum* est considérée comme non pathogène et a été utilisé comme agent de biocontrôle sur différentes cultures telles que la tomate, la vigne, le blé (Gerboire et al., 2013, Darles, 2013).

II.2.4.4-La luttephysique

Consiste à stériliser le sol avant toute transplantation par la chaleur, la solarisation ou le traitement des racines avec de l'eau chaude entre 48 et 49°C pendant 30 secondes (Anchisiet al., 1985), mais généralement, ni la solarisation ne sont pas des solutions efficaces à long terme (Corbaz, 1990).

II.2.4.5-La luttechimique

Des molécules chimiques comme l'azoxystrobine ou le bromure de méthyle, sont ou ont été utilisées comme fongicide ou pour désinfecter le substrat respectivement (Gullino et al., 2002; Elmer et Daughtrey, 2012). L'apport d'azoxystrobine au rempotage a permis de limiter le pourcentage de plantes mortes à 36 % contre 89 % sans aucun traitement (Gullino et al., 2002). Le bénomyl a permis de limiter les pertes à 54 % de plantes contre 80 à 90 % sans traitement. Cependant, les résultats obtenus avec les molécules chimiques ne sont pas suffisants et ne permettent pas une action curative (Elmer et McGovern, 2004). Les substances actives les plus utilisées sont le thiophanate-méthyl, l'azoxystrobine et le fludioxonil.

Si la lutte chimique, par ces molécules, a donné des résultats encourageants dans la lutte contre ce pathogène (Marios, Mitchell, 1981), l'utilisation répétée des produits de synthèse entraîne souvent la pollution de l'environnement, l'apparition de souches résistantes et augmente la quantité des résidus sur les fruits (Ozbay, Newman, 2004).

Chapitre –III- Les huiles essentielles

III.1-Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mixtures de composés, volatils, naturels et caractérisés par une odeur forte. Elles sont synthétisées par les plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires (Bakkali et *al.*, 2008), isolés par hydro distillation ou par expression mécanique des végétaux entiers ou en partie; feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (Burt, 2004; Kalemba, 2003). Les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des presses (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.). Elles sont liquides, rarement colorées et solubles dans les solvants organiques avec une densité généralement plus faible que celle de l'eau. Elles peuvent être connues par leurs effets antiseptique, bactéricide, virocyde, antifongique et leur fragrance. Jusqu'à aujourd'hui, ces caractéristiques n'ont pas beaucoup changé sauf qu'elles sont maintenant davantage connues, en particulier au niveau antimicrobien (Bauer et *al.*, 2001). En raison de leurs actions bactéricides, fongicides, leurs propriétés pharmaceutiques et alimentaires, elles sont de plus en plus requises comme alternatives aux produits chimiques de synthèse pour protéger l'équilibre écologique.

III.2-Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être classées en plusieurs familles biochimiques (alcools, phénols, composés terpéniques...). Leurs constituants peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse: les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes (Buchanan et *al.*, 2000).

Les composés terpéniques sont formés d'unités isopréniques (en C5) et comprennent les monoterpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20) et les triterpènes (C30). Les terpénoïdes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal, comprenant au moins 30 000 composés sont connus comme métabolites secondaires (Connolly et Hill, 2005). Les Terpènes forment structurellement et fonctionnellement différentes classes selon :

- Leurs fonctions: alcools (géraniol, linalol), esters (acétate de linalyle), aldéhydes (citral, citronellal), cétones (menthone, camphre, thuyone), éthers-oxydes (cinéole).
- Leur structure: linéaire (farnésène, farnésol), monocyclique (humulène, zingiberène), bicyclique (cadinène, caryophyllène, chamazulène) ou tricyclique (cubébol, patchoulol, viridiflorol) (Breitmaier, 2006).

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane ont une biogenèse différente de celle des terpènes. On peut citer l'acide et l'aldéhyde cinnamique (HE de cannelle), l'eugénol (HE de girofle), le carvacrol (HE d'origan), l'anéthol et l'aldéhyde anisique (HE de badiane, d'anis et de fenouil) qui sont les principaux membres de cette famille.

III.3-Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles forment un groupe très homogène (Bernard et *al.*, 1988 ; Bruneton, 1993). Les principales caractéristiques sont :

- Liquides à température ambiante.
- Volatiles et très rarement colorées.
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.
- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air.

III.4-Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent un large spectre d'activités biologiques incluant les activités antimicrobienne (Hanana et *al.*, 2014; Hamrouni et *al.*, 2014; Parveen et *al.*, 2014), anticancéreuse (Millet, 2014), anti-inflammatoire (Kim et *al.*, 2014), insecticide (Vera et *al.*, 2014) analgésique (Hajjaj et *al.*, 2014), sédatif, antispasmodique, anesthésiant local (Bakkali et *al.*, 2008), antiasthmatique (Shirole et *al.*, 2014) et on leur reconnaît également des propriétés cytotoxique (Gazim et *al.*, 2014).

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants (Lahlou, 2004).

Les antioxydants sont soupçonnés d'être directement antimutagènes (Clark, 2002) et anticancéreux en raison de leurs propriétés anti radicalaires.

III.4.1-Activité antioxydante

Les huiles essentielles sont aussi des antioxydants tels que les terpènes et les composants phénoliques (Arab et *al.*, 2014). Les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène... etc (Madhavi et *al.*, 1996). Des études ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (Caillet et Lacroix, 2007).

III.4.2-Activité antibactérienne

L'effet antimicrobien des HE est connu depuis longtemps. La composition de ces HE et, en particulier, la nature de leurs composés majoritaires sont responsables de cette activité antimicrobienne (Simeon De Buochberg et *al.*, 1976).

plusieurs auteurs ont montré que les HE ont un spectre d'action assez large puisqu'elles agissent aussi bien sur les bactéries, les levures, les moisissures que sur les virus (Tantaoui-Elaraki et *al.*, 1993a; Remmal 1994; Siddiqui et *al.*, 1996). Des travaux plus récents ont confirmé l'effet antimicrobien *in vitro* des HE sur les bactéries à Gram+ et à Gram- et les levures (Hili et *al.*, 1997; Cox et *al.*, 2001; Delaquis et *al.*, 2002; Rhayour et *al.*, 2003). En effet, d'après Hulin et *al* (1998) et Ultee et *al* (1999), le carvacrol semble être un puissant inhibiteur de croissance de bactéries telles que *Baccillus cereus* et *Salmonella*.

III.4.3-Activité antifongique

Les huiles essentielles pourraient également être employées comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (Lis- Balchin, 2002). Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc... Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (Voukou et *al.*, 1988). L'activité antifongique décroît selon le type de fonction chimique : Phénols>Alcools>Aldéhydes>Cétones>Ethers>Hydrocarbures

III.4.4- Activité antivirale

Sydney et *al.* (2014) ont également suggéré que l'HE d'*Ocimum basilicum* (basilic) ainsi que différentes molécules retrouvées dans les HE (camphre, thymol et 1,8-cinéole) pouvaient avoir une activité antivirale à l'encontre du virus de la diarrhée bovine. Astani et *al.* (2011) ont quant à eux étudié et suggéré une action antivirale potentielle de l'HE d'anis étoilé contre l'herpès virus simplex de type 1 (HSV-1) ainsi que celle de l'eugénol, du trans-anéthol, du β -caryophyllène et d'autres molécules retrouvées dans la composition des HE.

III.4.5-Activité insecticides

Certaines huiles essentielles sont insectifuges ou insecticides comme celles possédant des fonctions aldéhydes comme le citronnellal contenu dans l'Eucalyptus citronné ou la citronnelle.

III.5-Mode d'action des huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles dépend du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997). Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP (Knobloch et *al.*, 1989; Sikkema et *al.*, 1995). Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (Wendakoon et Sakaguchi, 1995). Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides (Zani et *al.*, 1991). Certains HE provoquent une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K⁺) en niveau de cellule: ce mécanisme a été observé avec l'huile de *Melaleuca alternifolia* sur les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram à négatif (*Escherichia coli*) et levure (*Candida albicans*) in vitro (Cox et *al.*, 2000; Carson et *al.*, 2002). Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaires comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires grâce à leurs groupements fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (Dorman, 2000).

