

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement supérieur de la recherche scientifique

Université 8 Mai 1945 Guelma Faculté des sciences de la nature et de la vie,

Belhouan Warda

et des sciences de la terre et de l'univers

Département d'écologie et génie de l'environnement



Mémoire de Master

Domaine Science de la nature et de la vie
Filière Sciences agronomiques
Spécialité Phytopathologie et phytopharmacie

Thème

Activité antifongique de trois huiles essentielles sur deux champignons pathogènes de la tomate; *Botrytis cinerea* et *Fusarium oxysporum*

Présenté par :
Belhouan Warda
Boussaha Amel

Devant le jury:

Président	khaladi.O	Université 8 Mai 1945-Guelma
Examineur	Allioui. N	Université 8 Mai 1945-Guelma
Promoteur	Buomaaza B	Université 8 Mai 1945-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.

*Nous remercions vivement notre encadreur : **Mr Boumaaza Boualem** pour son Aide, sa compréhension et ses Conseils et ses corrections sérieuses pour ce travail.*

*Nous tenons à remercier aussi les Membres du jury
Mdm Alioui N et Mr Zitouni
Pour l'honneur qu'ils nous ont fait en
Acceptant de juger notre travail.*

*Nos sincères remerciements vont également aux Enseignants de spécialité Phytopathologie et Phytopharmacie: **Mr Zitouni S, Mdm Ouchtati N. Mdm Alioui N, Mdm LAOUAR Mdm Chahat...** Et tous les Enseignants à la Faculté des sciences de la Nature et La Vie, Université 8mai 1945 GUELMA.*

*Nos remerciements les plus sincères aussi à **Louiza** technicienne de laboratoire et à **Mdm Houria** responsable des laboratoires de la faculté.*

*Nous remercions aussi à **Mr Khaladi O** pour leur aide et conseil
Nous remercions également toutes les Personnes qui Nous ont aidés, de près ou de Loin pour la réalisation de ce travail en Particulier.*

*Nous remercions tous la promotion de biologie et en précise les **étudiants de phytopathologie et phytopharmacie.***

Résumé

L'activité antifongique des huiles essentielles des trois huiles essentielles de Tee free (*Melaleuca alternifolia*), clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et eucalyptus commun (*Eucalyptus globulus*) 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. La comparaison entre les activités des différents HE sur *Botrytis cinerea*, montre que Tee free montrent un grand pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne de champignons phytopathogènes avec une CMI de 12%, suivi du Clou de girofle (25%) puis Eucalyptus commun (>25%). En revanche, le Tea tree, Clou de girofle et Eucalyptus commun présentent des CMI des croissances mycéliennes similaires sur *F.oxysporum*. Les résultats montrent que, Tea tree s'est révélé la plus active sur la sporulation de *Botrytis cinerea* avec des CMI inférieures à celles obtenues avec les autres HE, les CMI étaient évaluées à 6% contre Eucalyptus commun à 12% et Clou de girofle à 25%. En ce qui concerne *F.oxysporum*, la plus faible CMI a été obtenue avec l'HE de Clou de girofle (3%), tandis que la plus haute CMI a été obtenue par l'HE d'Eucalyptus commun (25%). Ainsi, selon leurs activités sur les deux phytopathogènes, ces huiles ont été classées dans l'ordre décroissant suivant : Tea tree > Clou de girofle > Eucalyptus commun.

Mots clés : *B. cinerea*, *F.oxysporum*, *Melaleuca alternifolia*, *Syzygium aromaticum*, *Eucalyptus globulus*, activité antifongique, huile essentielle, CMI.

Abstract

The antimicrobial activity of the essential oils of the three essential oils of Tee free (*Melaleuca alternifolia*), clove (*Syzygium aromaticum*) and Common Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) was evaluated *in vitro* against two fungal diseases of tomato; *B.cinerea* and *F.oxysporum* by the direct contact and macrodilution method in liquid medium. The comparison between the activities of the different HE against *Botrytis cinerea* shows that Tee free presents a great inhibitory effect on the mycelial growth of phytopathogenic fungi with a MIC of 12% followed by clove (25%) and then Eucalyptus (>25 %). On the other hand, Tea tree, clove and Eucalyptus show similar MIC of mycelial growths on *F. oxysporum*. The results show that Tea tree proved to be the most active on sporulation of *Botrytis cinerea* with lower MICs than those obtained with other HE, MIC were evaluated at 6%, Eucalyptus at 12% and Clove at 25%. For *F.oxysporum*, the lowest MIC was obtained with clove HE (3%), while the highest MIC was obtained by Eucalyptus HE (25%). Thus, according to their activities on the two phytopathogens, these oils were classified in descending order: Tea tree> Clove> Common Eucalyptus.

Keywords: antifungal activity, *Melaleuca alternifolia*, *Syzygium aromaticum*, *Eucalyptus globulus*, oil essential, *B. cinerea*, *F.oxysporum*, MIC.

المخلص

تم تنفيذ نشاط ثلاثة زيوت أساسية، زيت شجرة الشاي (*Melaleuca alternifolia*) والقرنفل (*Syzygium aromaticum*) و الأوكالبتوس (*Eucalyptus globulus*) على اثنتين من الفطريات الطفيلية للطمطم (*B.cinerea* و *F.oxysporum*) بطريقة الاتصال المباشر و التخفيف في وسط سائل. المقارنة بين مختلف أنشطة الزيوت الأساسية على العفن الرمادي تبين ان الزيت الأساسي للشجرة الشاي اظهر قوة تثبيط في نمو الفطريات الممرضة للنبات، حيث تركيزه قدرت ب(12%) يليها القرنفل ب(25%) و الأوكالبتوس(25%). في حين نجد ان الزيوت الأساسية الثلاثة تكون الجرعة الأقل تركيز فيها مماثلة بالنسبة للفطر الممرض فيزاريوم. كما أظهرت النتائج ان زيت الشاي الأكثر نشاطا على التبوغ في العفن الرمادي بجرعة اقل من تلك التي حصلت مع الزيوت الأساسية الأخرى. الجرعة الأقل تثبيط (CMI) قدرت ب (6%) للزيت الشاي مقارنة بالأوكالبتوس (12%) و (25%) للقرنفل و فيما يتعلق بالفطر الممرض فيزاريوم تم الحصول على ادنى جرعة مع الزيت الأساسي عند القرنفل بالنسبة(3%)، في حين حصلنا على اعلى جرعة للتركيز الأقل تثبيط مثلها الزيت الأساسي الأوكالبتوس (25%). نظرا لانشطة هذه الزيوت الأساسية الثلاثة على مسببات الامراض النباتية الاثنتين (العفن الرمادي و الفيزاريوم) صنفت هذه الزيوت على الترتيب التنازلي التالي:

زيت الأساسي لشجرة الشاي < زيت القرنفل < زيت الأوكالبتوس.