Partie expérimentale

Chapitre-I

Matériels et méthodes

I-Matériels

I.1-Souches fongiques

Les deux champignons utilisés dans ce travail sont des espèces fongiques responsables des pourritures grise et flétrissement, ils ont été choisis pour les dégâts considérables qu'ils causent aux culture sous serre de la tomate. Ces deux espèces fongiques appartiennent à la collection de la mycothèque du Laboratoire de recherche protection des végétaux de l'université de Mostaganem. Elles sont régulièrement entretenues par repiquage sur le milieu PDA (Potato Dextrose Agar).

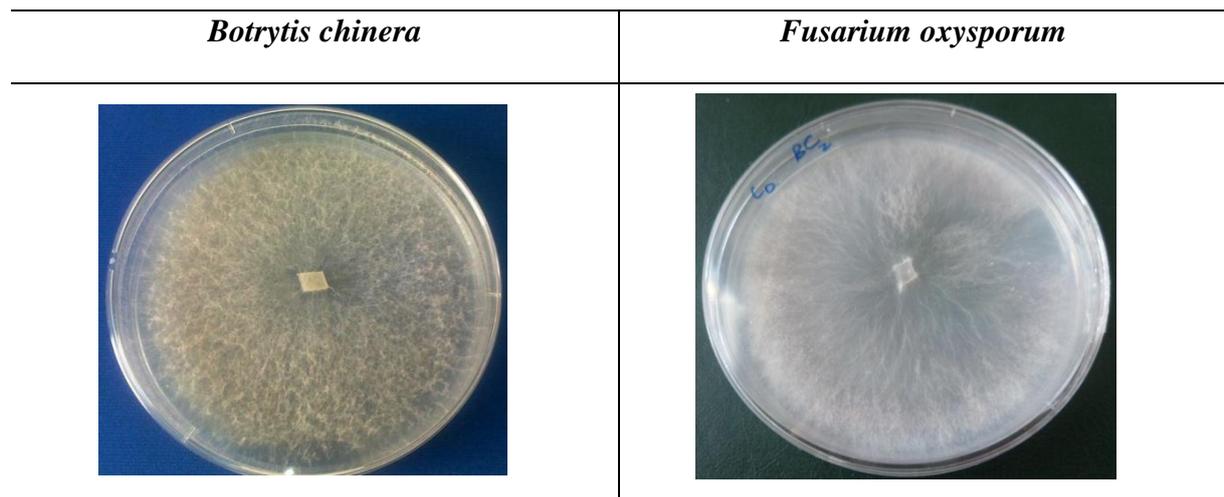


Figure : les Souches fongiques

I.2-Milieu de culture utilisée

Au cours de notre expérimentation on a utilisé le milieu PDA.

Le choix d'un milieu de culture est basé sur son adéquation pour un bon développement du pathogène. La composition du milieu « PDA » (Potato Dextrose Agar) est la suivante :

- Pomme de terre.....200g
- Glucose.....20g
- Agar agar.....20g
- Eau distillé.....1000 ml

I.3 Matériel végétal et huile essentielle

Nom vernaculaire	Famille	Espèce	Molécule
Genévrier	Cupressacées	<i>Juniperus Oxycedrus</i>	Sesquiterpènes; Delta-cadinène

II-Méthodes

II.1-Détermination de la concentration minimale inhibitrice

A l'issue de cette étude préliminaire, toutes concentrations ayant présentées un pourcentage d'inhibition > 50% sur une souche fongique sont sélectionnées pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de dilution en milieu liquide (Alcamo, 1984; Rotimi et *al.*, 1988).

Pour faciliter la miscibilité des huiles essentielles dans le milieu liquide, nous avons utilisé le Tween 80 à raison de 90% d'huile essentielle pour 10 % de tween 80 (Oussou et *al.*, 2008). Le tween a servi de dispersant des huiles dans l'eau. Il est à la fois miscible à l'huile et à l'eau. La solution obtenue est agitée au vortex pendant 3 min de sorte à avoir une bonne homogénéisation. L'huile a été ensuite dissoute dans des tubes stériles contenant de l'eau distillée, de manière à générer une dilution de raison 2. Des dilutions sont préparées pour avoir des concentrations finales de 25% ; 12.5%, 6% et 3%

II.2-Préparation de l'inoculum

L'isolat *B. cinerea* est cultivé sur le milieu PDA quinze jours à l'obscurité et à 25°C afin de favoriser la croissance mycélienne. La surface chargée de spores est alors raclée stérilement à l'aide d'une spatule métallique, le mycélium et les spores sont mises en suspension dans l'eau distillée stérile, puis agités pendant 5min. La suspension est filtrée pour séparer les spores des fragments mycéliens.

II.3-Méthodologie de test antifongique

II.3.1- Action d'huile de cade sur la croissance mycélienne

Méthode de contact direct

Dans les boites de Pétri, 200µl de chaque concentration des huiles préalablement préparée sont distribués distinctement sur des boites gélosées puis homogénéisés dans tous les

sens de sorte à couvrir toute la surface de la boîte gélosée. Un disque mycélien de 4 mm de diamètre, prélevés à partir de la zone de croissance active d'une culture d'une semaine, est placé au centre d'une boîte de pétri. L'incubation se fait à l'obscurité pendant 4 j à 25 °C. Chaque essai est répété trois fois. La croissance de filaments sur chaque boîte est relevée et il est procédé, à une mesure des diamètres de différentes colonies de champignons filamenteux pour calculer le taux d'inhibition (I%) (Kordali et *al.*, 2003). Pour cette méthode, la technique consiste à mesurer les diamètres de champignon après le temps d'incubation requis puis résoudre l'équation :

$$I'(\%) = 100 \times (dC - dE) / dC$$

I' (%) = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

dC = Diamètre de colonies dans les boîtes « témoins positifs »

dE = Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

II.3.2- Action d'huile de cade sur la sporulation

L'activité antisporelante des huiles essentielles a été étudiée sur des colonies fongiques âgées de 15 incubées à 25 °C. Des plaques de culture 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 pour éliminer les débris de mycélium. Le comptage du nombre total de spores a été effectué à l'aide d'une cellule de Malassez, à raison de trois comptages par doses et par huile. Les moyennes de ces mesures ont par la suite été calculées. Les valeurs ont été exprimées en nombre de spores par ml.

II.3.3- Action d'huile de cade sur le pouvoir germinatif des spores

L'activité antigermineuse d'huile de cade a été étudiée en milieu liquide. Dans les tubes de 50ml contenant chaque une d'elle, 20ml de la suspension de 10^5 spores/ml. Des concentrations d'huile de cade ont été introduites dans chaque tube et elles sont incubées à 25°C. Après 24 heures, le comptage des spores germées a été effectué sur un total de 100 spores à l'aide d'une cellule de Malassez, à raison de trois comptages par doses. La spore était considérée comme germée si la longueur du tube germinatif était apparue. Les boîtes témoins ont été préparées dans les mêmes conditions mais sans ajout d'huile. L'évaluation de l'inhibition de la germination PIg se fait selon la formule :

Le pourcentage d'inhibition de la germination: **PIg (%) = (1-Nc / N₀)×100**

N₀ : Nombre des spores germées dans le témoin

Nc : Nombre des spores germées sur le milieu de culture en présence de l'huile essentielle.

II.4- Analyses Statistiques.

L'ensemble des résultats recueillis ont été saisis et analysés au moyen du logiciel STATBOX 6.0.4, Grimmersot en utilisant l'analyse de la variance ANOVA

Chapitre II-Résultats et discussion

I- Résultats

I.1- Action d'huile de cade sur la croissance mycélienne

I.1.a- Action d'huile de cade sur la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*

L'activité antifongique d'huile de cade a été évaluée *in vitro* vis-à-vis de *Botrytis cinerea* ; elle est exprimée par le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (PIc %).