كلمات المفتاح: *F.oxysporum* , *B. cinerea*، الأوكالبتوس، زيت شجرة الشاي، القرنفل ،النشاط المضادة للفطريات، الزيوت الأساسية، الجرعة الأقل تثبيطا.

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).	4
Fig.2 - 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
Fig. 8-Morphologie du <i>Fusarium oxysporum</i> (Leslie et Summerell, 2006) A – B: Macroconidies ; C – D: Microconidies ; E – F: Conidiophores et microconidies.....	18
Fig. 9- Cycle de vie de <i>Fusarium oxysporum</i> (Marion Triolet, 2014).	19
Fig.10- les deux champignons testés; (a) : <i>Botrytis cinerea</i> vue macroscopique.....	27
(b) : <i>Fusarium oxysporum</i> vue macroscopique	27
Fig. 11-Activité inhibitrice des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de <i>B. cinerea</i>	31
Fig.12- Activité inhibitrice des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de <i>F. oxysporum</i>	32
Fig.13- Activité antifongique des huiles essentielles sur la sporulation de <i>B.cinerea</i>	33
Fig.14- Activité antifongique des huiles essentielles sur la sporulation de <i>F. oxysporum</i>	34

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les maladies cryptogamiques de la tomate (Snoussi, 2010)	8
Tableau 2 - Les maladies bactériennes de la tomate (Snoussi, 2010).	9
Tableau 3 - Les maladies virales de la tomate (Idrenmouche, 2011).	10
Tableau 4: Taux d'inhibition des huiles essentielles sur la sporulation de <i>B.cinerea</i>	33
Tableau 5: Taux d'inhibition des huiles essentielles sur la sporulation de <i>F. oxysporum</i>	35
Tableau 6 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles de Tea tree, clou de girofle et Eucalyptus commun	36

Liste des abréviations

- ❖ % : pourcentage
- ❖ °C : degré celsius
- ❖ µm: micromètre
- ❖ FAO : Food and agriculture organization (Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)
- ❖ g : gram
- ❖ ha : hectare
- ❖ ml : millilitre
- ❖ mm : millimètre.
- ❖ PDA : patate-dextrose-agar
- ❖ peroxyde d'oxygène : H₂O₂
- ❖ Ph : potentiel d hydrogène
- ❖ Qx : quintaux
- ❖ Stat : statistique
- ❖ CMI : concentration minimal inhibitrice
- ❖ HE : huile essentielle
- ❖ OE : oil essentiel
- ❖ MADR : ministère de l'agriculture et développement rurale

TABLE DES MATIERES

Remerciement

Résumé

Abstract

الملخص

Liste de figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Table Des Matieres

Introduction

Chapitre -I-Plante Hôte : la tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller)

I.1.Introduction	3
I.2.Historique de la tomate	3
I.3.Classification botanique de la tomate.....	3
I.4.Diversité génétique	4
I.6.Description botanique du plant de la tomate.....	5
I.7.Cycle biologique de la tomate	6
I.9.Production nationale et mondiale de la tomate	6
I.9.1- Production mondiale	6
I.9.2- Production nationale	7
I.10.Contraintes de la production de tomate	7
I.10.1-Principales maladies de la tomate	8
I.10.1.1-Maladies cryptogamiques	8
I.10.1.2-Maladies bactériennes	9
I.10.1.3-Maladies virales	9

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

II.1-Généralités sur le *B. cinerea*

II.1.1-Description de l'agent pathogène	11
II.1.2-Nomenclature et systématique	13
II. 1.3-Cycle infectieux de <i>B. cinerea</i>	13
II. 1.4-Symptôme et dégâts	14
II. 1.5-Gamme d'hôte de <i>B. cinerea</i> et cycle épidémiologique	14
II. 1.6-La lutte contre <i>B. cinerea</i>	15
II. 1.6.1- Lutte culturaux	15
II. 1.6.2- Lutte chimique	15
II. 1.6.3- Lutte biologique	16

II.2- Généralités sur le *Fusarium oxysporum*

II.2.1-Position systématique.....	17
II.2.2-Biologie de <i>F. oxysporum</i>	17
II.2.3-La pathologie.....	19
II.2.3.1-La flétrissure fusarienne (<i>Fusarium wilt</i>)	19
II.2.3.2-La pourriture racinaire (<i>Fusarium crown and root rot</i>)	20
II.2.4-Les moyens de lutte.....	20
II.2.4.1-La lutte culturale	20
II.2.4.2-La lutte génétique	20
II.2.4.3-La lutte biologique	21

II.2.4.4-La lutte physique	21
II.2.4.5-La lutte chimique	21
Chapitre –III Les huiles essentielles	
III.1-Généralités sur les huiles essentielles.....	23
III.2-Composition chimique des huiles essentielles.....	23
III.3-Propriétés physico-chimiques.....	24
III.4-Activités biologiques des huiles essentielles	24
III.4.1-Activité antioxydante	25
III.4.2-Activité antibactérienne	25
III.4.3-Activité antifongique	25
III.4.4- Activité antivirale	26
III.4.5-Activité insecticides	26
III.5-Mode d’action des huiles essentielles	26
Partie expérimental	
Chapitre-I Matériels et Méthodes	
I.1-Matériels 27	
I.1.1-Souches fongiques	27
I.1.2-Milieu de culture utilisée.....	27
I.1.3 Matériel végétal et huiles essentielles	28
I.2-Méthodes	
I.2.1-Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	28
I.2.2-Préparation de l’inoculum	28
I.2.3-Méthodologie de test antifongique	29
I.2.3.1-Effet des huiles sur la croissance mycélienne	29
I.2.3.2-Effet des huiles sur la sporulation	29
I.2.3.3-Effet des huiles essentielles sur le pouvoir germinatif des spores	30
I.2.4- Analyses Statistiques.....	30
Chapitre - II Résultats et Discussion	
II.1-Résultats.....	31
II.1.1-Action des huiles essentielles sur la croissance mycélienne	31
II.1.1.a- Action des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de <i>Botrytis cinerea</i>	31
II.1.1.b- Action des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i>	32
II.1.2- Action des huiles essentielles sur la sporulation.....	33
II.1.2.a- Action des huiles essentielles sur la sporulation de <i>Botrytis cinerea</i>	33
II.1.2.b- Action des huiles essentielles sur la sporulation de <i>Fusarium oxysporum</i>	34
Discussion.....	37
Références bibliographiques	

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 classées 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'effet *in vitro* de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes sur la croissance de *Botrytis cinerea* et *fusarium oxysporum*.

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 présentera 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 XVIIIème 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, 2002a). 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, revoit 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**).

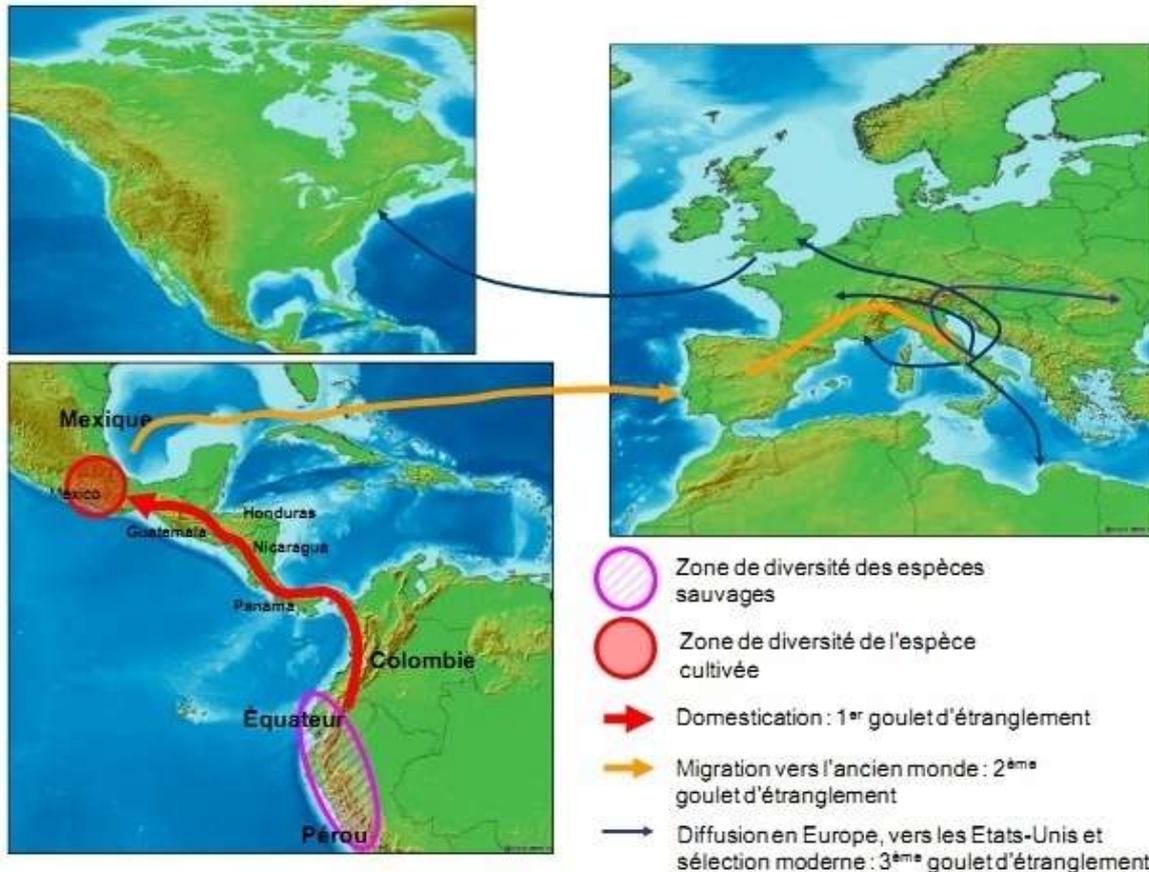


Fig. 1- Histoire hypothétique de la domestication de la tomate. Les fonds de carte proviennent du DEMIS -WorldMapp Server (In Nicolas, 2010).

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 courbés 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).

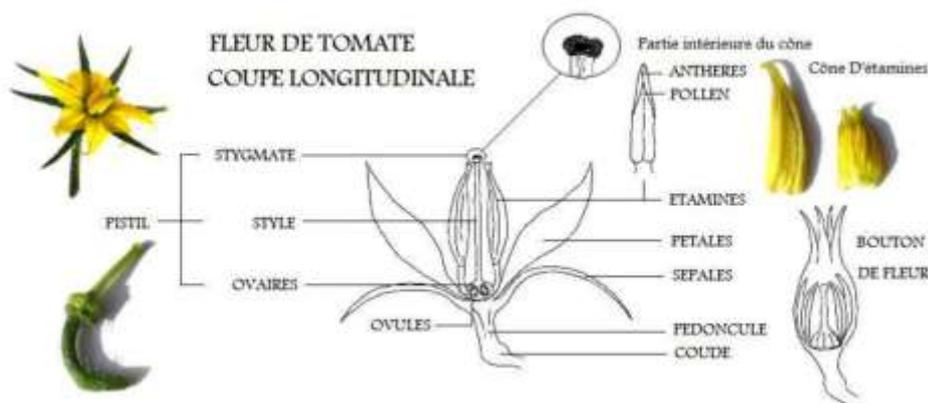


Fig.2 - Coupe longitudinale d'une fleur de tomate

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)

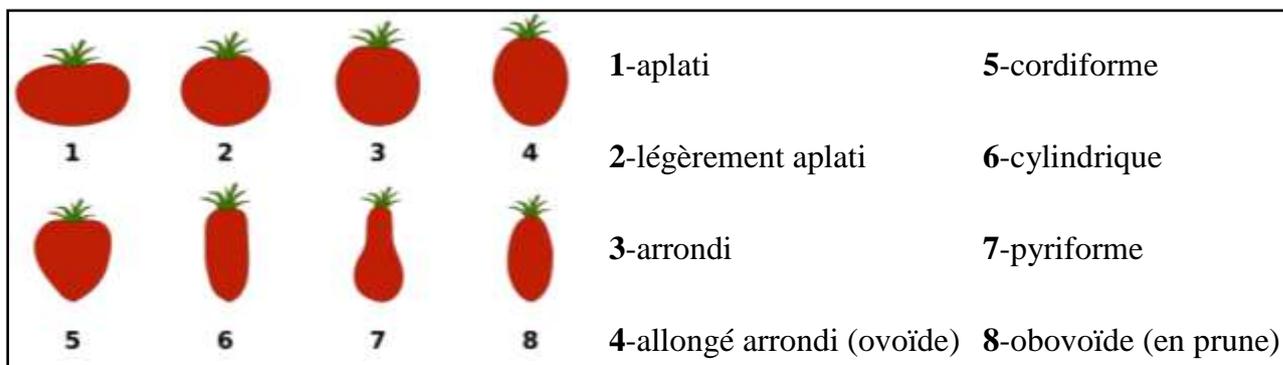


Fig.3 - Différentes formes de tomates utilisées pour décrire une variété (descripteur IPGRI) (In Nicolas, 2010).