Les résultats indiqués dans la **figure11** montrent un pouvoir inhibiteur significatif ($P \leq 0,01$) sur la croissance mycélienne remarquable par les quatre concentrations testées.

Il semble que le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration. Pour les concentrations 3 à 12% les taux d'inhibition sont inférieurs à 50% (**Figure 14**). Les valeurs des taux d'inhibition de la croissance mycélienne sont de l'ordre 56.6, 48.03, 43.34 et 41.29% respectivement pour les concentrations 25, 12, 6 et 3%.

La CMI est définie comme étant la concentration minimale de l'extrait qui inhibe à plus de 50 % la croissance fongique. Elle a été déterminée, par la technique de macrodilution en milieu liquide, pour d'huile de cade, il semble d'après ces résultats que cet huile présente une CMI plus élevé (25%).

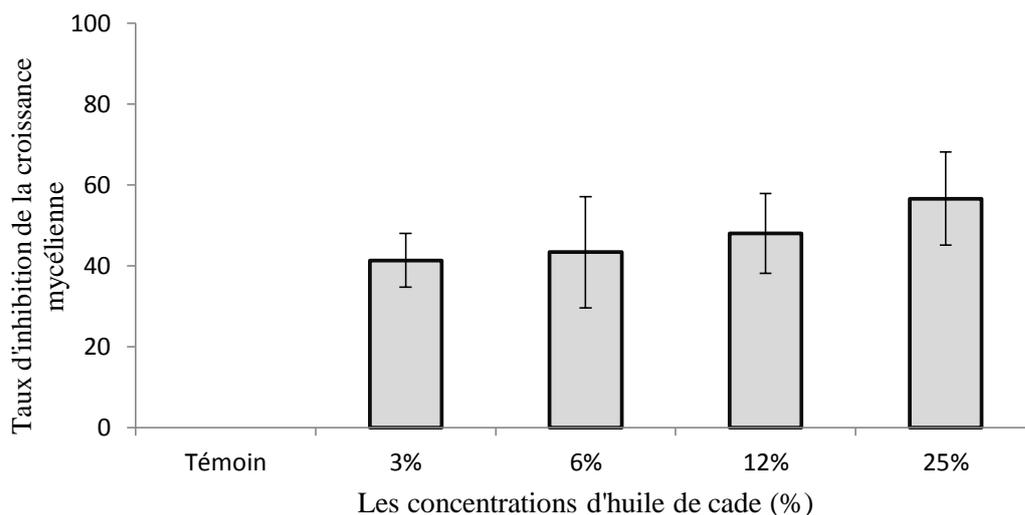


Fig.10: Activité inhibitrice d'huile de cade sur la croissance mycélienne de *B.cinerea*

I.1.b- Action d'huile de cade sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum*

Le résultat de la figure 11, montre qu'au bout de 4 jours de traitement, toutes les concentrations de l'huile testée montrent des effets non comparables à celle de témoin non traité. Pour toutes les valeurs de taux d'inhibition obtenues, une différence statistiquement significative a été enregistrée entre les quatre concentrations testées.

Pour l'huile essentielle d'huile de cade, les taux d'inhibition supérieurs à 50% ont été révélés dans les boîtes de Pétri contenant des concentrations de l'huile essentielle de : 12 et 25%.

Une inhibition de la croissance mycélienne de 63.95, 49.37, 23.66 et 17.91 % respectivement pour les concentrations 25, 12, 6 et 3%. Toutefois, il est à signaler que l'huile essentielle d'huile de cade affiche une CMI de 12% vis-à-vis de *Fusarium oxysporum*. Il semble que le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration.

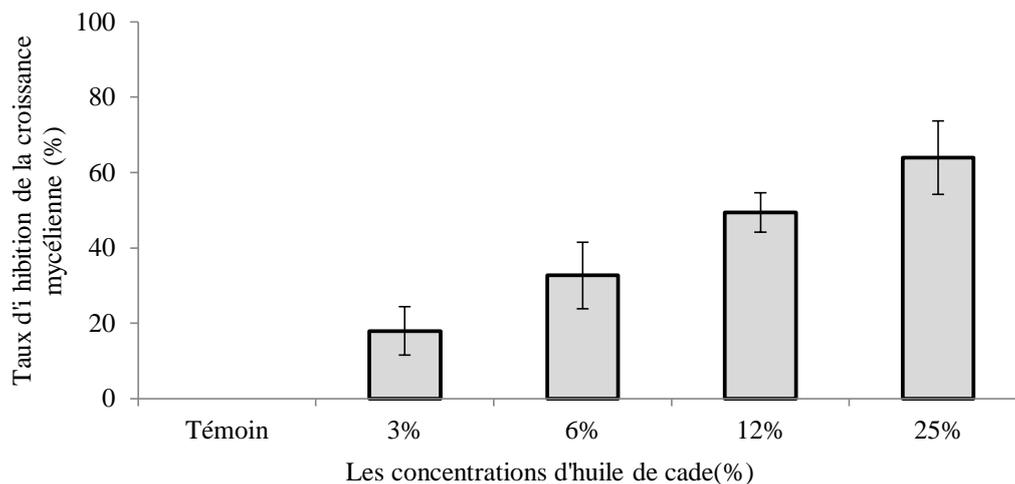


Fig.11 : Activité inhibitrice d'huile de cade sur la croissance mycélienne de *F.oxysporum*

I.2- Action d'huile de cade sur la sporulation

I.2.a- Action d'huile de cade sur la sporulation de *Botrytis cinerea*

Les résultats de l'inhibition de la sporulation par d'huile essentielle de cade sont représentés dans la figure 12 et le tableau 4. Comparés aux témoins, ils sont exprimés par le

pourcentage d'inhibition de la sporulation (PIs %). La sporulation sur PDA a été significativement ($P < 0.05$) inhibée par d'huile de cade.

Les valeurs des taux d'inhibition de la sporulation (PIs%) sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type. La sporulation sur PDA a été significativement ($P < 0.05$) inhibée par les quatre concentrations testées selon test ANOVA.

Des données plus précises sur les propriétés antifongiques d'huile essentielle de cade ont été obtenues en déterminant la concentration inhibitrice minimale (CMI).

L'action des concentrations 25, 12, 6 et 3% d'huile de cade testées a permis d'avoir des taux d'inhibition allant respectivement de 67.26, 19.22, 11.39 et 6.04%. La CMI la plus faible a été obtenue par la concentration de 25%. On remarque que l'inhibition de la sporulation du *Botrytis cinerea* accroît avec l'augmentation de la concentration (Tableau 4).

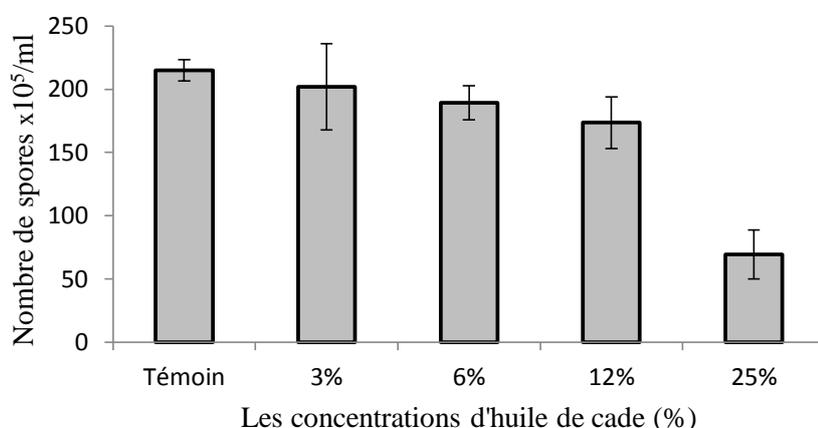


Fig.12: Activité antifongique d'huile de cade sur la sporulation de *Botrytis cinerea*

Tableau.4: Taux d'inhibition d'huile essentielle de cade sur la sporulation de *B. cinerea*

	Les concentrations d'HE			
	25%	12%	6%	3%
Taux d'inhibition	67.26 %	19.22 %	11.39 %	6.04 %

I.2.b- Action d'huile de cade sur la sporulation de *Fusarium oxysporum*

Les résultats de l'inhibition de la sporulation par d'huile essentielle de cade sont représentés dans la figure 13 et le tableau5.