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

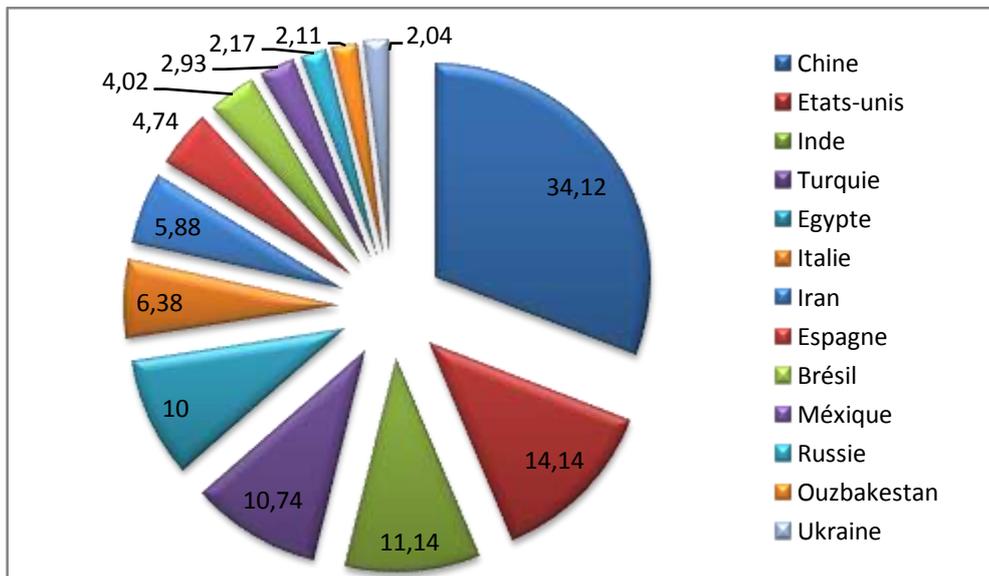


Fig.4 - Productions des 13 premiers pays producteurs de tomate en Million de tonnes (FAO, 2010).

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).

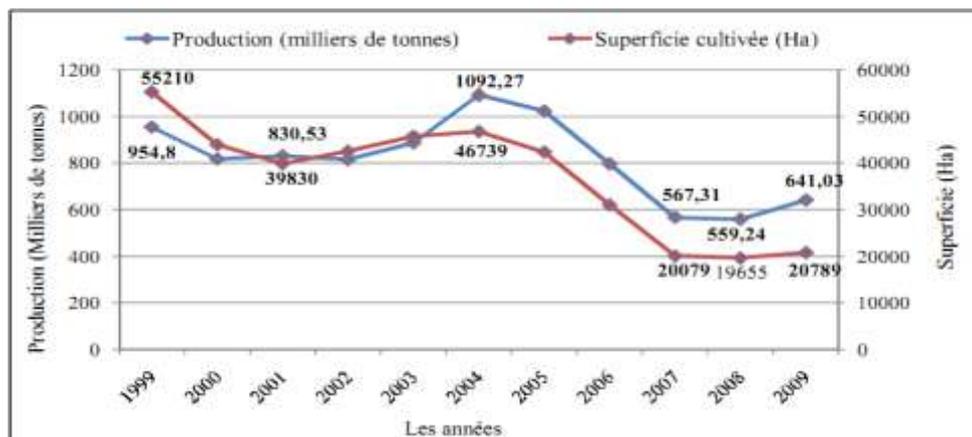


Fig.5- Superficies et production de tomate de 1999 à 2009 en Algérie (FAOSTAT, 2010).

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 04), des mycoplasmes (transmis par des insectes vecteurs comme la cicadelle), des bactéries (*Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas. Spp*, *Clavibacter michiganensis*...) (tableau 03), des champignons (*Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, *fusarium oxysporum* ...). (Tableau 2).

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 (*Fusarium spp.*, *Pythium spp.*, etc.), 2) fonte des semis (*Pythium spp.*, *Sclerotinia spp.*, etc.), 3) pourriture racinaire (*Fusarium spp.*, *Phytophthora spp.*, *Rhizoctonia spp.*, etc.) et 4) flétrissement des plantes (*Fusariumspp.*, *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 tâches brunes sur les feuilles et les tiges.
Alternariose	<i>Alternaria solani</i>	Tâches noires de taille variables sur les feuilles.
Fusariose	- <i>fusarium oxysporum f.sp lycopersici</i> . - <i>fusarium oxysporum f.sp radidis lycopersici</i>	Flétrissement des feuilles avec brunissement des vaisseaux et pourriture des racines.
Verticilliose	- <i>Verticillium albo-atrum</i> -- <i>Verticillium dahliae</i>	Flétrissement des feuilles accompagné d'un jaunissement. Unilatéral suivi de dessèchement des feuilles de la base.
Anthraxose	- <i>Collectotrichum coccodes</i>	Tâches circulaires de 05 à 10 mm sur les fruits rouges.
Oïdium	- <i>Oidium neolycopersici</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 pv. 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>Clavibacter michiganensis sub sp. 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>Ralstonia solanacearum</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 Chorosis 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 entrainer 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 (Veloukas *et 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 ; Veloukas *et 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 Miccolis Angelini *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.