L'action des concentrations 25, 12, 6 et 3% d'huile de cade testées a permis d'avoir des taux d'inhibition allant respectivement de 54.52, 50.25, 11.74 et 8.37%. La CMI la plus faible a été obtenue par la concentration de 12%. Les huiles de cade ont montré des pourcentages d'inhibitions différents et très significatifs ($P < 0.01$) de la sporulation.

D'après ces résultats, il semble que l'huile essentielle de cade a une activité antifongique mais elle est moins efficace. A la lecture des résultats obtenus on remarque que *F.oxysporum* a paru moins sensible à l'huile essentielle : deux concentrations ont donné des taux d'inhibition supérieurs à 50%. Une réduction dans la concentration de l'huile essentielle entraîne une diminution dans le pouvoir inhibiteur de la sporulation.

Dans tous les cas, l'inhibition de la sporulation est liée à une inhibition de la croissance mycélienne, notamment avec les concentrations élevées en huile essentielle.

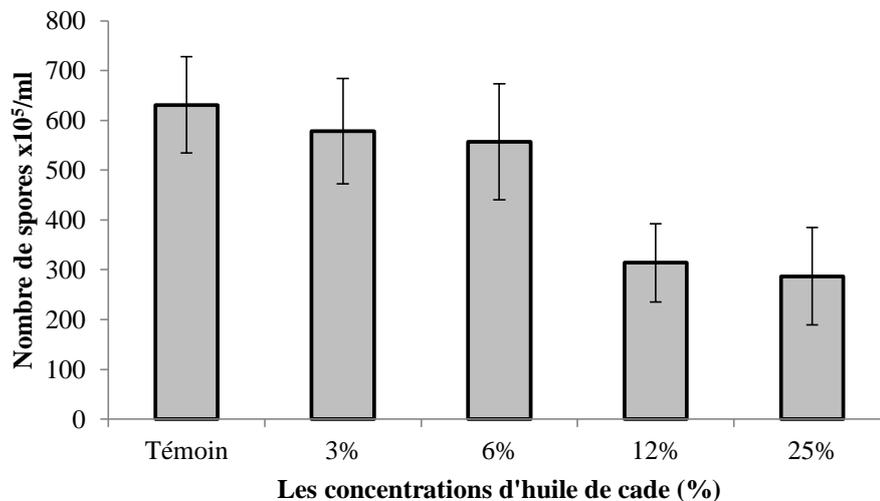


Fig.13: Activité antifongique de l'huile de cade sur la sporulation de *F. oxysporum*

Tableau.5: Taux d'inhibition d'huile essentielle de cade sur la sporulation de *F. oxysporum*

	Les concentrations d'HE			
	25%	12%	6%	3%
Taux d'inhibition	54.52%	50.25%	11.74%	8.37%

I.3- Action d'huile de cade sur la germination

I.3.a- Action d'huile de cade sur la germination de *Botrytis cinerea*

La germination des spores débute par la formation d'un tube germinatif après vingt-quatre heures pour les deux champignons pathogènes étudiés sur les milieux témoins sans huile essentielle ainsi que sur les milieux aux concentrations de 3 à 25%.

Les résultats préliminaires ont montré que l'huile essentielle de cade a une activité, significative sur tous les concentrations testés.

L'analyse des résultats (Tableaux 6, Figure 14) relatifs à la germination des spores chez *Botrytis cinerea* soumis à l'action d'huile de cade à différentes concentrations nous permet de constater que l'huile de cade exerce une action antigerminative plus forte par rapport aux autres paramètres (Croissance mycélienne et sporulation). En effet, l'huile essentielle de cade empêche la germination de *Botrytis cinerea* à partir d'une faibles concentration (3 %).

L'action des concentrations 25, 12, 6 et 3% d'huile de cade testées a permis d'avoir des taux d'inhibition allant respectivement de 77.58, 65.95, 50.43 et 28.44%. La CMI la plus faible a été obtenue par la concentration de 6%.

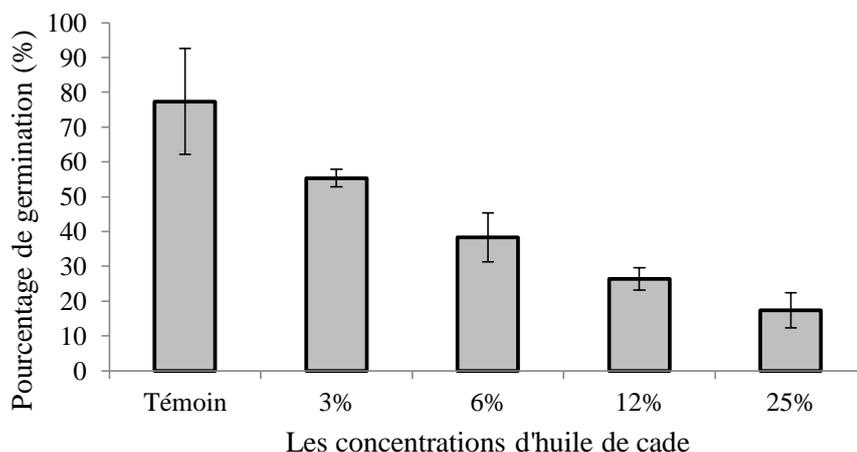


Fig.14: Activité antifongique d'huile de cade sur la germination de *Botrytis cinerea*

Tableau.6: Taux d'inhibition d'huile essentielle de cade sur la germination de *B.cinerea*

	Les concentrations d'HE			
	25%	12%	6%	3%
Taux d'inhibition	77.58%	65.95%	50.43%	28.44%

I.3.b- Action d'huile de cade sur la germination de *Fusarium oxysporum*

Les résultats de l'activité antifongique d'huiles essentielle de cade sont résumés dans le tableau 7 et figure 15. L'analyse statistique a révélé une différence significative entre les quatre concentrations testées ($p < 0.05$)

Le tableau montre également que l'huile essentielle de cade exercé une activité inhibitrice vis-à-vis la germination des spores de *F.oxysporum*.

L'action des concentrations 25, 12, 6 et 3% d'huile de cade testées a permis d'avoir des taux d'inhibition allant respectivement de 48.06, 31.02, 24.81 et 14.74%.

Par contre, à la plus forte concentration 25% (Tableau7), le plus faible CMI est obtenu sur *F.oxysporum*. Cela se traduit par une inhibition de la germination des spores aux lots témoins (43%).

On remarque que cet isolat s'est montré un peu plus résistant au huile essentielle testées par rapport *B.cinerea*, la germination de la spore a été inhibée à partir de la concentration minimale de 25%. Nos résultats suggèrent que l'activité antigermative d'huile essentielle de cade, peut être liée à leur composé majoritaire.