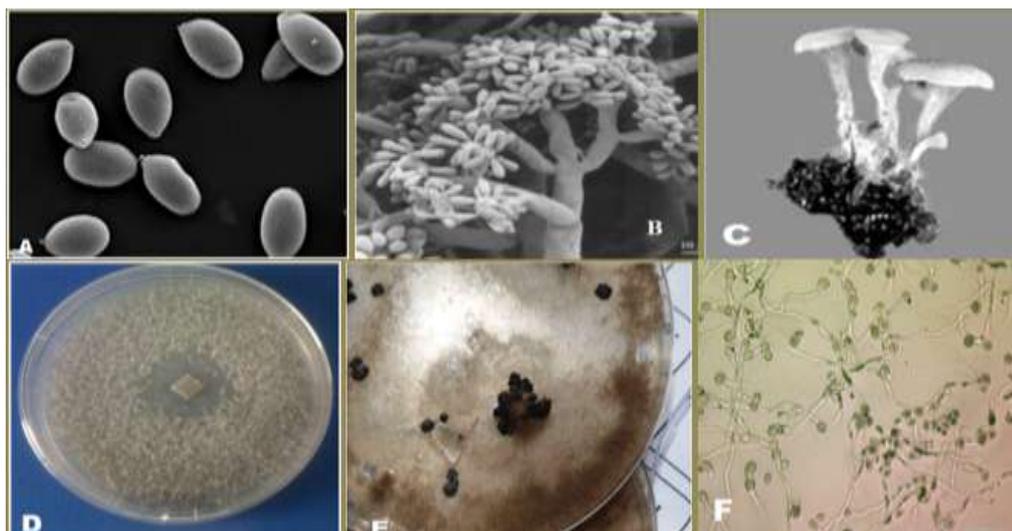


Fig.6 -Conidies observés en utilisant un microscope électronique à balayage

(A). Conidiphores observés en utilisant un microscope électronique (B). Apothécie produisant des ascospores sur une sclérote (C). *Botrytis cinerea* sur milieu de culture PDA à 25°C (D). Sclérote de *Botrytis cinerea* produites 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 (téleomorphe), *Botryotinia fuckeliana* (de Barry) Wetzl. C'est un Ascomycète, de la classe des Discomycètes, de l'ordre des Léotiales, famille des Sclerotiniaceae.
- Une forme imparfaite (anamorphe), *Botrytis cinerea* Pers. C'est un Deutéromycète de la classe des Hyphomycètes, de l'ordre des Moniliales, famille des Moniliaceae. C'est de Bary (1866) qui a établi une relation génétique entre *Botrytis cinerea* Pers., organisme asexué, et *Botryotinia fuckeliana* appelé au départ *Peziza fuckeliana*, organisme sexué.

Botrytis cinerea se 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 cinerea 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. cinerea* se 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 (Figure 1). 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.

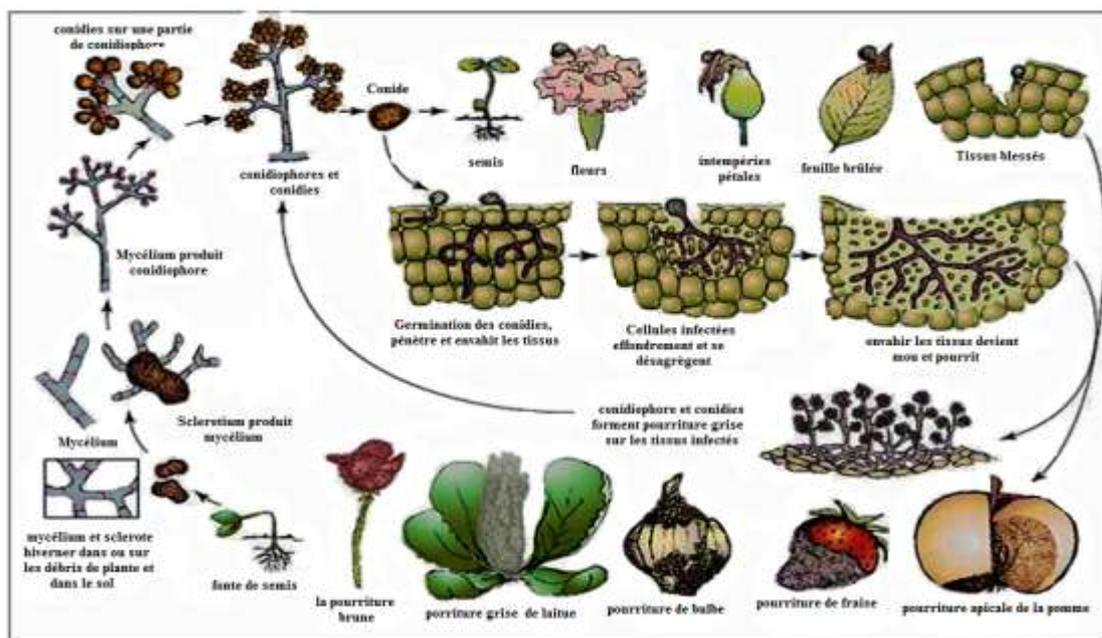


Fig.7 - Cycle de développement (production asexuée) de *Botrytis cinerea* sur différentes culture (d'après Agrios, 2005).

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, suivis 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 (Rosslenbroich 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 *B. 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* regroupe un grand nombre d'espèces peuvent aussi être responsables des maladies connu sous le terme de fusarioses telle 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 : Hypocréales 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; Jimenez-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 les et le matériel agricole, ainsi que par les éclaboussures d'eau.

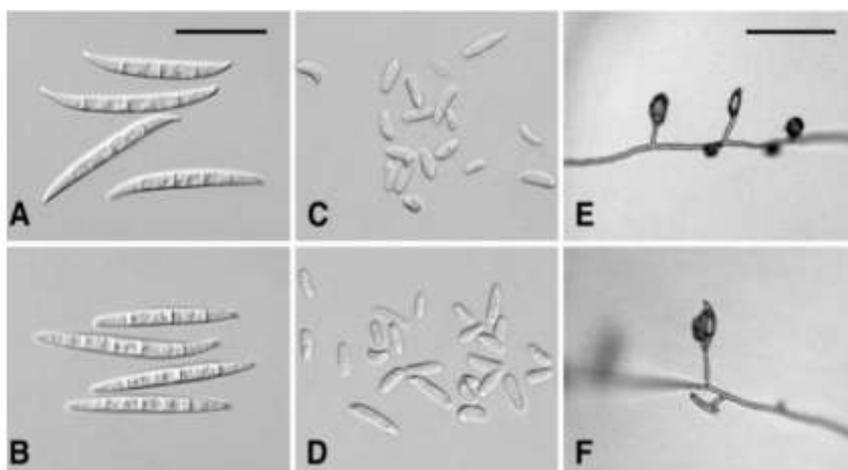


Fig. 8-Morphologie du *Fusarium oxysporum* (Leslie et Summerell, 2006) A – B: Macroconidies ; C – D: Microconidies ; E – F: Conidiophores et microconidies

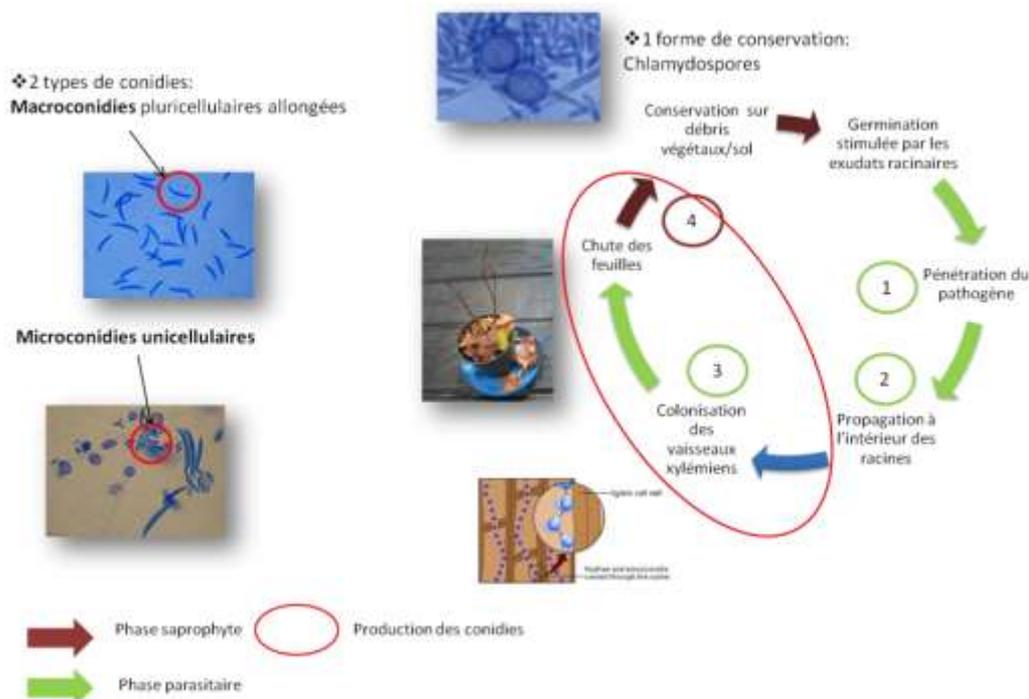


Fig. 9- Cycle de vie de *Fusarium oxysporum* (Marion Triolet, 2014).

II.2.3-La pathologie

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 (*Fusarium wilt*) causée par *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici (Fol)* Snyder et Hansen. et la pourriture des racines et du collet (*Fusarium crown and root rot*) causée par *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici (Forl)* Jarvis et Shoemaker (Katan *et 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). Ce derniers possède 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 bas 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 root rot)

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. *radicis- 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 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 (Verma *et 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 *Pythium oligandrum* est considérée comme non pathogène et a été utilisé comme agent de biocontrôle sur différentes cultures telles que la tomate, la vigne, le blé (Gerbore *et al.*, 2013, Darles, 2013).

II.2.4.4-La lutte physique

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 (Anchisi *et al.*, 1985), mais généralement, ni la solarisation ne sont pas des solutions efficaces à long terme (Corbaz, 1990).

II.2.4.5-La lutte chimique

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 repotage 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 presseurs (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, viroicide, 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 tris terpènes (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 biogénèse 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 coll., 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 coll., 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 coll (1998) et Ultee et coll (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 expérimental

Chapitre-I Matériels et Méthodes

I.1-Matériels

I.1.1-Souches fongiques

Les deux champignons utilisés dans ce travail sont des espèces fongiques responsables des pourritures grises et flétrissement, ils ont été choisis pour les dégâts considérables qu'ils causent aux cultures 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).

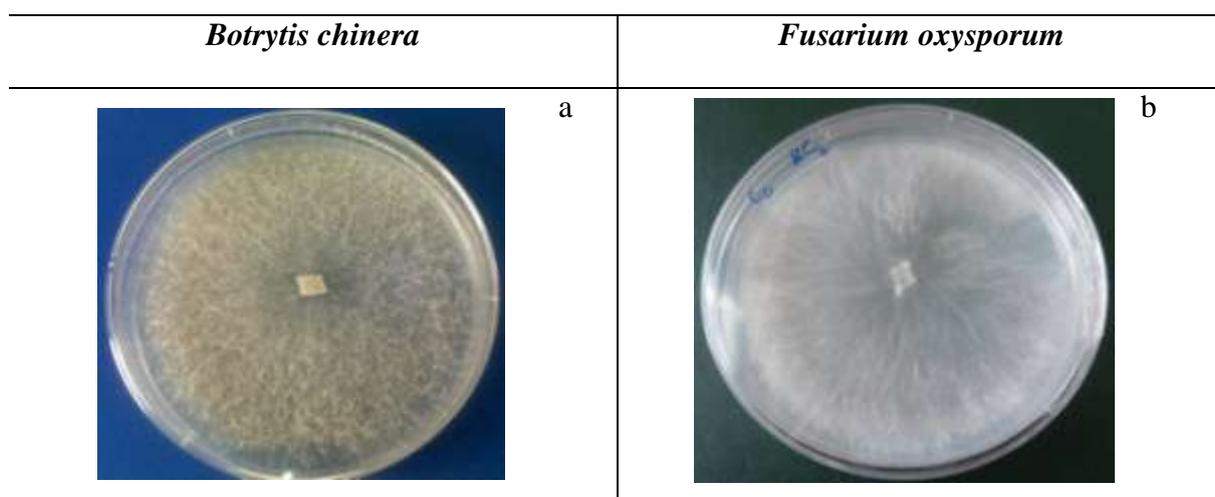


Fig.10- les deux champignons testés; (a) : *Botrytis cinerea* vue macroscopique
(b) : *Fusarium oxysporum* vue macroscopique

I.1.2-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.1.3 Matériel végétal et huiles essentielles

Nom vernaculaire	Famille	Espèce	Molécule
L'arbre à thé ou Tea tree	Myrtaceae	<i>Melaleuca alternifolia</i>	Terpinèn-4-ol : 30 à 48%
Clou de girofle	Myrtaceae	<i>Syzygium aromaticum</i>	Eugénol (72 à 84%)
Eucalyptus commun	Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i>	1,8 cineol, (69 à 80%)

I.2-Méthodes

I.2.1-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 %, 6% et 3%

I.2.2-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.

I.2.3-Méthodologie de test antifongique

I.2.3.1-Effet des huiles sur la croissance mycélienne

Méthode de contact direct

Dans les boîtes de Pétri, 200µl de chaque concentration des huiles préalablement préparée sont distribués distinctement sur des boîtes 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 7 j à 25 °C. Chaque essai est répété trois fois. Quotidiennement, 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

I.2.3.2-Effet des huiles sur la sporulation

L'activité antisporeuse des huiles essentielles a été étudiée sur des colonies fongiques âgées de 15 jours 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.

I.2.3.3-Effet des huiles essentielles sur le pouvoir germinatif des spores

L'activité antigerminative des huiles essentielles 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 des huiles essentielles 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 et par huile. 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 PI_g se fait selon la formule :

Le pourcentage d'inhibition de la germination : $PI_g (\%) = (1 - N_c / N_0) \times 100$