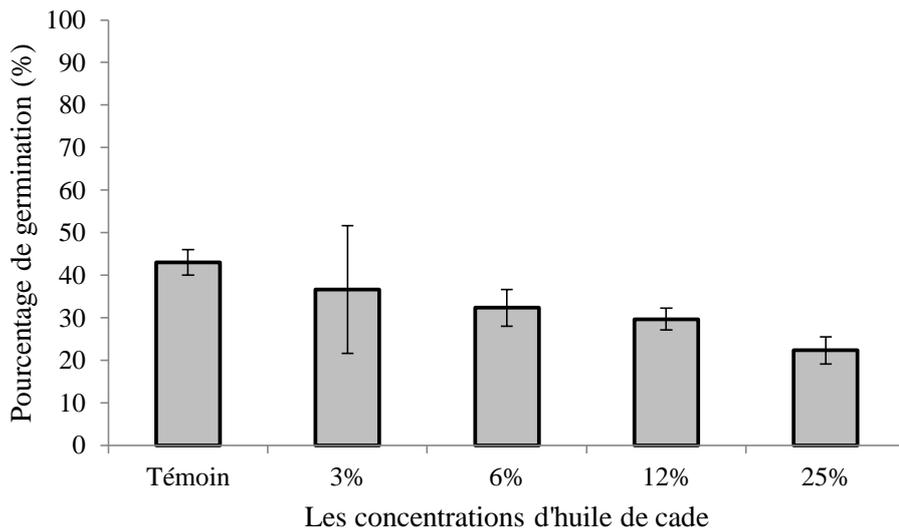


Fig.15: Activité antifongique de d'huile de cade sur la germination de *F.oxysporum*

Tableau.7: Taux d'inhibition d'huile essentielle de cade sur la germination de *F.oxysporum*

	Les concentrations d'HE			
	25%	12%	6%	3%
Taux d'inhibition	48.06%	31.02%	24.81%	14.74%

1.4- Concentration minimale inhibitrice

Dans ce tableau ci-dessous sont consignés les résultats des CMI (%) d'huile essentielle de cade sur les deux champignons étudiés (Tableau 8).

La comparaison entre les différents CMI sur les deux champignons, montre qu'huile de cade présente le meilleur effet inhibiteur de croissance mycélienne et de la sporulation sur *F.oxysporum* pour une CMI de 12% par rapport à la *B.cinerea* (25%) (Tableau 8).

En revanche, huile de cade s'est révélé la plus active sur la germination de spores de *Botrytis cinerea* avec des CMI inférieures à celles obtenues sur *F.oxysporum*. La plus faible CMI a été obtenue à 6%, tandis que la plus haute valeur a été obtenue contre *F.oxysporum* (> 25%).

Tableau.8 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'huile essentielle de cade sur les deux champignons étudiés

	<i>B.cinerea</i>	<i>F.oxysporum</i>
Croissance mycélienne	25%	12%
Sporulation	25%	12%
Germination	6%	> 25%

II Discussion

L'activité antifongique d'huiles essentielle de cade a été évaluée *in vitro* vis-à-vis de deux champignons phytopathogènes à savoir *Fusarium oxysporum* et *Botrytis cinerea*.

Les résultats obtenus dans cette étude révèlent une inhibition significative par d'huiles essentielle de cade sur la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des *F. oxysporum* et *B.cinerea*. D'après les taux d'inhibition générée par les différents concentrations, l'huile de cade exerce une action inhibitrice de la croissance mycélienne plus forte sur *F. oxysporum* avec un taux d'inhibition de 63.95, 49.37, 23.66 et 17. 91 % respectivement pour les concentrations 25, 12, 6 et 3% tandis que la même huile provoque un taux d'inhibition de 56.6, 48.03, 43.34 et 41.29% % sur *B. cinerea* pour les mêmes concentrations. Toutefois, il est à signaler que l'huile essentielle de cade affiche une CMI de 12% vis-à-vis de *F.oxysporum* par rapport au *B. cinerea* qui présente une CMI plus élevé (25%).

Selon Kalemba et Kunicka (2003), la sensibilité d'un microorganisme aux huiles essentielles dépend de la propriété de l'huile essentielle et de microorganisme lui-même.

L'huile de cade est largement utilisée dans la dermatologie humaine et vétérinaire pour traiter l'eczéma chronique et d'autres maladies de la peau (Bouhlal et *al.*, 1988) et l'huile rectifiée est utilisée comme composant de parfum dans les savons, les crèmes et les parfums (Leung et Foster, 1996). Le fruit de *Juniperus oxycedrus* est largement utilisé dans le traitement des troubles gastro-intestinaux, des rhumes communs, contre les inflammations urinaires, les hémorroïdes et comme antidiabétique (Yesilada et *al.*, 1993; Abdou et *al.*, 2011).

Stassi et *al.* (1998) ont rapporté que l'huiles essentielle des feuilles et des baies de *J. oxycedrus* ssp. a montré une activité contre plusieurs microorganismes. Digrak et *al.* (1999) ont démontré l'activité de différents extraits de solvant d'écorces de feuilles et de fruits de *J. oxycedrus*.

Cavaleiro et *al.* (2003) l'huile des feuilles de *J. oxycedrus* ssp est le plus actif sur *Candida*, *Aspergillus* et dermatophytes, avec des valeurs de CMI et CML allant de 0,08 à 0,16 µl /ml à 0,08-0,32 µl /ml respectivement.

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique. La relation entre la composition et la bioactivité de l'essence des plantes aromatiques peut être attribuable à la fois à leurs principaux composants (composés alcooliques, phénoliques,

terpéniques ou cétoniques) et les mineurs présents dans l'huile. (Dorman et Deans, 2000 ; Marino et al., 2001 ; Delaquis et al., 2002).

En effet, l'huile de cade que nous avons utilisé est riche en Sesquiterpènes (Delta-cadinène et α -pinène),

La composition chimique de l'huile essentielle de *J. oxycedrus* a été étudiée dans différentes régions du monde et la plupart de ces études ont indiqué que l' α -pinène était le composant principal (Derwich et Chabir, 2011) dont on sait qu'il possède un antimicrobien important Activité (Ismail et al., 2011).

Les études sur les huiles essentielles de *J. oxycedrus* par Hernandez et al. (1987) et Milos et Radonic (2000) ont montré que le principal composant de ces huiles était α -pinène, suivi du myrcène et du limonène.

Deans (2000) a signalé une grande activité antimicrobienne pour le d-3-carène, alors que dans une étude menée par Mahmoud (1994), le d-3-carène à 1 000 ppm semblait provoquer un léger retard de la croissance d'*A. avus*.

L'HE de cade a une action modérée sur l'inhibition des deux stades du cycle de *F. oxysporum*. Ce produit a inhibé légèrement la germination des conidies et s'est montré par une faible activité contre la production de conidies.

Contrairement à *F. oxysporum*, l'HE de cade a diminué le nombre de conidies viables à des concentrations supérieures à 25% avec toutefois affecter la germination de conidies de *B.cinerea*.

Le pouvoir inhibiteur des huiles essentielles sur la sporulation a été rapporté par plusieurs auteurs (Sharma et Tripathi, 2006, 2008 ; Mahanta et al., 2007 ; Chutia et al., 2009 ; Grbic et al., 2011 ; Philips, et al., 2012). Hammer et al. (2003) affirment que les monoterpènes, à hautes concentrations, entraînent une perte totale de l'homéostasie, de grands dommages membranaires et une forte probabilité de la mort.

Jeum Kyu Hong et al, (2015) ont montré que Carvacrol (composant essentielle de l'huile de cannelle) a été très efficace pour supprimer la germination conidienne et la croissance mycélienne de *C. gloeosporioides*.

Ces résultats vont dans le même sens que les travaux de Neriet al. (2007) qui ont montré l'activité inhibitrice de trans-cinnamaldéhyde sur la germination conidienne *in vitro* et la croissance mycélienne de *Monilinia laxa*

L'huile essentielle d'*Ocimum selloi* appliquée à une concentration de 1 000 ppm a réduit la germination des spores de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *M. perniciosa* de 93 et 87%, respectivement, mais n'a eu aucun effet sur *Alternaria alternata*. (Larissa et al., 2015)

Conclusion

Le présent travail a porté sur l'étude antifongique d'huile essentielle de cade sur deux champignons parasites de tomate; *B.cinerea* et *F.oxysporum* par la méthode de contact direct et de macrodilution en milieu liquide.

Cet étude a démontré une efficacité antifongique de l'huile de cade, appartenant à la famille «Cupressaceae» qui semble être efficace sur plusieurs micro-organismes.