N_0 : Nombre des spores germées dans le témoin

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

I.2.4- 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

II.1-Résultats

II.1.1-Action des huiles essentielles sur la croissance mycélienne

II.1.1-a- Action des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*

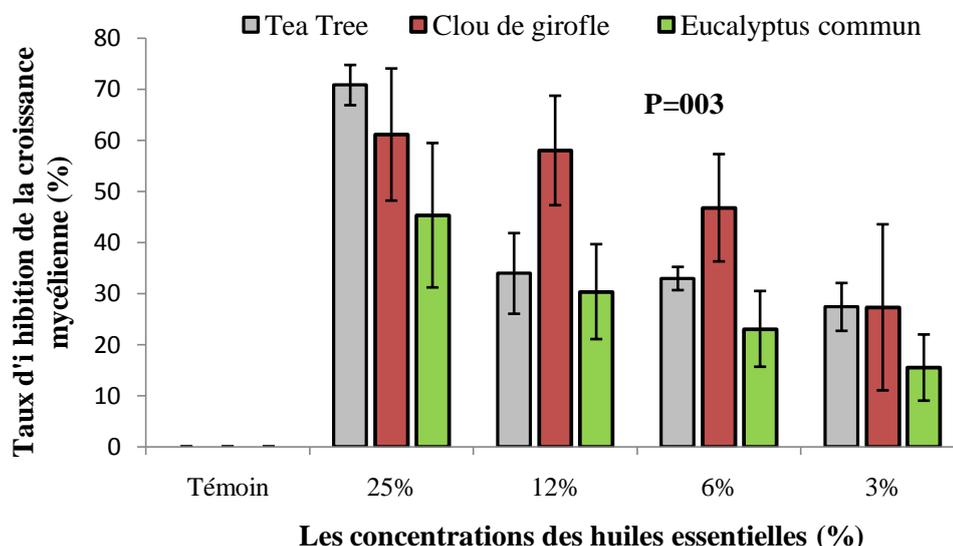


Fig. 11-Activité inhibitrice des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *B. cinerea*

L'activité antifongique des huiles essentielles des Tea tree, clou de girofle et Eucalyptus commun a été évaluée *in vitro* vis-à-vis de *Botrytis cinerea* ; elle est exprimée par le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne radiale (PIC %).

Les résultats indiqués dans la figure 11 montrent un pouvoir inhibiteur significatif ($P \leq 0,03$) sur la croissance mycélienne radiale remarquable par les trois huiles essentielles testées.

Il semble que le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour les trois huiles essentielles.

Concernant *Botrytis cinerea*, l'huile essentielle de Tea tree a donné des taux d'inhibition supérieurs à 80% pour des concentrations d'huile essentielle allant de 25%. Pour les concentrations 3, 6 et 12% les taux d'inhibition sont inférieurs à 50% (Figure 14).

Il semble d'après ces résultats que Tea tree a une CMI plus élevée (25%) par rapport aux autres huiles essentielles étudiées.

Pour l'huile essentielle de clou de girofle, 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%. En conséquence, cette huile essentielle affiche une CMI de **12%** vis-à-vis de *B.cinerea*

L'huile essentielle de Eucalyptus commun exerce une activité moyenne sur *B.cinerea* par rapport les autres huiles. Une inhibition de la croissance mycélienne de 45.32, 30.36, 23.07 et 15.49 % respectivement pour les concentrations 25, 12, 6 et 3%. Toutefois, il est à signaler que l'huile essentielle d'Eucalyptus commun a une CMI nettement élevé >25%.

II.1.1.b- Action des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum*

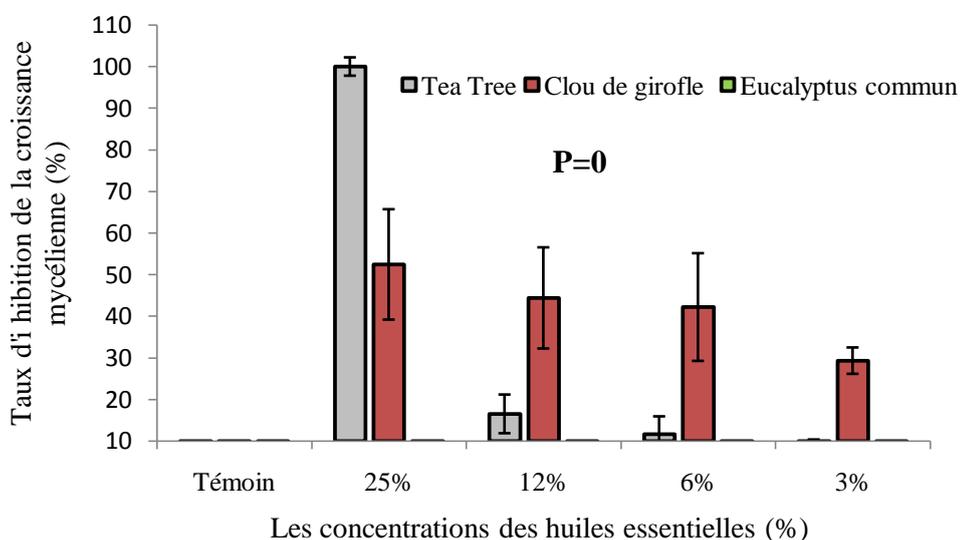


Fig.12- Activité inhibitrice des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *F. oxysporum*

Le résultat de la figure 12, montre qu'au bout de 4 jours de traitement, toutes les concentrations de l'huile testée montrent des effets non semblables à celle de témoin non traité (P=0).

L'analyse des résultats (Fig.12) relatifs à la croissance mycélienne chez *F. oxysporum* soumis à l'action de différentes concentrations des huiles essentielles testées nous permet de constater que l'huile essentielle de Tea tree exerce une action inhibitrice plus forte sur *F. oxysporum* avec un taux d'inhibition de 100% par rapport aux autres essences. Une réduction dans la concentration de l'huile essentielle entraîne une diminution dans le pouvoir inhibiteur de celle-ci. De manière générale, l'action des concentrations 12, 6 et 3% de Tea tree testées a permis d'avoir des taux d'inhibition allant respectivement de 16.52, 11.69 et 5.77%.

L'huile essentielle de clou de girofle affiche des CMI nettement élevées (25%) vis-à-vis de *F. oxysporum*. D'après ces résultats, il semble que cette huile essentielle à des concentrations allant de 3 à 12% a une activité antifongique plus efficace que celle de la Tea tree.

Pour Eucalyptus commun, les quatre concentrations ont donnés des taux d'inhibition très faibles. Tous les taux d'inhibition obtenus par Eucalyptus commun varient de 2.19 à 5.74 %.

F. oxysporum s'est révélé moins sensible à l'ensemble des concentrations testées sur le quel nous avons observés les plus faibles taux d'inhibition : il semble être résistant vis-à-vis de l'huile essentielle d'Eucalyptus commun.