L'huile essentielle de cade étudié est d'origine Algérien, connues pour leur usage thérapeutique en médecine traditionnelle.

In vitro, l'huile essentielle de cade s'avère efficace sur les isolats de *Fusariumoxysporum* et *Botrytis cinerea* avec des pourcentages compris entre 17.63 et 63.95 % pour la croissance mycélienne, 8.37 et 67.26 % pour la production des conidies et 28.44 et 77.58 % pour leur germination.

Perspectives

À la lumière des résultats obtenus, il apparaît évident que ce travail pourrait trouver des moyens dans la mise au point de lutte favorables contre le développement de ces champignons. Il convient donc de suggérer l'utilisation des HE contre les pathogènes, en raison de son efficacité contre les maladies d'origine fongiques et aussi, de leur nature non polluante.

Dans les travaux futurs, il serait intéressant de faire une étude plus approfondie en utilisant des concentrations sélectionnées selon une échelle plus restreinte et de tester d'autres huiles essentielles.

Annexes

ANNEXE 1 : les tableaux analyses de variances

Activité antifongique d'huile de cade sur taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *B.cinerea*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	16278,79	29	561,338				
VAR.FACTEUR 1	11575,77	4	2893,942	15,383	0		
VAR.RESIDUELLE 1	4703,021	25	188,121			13,716	36,24%

Activité antifongique d'huile de cade sur taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *F. oxysporum*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	19026,15	29	656,074				
VAR.FACTEUR 1	15257,66	4	3814,416	25,305	0		
VAR.RESIDUELLE 1	3768,488	25	150,74			12,278	37,45%

Activité antifongique d'huile de cade sur la Sporulation chez *Botrytis cinerea*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	672029,4	29	23173,43				
VAR.FACTEUR 1	81419,5	4	20354,88	0,862	0,00213		
VAR.RESIDUELLE 1	590609,9	25	23624,4			153,702	90,48%

Activité antifongique d'huile de cade sur la Sporulation chez *F. oxysporum*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1782372	29	61461,09				
VAR.FACTEUR 1	618261,3	4	154565,3	3,319	0,02585		
VAR.RESIDUELLE 1	1164110	25	46564,41			215,788	45,57%

Activité antifongique d'huile de cade sur la Germination chez *Botrytis cinerea*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	7512,934	14	536,638				
VAR.FACTEUR 1	6867,601	4	1716,9	26,605	0,00004		
VAR.RESIDUELLE 1	645,334	10	64,533			8,033	18,71%

Activité antifongique d'huile de cade sur la Germination chez *F. oxysporum*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	4618,4	14	329,886				
VAR.FACTEUR 1	715,733	4	178,933	0,458	0,044619		
VAR.RESIDUELLE 1	3902,667	10	390,267			19,755	60,23%

Références bibliographiques

- Aimé S., Cordier C., Alabouvette C., Olivain C., 2008.** Comparative analysis of PR gene expression in tomato inoculated with virulent *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* and the biocontrol strain *F. oxysporum* Fo47. *Physiol Mol Plant Pathol.*, 73 : 9 – 15.
- Agrios, G.N.1988.** Plant Pathology. 3e éd. Academic Press, New-York. 803 pp.
- Agrios, G.N. 2005.** Plant Pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press, USA UK.
- Ajouz, S., 2009-** Estimation du potentiel de résistance de *Botrytis cinerea* à des biofongicides. PhD. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, France, 198 p.
- Amselem, J., C. A. Cuomo, J. A. L. van Kan, M. Viaud, E. P. Benito, A. Couloux, P. M. Coutinho, R. P. de Vries, P. S. 2011.** Genomic analysis of the necrotrophic fungal pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. *Plos Genetics* 7 (8).
- Belabid L., 2003.** La fusariose vasculaire de la lentille (*Lens culinaris* Med.) dans le Nord-Ouest Algérien : Morphologie et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) Emend. S. & H. f. sp. *lentis* (Vasud. & Srin.) en relation avec la répartition géographique et le pouvoir pathogène. Thèse de Doctorat, Université d'Oran.
- Benhamou N., Rey P., Cherif M., Hockenhull J., Tirilly Y. 1997.** Treatment with the mycoparasite *Pythium oligandrum* triggers induction of defence-related reactions in tomato roots when challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology* 87, p. 108–121.
- Beckman C.H. 1987.** The Nature of Wilt Diseases of Plants. (St. Paul, MN: American Phytopathological Society Press).
- 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, connaître, maîtriser. Quae néditions. pp. 679
- Blancard. 1997.** Les maladies de la tomate. Edition INRA. Paris, 2012. p.
- Blancard, D 1988.** Les maladies de la tomate : observé, Identifier, lutter Edition INRA, Monfavel. 170-179
- Blumwald, E., Aharon, G.S., and Apse, M.P. 2000.** Sodium transportin plant cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 1465(1–2): 140–151. doi:10.1016/S0005-2736(00)00135-8. PMID:10748251.
- Bolwerk, A., Lagopodi, A. L., Wijfjes, A. H., Lamers, G. E., Chin, A. W. T., Lugtenberg, B. J. J., Bloemberg, G. V. 2003.** Interactions in the tomato rhizosphere of two *Pseudomonas* biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici*. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 16: 983-993.
- Bondoux, P. 1992.** Maladies de conservation des fruits à pépins: pommes et poires. INRA. Paris, France. 173 p.
- Bouhlal K, J. M. Meynadier, J. L. Peyron, L. Peyron, J. P. Marion, G. Bonetti, J. Meynadier. 1988.** Le cade en dermatology, Parfums, Cosmétiques et Aromes. 83 73-82.
- Boumendjel M. & Boutebba A. 2001.** Effet des traitements thermiques sur les antioxydants de la tomate. *Synthèse (Annaba)* 11:78-85
- Corbaze, R. 1990.** Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plants. Edission Press Polytechnique et universitaire romonde. 286 P.

- CPVQ (Conseil des Productions Végétales du Québec). 1985.** Petits fruits. Culture. Agdex 230/20. Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du Québec, Québec. 35 pages.
- D'Arcy W.G. 1991.** The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. In J.G. Hawkes, R.N. Lester, M. Nee, N. Estrada-R Solanaceae. 111 Taxonomy. Chemirtry Evolution. Pub. Royal Botanic Gardens, pp. 75-137.
- Dean R., Van Kan J.A., Pretorius Z.A., Hammond-Kosack K.E., Di Pietro A., Spanu P.D., Rudd J.J., Dickman M., Kahmann R., Ellis J. and Foster G.D. 2012.** The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13, 414–430.
- Dekkers, L. C., Mulders, I. H. M., Phoelich, C. C., Chin-A-Woeng, T. F. C., Wijfjes, A. H. M., Lugtenberg B. J. J. 2000.** The sss colonization gene of the tomato–*Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici* control strain *Pseudomonas fluorescens* WCS365 can improve colonization of other wild-type *Pseudomonas* spp. bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13:1177-1183.
- Delaquis P.J., Stanich K., Girard B. et Mazza G. 2002.** Antimicrobial Activity of Individual and Mixed Fractions of Dill, Cilantro, Coriander and Eucalyptus Essential Oils. *Int. J. Food Microbial*, Vol. 74, pp : 101-109.
- Derwich, R. Chabir, 2011.** Identification of the volatile constituents of the essential oil of *Juniperus oxycedrus* (*Cupressaceae*) from the north centre region of Morocco, *Asian J Pharm Clin Res*, 4 50–54.
- Digrak, A. Ilcim, M. H. Alma. 1999.** Antimicrobial activities of several parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani*, and *Pinus nigra*, *Phytoter. Res.* 13 584- 587.
- Dik, A.J., and Wubben, J.P. 2004.** Epidemiology of *Botrytis cinerea* diseases in greenhouses, p. 319-331, in: *Botrytis: biology, pathology and control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Dorman H. J. D. et Deans S. G. 2000.** Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology.* 88, 308-316.
- Dubos B., Bulit J, Bugaret Y, Verdu D. 1978.** 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, 1159–68.
- Dubos B., Jailloux F. et Bulit J. 1982.** Microbial antagonism in the control of grey mould of grapevine. *EPPO Bulletin*, 12, 171-175.
- Dumas, Y. 1992.** Crop management for processing tomatoes in the year 2000. *Acta Horticulturae* 301: 117-134.
- Dumortier P., Evrad M., Maiche M., Nicolas A., De Ridder C. et Costa Santos Baltazar S. 2010.** Biodiversité chez la tomate, stratégie de conservation et valorisation de collection « luc fichot ». Rapport final, Phytotechnie et horticulture. Gembloux agro bio tech., 105 p.
- Edel V., Steinberg C., Avelange I., Laguerre G and Alabouvette C. 1995.** Comparison of three molecular methods for the characterization of *Fusarium oxysporum* strains. *Phytopathology*, 85: 579 - 585.
- 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. 223-241, in: *Botrytis: biology, pathology and control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Elad, Y., Yunis, H., and Katan, T.1992.** Multiple fungicide resistance to benzimidazoles, dicarboximides and diethofencarb in field isolates of *Botrytis cinerea* in Israel. *Plant Pathol.* 41:41-46.
- J. Bassem. 2011.**Chemical Composition of *Juniperus oxycedrus* L. subsp *macrocarpa* Essential Oil and Study of Their Herbicidal Effects on Germination and Seedling Growth of Weeds. *Asian Journal of Applied Sciences*.<http://docsdrive.com/pdfs/knowledgia/ajaps/0000/33116-33116.pdf>.
- Jarvis, W.R.,Shoemaker, R.A. 1978.** Taxonomic status of *fusarium oxysporum* causing foot and root-rot of tomato.*phyto pathology*, 68 :1679-1680
- Jarvis, W.R.1980.**Epidemiolo
- Elmer, W.H. and Daughtrey, M. 2012.** Fusarium wilt of Cyclamen. In, *Fusarium wilts of greenhouse vegetable and ornamental crops*, pp. 213–219.
- Elmer, W.H. and McGovern, R.J. 2004.** Efficacy of integrating biologicals with fungicides for the suppression of Fusarium wilt of cyclamen. *Crop Prot.* 23: 909–914.
- FAO 1997, 2005, 2010, 2013-**Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Division statistique.Web. <http://faostat.fao.org/default.aspx>.
- Fernández-Ortuño, D. and G. Schnabel. 2012.** First report of thiophanate-methyl resistance in *Botrytis cinerea* on strawberry from South Carolina.*Plant Dis.* 96:1700.
- Ferrero M. 2009.** Etude de la variabilité des comportements alimentaires du prédateur et conséquences pour la lutte biologique. Thèse doctorat. Montpellier SupAgro., 228 p.
- FravelD, C Olivain, C Alabouvette .2003.***Fusarium oxysporum* and its biocontrol *New Phytologist*, 157 pp. 493-502
- Gallais A., et Bannerot H. 1992.**Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection. Ed. INRA. Paris.
- Groves, J. W., and Loveland, C. A., 1953.**The connection between *Botryotinia fuckeliana* and *Botrytis cinerea*. *Mycologia* 45:415-425.
- Gudelj I, Fitt B. D. L. et van den Bosch F. 2004.**Evolution of sibling fungal plant pathogens in relation to host specialization, *Phytopathol.*, 94, 789-795.
- Gullino, M.L., Minuto, A., Gilardi, G., and Garibaldi, A. 2002.** Efficacy of azoxystrobin and other strobilurins against Fusarium wilts of carnation, cyclamen and Paris daisy. *Crop Prot.* 21: 57–61.
- Hammer K.A., Carson C.F. & Riley T.V. 2003.** Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Journal of Applied Microbiology*, 95: 853 - 860
- Haas D, Blumer C & Keel C. 2000.**Biocontrol ability of fluorescent *Pseudomonas* genetically dissected: importance of positive feedback regulation. *Current Opinion in Biotechnology* 11:290 7.
- Hakim alilou. 2012.** Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus gravelées* subsp. odorus (Schousb.) Greuter et *Asteriscus imbricatus* (Cav.) DC. Thèse de doctorat es Sciences Biologiques de Université Ibn Zohr d'Agadir.215p.

- Harlan J. R. 1987.** Les plantes cultivées et l'homme, éd. ACCT/CILF/PUF, , p. 299-300.
- Hennebert GL. 1973.** Botrytis and Botrytis-like genera. *Persoonia* 7: 183-204
- Hernandez, E. G., M. Del Carmen Lopez Martinez, and R. G. Villanova. 1987.** Determination by gas chromatography of the terpenes in the berries of the species *Juniperus oxycedrus* L., *J. thurifera* L. and *J. sabina* L. *J. Chromatogr.* 396:416–420.
- Hofstetter, B. 1990.** Nature's fungicides may banish Botrytis. *New Farm*, mai-juin 1990:31-32, 41.
- 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.
- Ismail, H. Lamia, H. Mohs gy, p. 219-50,** in: The biology of Botrytis. J. R. Coley-Smith, K. Verhoeff and W. R. Jarvis, eds. Academic Press, London, UK.
- Jones J.D. and Dangl J.L. 2006.** The plant immune system. *Nature* 16: 323-329.
- Kalemba D, Kunicka A. 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10: 813-829
- K. Arab, O. Bouchenak, K. Yahiaoui. 2014.** Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *pistacia lentiscus* *IJ Fundam Appl. Sci.* 2014, 6(1), 77-91
- Kassi FM., Badou OJ., Tonzibo ZF., Salah Z., Lndge A. & Kone D. 2014.** Action du fongicide naturel NECO contre la cercosporiose noire (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) chez le bananier plantain (AAB) en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 75: 6183– 6191.
- Katan T., Shlevin E., Katan J. 1997.** Sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on stem surfaces *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2006 **10** (2), 101 – 108
- Kim, Y.K., and Xiao, C.L. 2011.** Stability and fitness of pyraclostrobin and boscalid-resistant phenotypes in field isolates of *Botrytis cinerea* from apple. *Phytopathology* 101, 1385-1391.
- Kochenko. 1972.,** Features of sclerotial germination of *Botrytis cinerea* Fr. *Mykologia Fitopatologia* 6: 256-258.
- Kosuge, T., and Hewitt, W.B. 1964.** Exudates of grape berries and their effect on germination of conidia of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 54: 167-172.
- Kretschmer, M., and Hahn, M. 2008.** Fungicide resistance and genetic diversity of *Botrytis*
- Lahlou, M. 2004a.** Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(2), 159-165 *cinerea* isolates from a vineyard in Germany. *J. Plant Dis. Prot.* 115, 214–219.
- Laterrot, H., Roxel, F. ; Davet, P. ; Mineau, R. ; nourrisseau, J.G. et Jonan, B. 1978.**
La fusarios vasculaire de la tomat en France. p.H.M. Rev. *Horticol* 137 :35-40
- Leroux P., D. Debieu, C. Albertini, A. Arnold, J. Bach, F. Chapeland, E. Fournier, R. Fritz, M. Gredt, T. Giraud, M. Hugon, C. Lanen, C. Malosse and G. Thebaud. 2002.** The hydroxyanilide botryticide fenhexamid/ mode of action and mechanism of resistance. In: *Modern Fungicides and Antifungal Compounds III.* (H-W. Dehne, U. Gisi, K. H. Kuck, P. E. Russel, H. Lire, ed.), Agro Concept GmbH, Bonn, Germany 29–40.
- Leroux P. 2003.** Mode of action of agrochemicals towards plant pathogens. *Comptes Rendus de Biologies* 326 : 9-21.

- Leroux, P. 1999.** Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards. *Crop Protection*. 18, 687-697.
- 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 Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Leung, S. Foster, Encyclopedia of Common Natural Ingredients, Wiley, New York, 1996;** pp. 109.
- Lis-Balchin M. 2002.** Lavender: the genus *Lavandula*. Taylor and Francis, London. p: 37, 40, 50, 155-200.
- MADR. 2009.** Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural , Direction des Statistiques.62.
- Mahmoud, A.-L. E. 1994.** Antifungal action and antia • atoxigenic properties of some essential oil constituents. *Lent. Appl. Microfilm*. 19:110–113.
- Marino M., Bersani C., Com G. . 2001.** Impedence measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiacea and Compositae *Int J Food Microbiol*, 67, pp. 187–195
- Marios JJ., Mitchell DJ. 1981.** Effect of fumigations and fungal antagonists on the relationships of inoculum density to infection incidence and disease severity in *Fusarium* crown rot of tomato. *Phytopathology* 71, p. 167 170.
- Martinez, F., Dubos, B. et Fermaud, M. 2005.** The role of saprotrophy and virulence in the population dynamics of *Botrytis cinerea* in vineyards. *Phytopathology* 95 : 692-700.
- 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.
- Neri, F., Mari, M., Brigati, S. and Bertolini, P. 2007.** Fungicidal activity of plant volatile compounds for controlling *Monilinia laxa* in stone fruit. *Plant Dis*. 91:30-35.
- Nicolas R. 2010.** Analyse du polymorphisme moléculaire de gènes de composantes de la qualité des fruits dans les ressources génétiques sauvages et cultivées de tomate ; recherche d'associations gènes/QTL. Thèse de doctorat en Sciences de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.275p.
- 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, USA.
- Nyerges, E. Vermehrung des *Botrytis cinerea* hemmenden sowie stimulierenden Substanzen im Rebholz. *Wein-Wissenschaft* 26, 1971. 349-59.
- 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., Newman SE. (2004).** *Fusarium* crown and root rot of tomato and control methods. *Plant Pathol. J.* 3, p. 9–18
- Peralta, I. E. and D. Spooner. 2007.** History, origin and early cultivation of tomato (*Solanaceae*). *Genetic improvement of Solanaceous crops*. M. K. Razdan and A. K. Mattoo. Enfield (NH), Science Publisher. 2: 1-24.

- Pezet R., Viret O. et Gindro K. 2004.** Plant-microbe interaction: the *Botrytis* grey mould of grapes- biology, biochemistry, epidemiology and control management. In: Advances in Plant Physiology (Hemantaranjan A., ed), Scientific publishers, Jodhpur, India, 7, 71-116.
- Pilkington LJ, Messelink G, van Lenteren JC & Le Motee C. 2009.** Protected biological control". Biological pest management in the greenhouse industry. Biological Control (Online First). doi:10.1016/j.biocontrol.2009.05.022.
- Regnault- Roger C. 2012.** Trends for Commercialization of Biocontrol Agent (Biopesticide) Products. Plant Defense Biological control . 12 : 139- 60.
- Remmal A. 1994.** Activités antibactériennes et antivirales des huiles essentielles d'origan, de girofle et de thym. Thèse de doctorat d'état ès-sciences naturelles. Faculté des sciences Dhar El Mehraz. Fés.
- Rosenberger, D.A. 1990.** Postharvest diseases (Blue mold-Gray mold), in: Compendium of Apple and Pear Diseases, A.L. Jones and H.S. Aldwinkle, eds., APS Press The American Phytopathological Society, USA pp.53-58.
- Rosslenbroich, H.-J. et Stuebler, D. 2000.** *Botrytis cinerea* - history of chemical control and novel fungicides for its management. Crop Protection 19 : 557-561
- 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.
- 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.
- Schulze E-D. Beck E. & Müller-Hohenstein K. 2005.** Plant ecology. Springer. Berlin:117-143p.
- Shankara Naika, 2005.** Agromisa Foundation and CTA, Wageningen., AGRODOK 17, Cultivation of tomato production, processing and marketing. Pg. 6-8.
- Shiraishi, M., Fukutomi, M., and Akai, S. 1970a.** Effects of temperature on the conidium germination and appressorium formation of *Botrytis cinerea* Pers. Annals of the Phytopathological Society of Japan 36: 234-236.
- Shiraishi, M., Fukutomi, M., and Akai, S. 1970b.** Recovery of germinability of aged conidia of *Botrytis cinerea* Pers. by several saccharides. Annals of the Phytopathological Society of Japan 36: 297-303.
- Siddiqui Y.M., Ettayebi M., Haddad A.M & Al-Ahdal M.N. 1996.** Effect of essential oils on the enveloped viruses : antiviral activity of oregano and clove oils on herpes simplex virus type 1 and Newcastle disease virus. Med. Sci. Res, 24 : 185-186.
- Snow, D. 1949.** The germination of mould spores at controlled humidities. Annals of Applied Biology 36: 1-13.
- Stassi, E. Verykokidou, A. Loukis, C. Harvala, S. Philianos. 1996.** The antimicrobial activity of the essential oils of four *Juniperus* species growing wild in Greece. Flavour Fragrance J. 11 71-74.
- Staats, M., P. van Baarlen, and J. A. L. van Kan. 2005.** Molecular phylogeny of the plant pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. Molecular Biology and Evolution 22 (2):333-346.
- Thakore Y. 2006.** The biopesticide market for global agricultural use. Industrial Biotechnology. 2(3):294-208.

- Tantaoui-Elaraki A., Ferhout H & Errifi A. 1993.** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus Broussonetii*, *T. zygis* and *T. satureioides*. *J. Essent. Oil. Res.*, 5 : pp. 45-53.
- Thangavelu R., Palaniswami A., Velazhahan R. 2004.** Mass production of *Trichoderma harzianum* for managing *Fusarium* wilt of banana. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 103: 259 – 263.
- 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. & Weller, D. M. 1996.** Current concepts in the use of introduced bacteria for vacuoles by both InsP3 and cyclic ADP-ribose. *Science* 268: 735-737.
- Veloukas, T., M. Leroy, M. Hahn, and G. S. Karaoglanidis. 2011.** Detection and molecular characterization of boscalid-resistant *Botrytis cinerea* isolates from strawberry. *Plant Disease* 95 (10):1302-1307.
- Verma M., Brar S.K., Tyagi R.D., Sahai V., Prévost D., Valéro J.R., Surampalli R.Y. 2007.** Benchscale fermentation of *Trichoderma viride* on wastewater sludge: rheology, lytic enzymes and biocontrol activity. *Enzyme and Microbial Technology*, 41 (6): 764–771.
- Walker, J.C. 1971.** fusarium wilt of tomato. *Mangr.* 6. American phytopathological society, st. paul, MN
- 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.
- Wilcox, W.F. 1993.** Control of gray mold of strawberry through cultural manipulations of fruiting-zone microclimate. Reports pertinent to the IPM effort at Cornell University, New York State IPM Publication #208: 83-85.
- Williamson B., Tudzynski B., Tudzynski P. et Van Kan JAL. 2007.** *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*. 8: 561–580.
- Winicov, I. 1998.** New molecular approaches to improving salt tolerance in crop plants. *Ann. W.L. 1965.* Pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal of Botany*. 43(11):1309-1318. *Bot.*, 82, 703–710.
- Xue A .G., Chen Y., Voldeng H.D ., Fedak G ., Savard M .E ., Langle T ., Zhang J .& Harman G .E 2014.** Concentration and cultivar effects on efficacy of CLO-1 biofungicide in
- Yesilada, G. Honda, E. Sezik, M. Tabata, K. Goto, Y. Ikeshiro. 1993.** Traditional medicine in Turkey. IV. Folk medicine in the Mediterranean subdivision, *J. Ethnopharmacol.* 39 () 31-38.
- ZIDANI S. 2009.** Valorisation des pelures de tomates séchées en vue de leur incorporation dans la margarine. Thèse de magister, option : Technologie Alimentaire. Laboratoire de Recherche Technologie Alimentaire L.R.T.A, université M'hamed Bougara Boumerdes, 74 p.