II.1.2- Action des huiles essentielles sur la sporulation

II.1.2.a- Action des huiles essentielles sur la sporulation de *Botrytis cinerea*

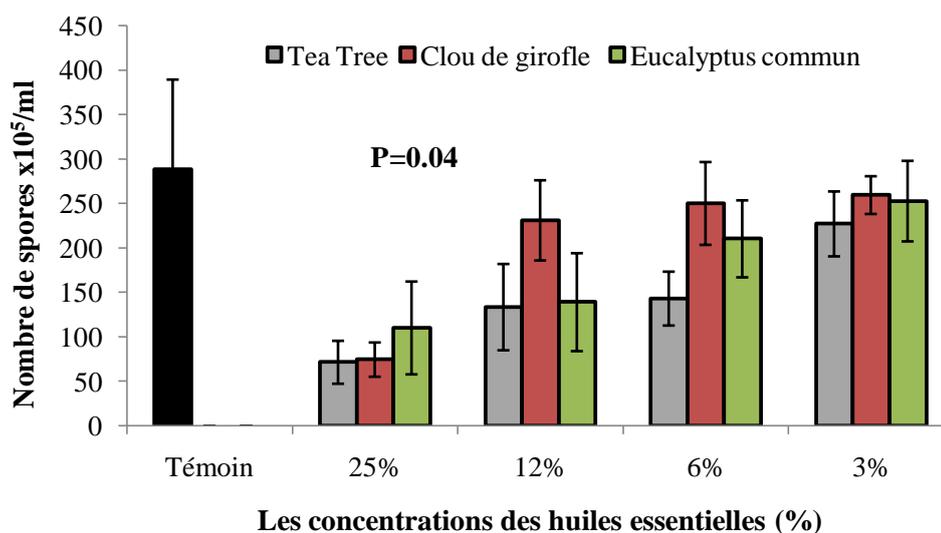


Fig.13- Activité antifongique des huiles essentielles sur la sporulation de *B.cinerea*

Tableau 4: Taux d'inhibition des huiles essentielles sur la sporulation de *B.cinerea*

Les huiles essentielles	Les concentrations des HE			
	25%	12%	6%	3%
Tea tree	75.17%,	53.67	50.43	21.22
clou de girofle	74.13	19.81	13.24	9.98
Eucalyptus commun	61.78	51.73	27.04	12.34

D'après l'analyse statistique, nous constatons que toutes les doses sont significativement différentes dans leurs effets sur la sporulation de *B. cinerea* ($P=0.04$).

Dans cette étude, l'efficacité antifongique des huiles essentielles sur *B. cinerea* ainsi que leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI) été déterminées (voir le tableau 4).

De manière générale, l'action de Tea tree sur la sporulation de *B.cinerea* testée a permis d'avoir des taux d'inhibition allant respectivement de 75,17, 53.67, 50.43 et 21.22% pour des concentrations 25, 12, 6 et 3%. Concernant *B. cinerea*, l'huile essentielle de Tea tree a donné un taux d'inhibition supérieur à 50% pour les différentes doses allant de 6 % à 25%. La valeur de la CMI est de 6%. La Tea tree s'est révélé la plus active sur *B. cinerea* avec des CMI inférieures à celles obtenues avec les HE de clou de girofle et Eucalyptus commun.

En ce qui concerne, clou de girofle des pourcentages d'inhibition de la sporulation sont 74.13, 19.81, 13.24 et 9.98% respectivement pour des concentrations 25, 12, 6 et 3% (Figure 8). A partir des résultats enregistrés dans le tableau, on trouve que la concentration minimale inhibitrice de clou de girofle est de 25%.

Pour Eucalyptus commun, les taux d'inhibition obtenus par Eucalyptus commun varient de 12.34 à 61.78%. En conséquence, la CMI de Eucalyptus commun sur la sporulation est 12%.

La plus faible CMI a été obtenue avec l'HE Tea tree (6%), tandis que la plus haute CMI a été obtenue par l'HE clou de girofle avec une concentration de (25%).

II.1.2.b- Action des huiles essentielles sur la sporulation de *Fusarium oxysporum*

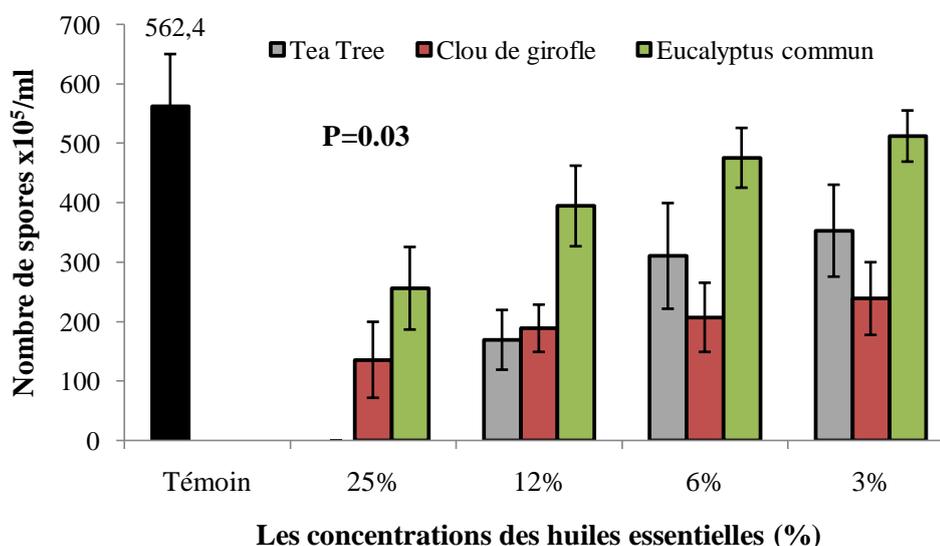


Fig.14- Activité antifongique des huiles essentielles sur la sporulation de *F. oxysporum*

Tableau 5: Taux d'inhibition des huiles essentielles sur la sporulation de *F. oxysporum*

Les huiles essentielles	Les concentrations des HE			
	25%	12%	6%	3%
Tea tree	100%	69.91%	44.8%	37.26%
Clou de girofle	75.88%	66.41%	63.18%	57.56%
Eucalyptus commun	54.48%	29.87%	15.46%	8.96%

Les résultats de l'inhibition de la sporulation par les huiles essentielles sont représentés dans le tableau. Comparés aux témoins, ils sont exprimés par le pourcentage d'inhibition de la sporulation (%). La sporulation sur PDA a été significativement ($P < 0.05$) inhibée par les trois huiles essentielles.

L'huile essentielle de Tea tree a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis de *F. oxysporum*. Le résultat montre que 25% d'huile Tea tree inhibe complètement la sporulation de *F. oxysporum*. L'action des concentrations 12, 6 et 3% de Tea tree testées a permis d'avoir des taux d'inhibition allant respectivement de 69.91, 44.8 et 37.26%. La CMI la plus faible a été obtenue par la concentration de 12%.

Les huiles essentielles de Clou de girofle enregistrent de forts pourcentages d'inhibition de la sporulation (75.88% à 100 %). La CMI relative au Clou de girofle est relativement plus faible par rapport aux autres huiles (3%).

La propriété antifongique d'huiles essentielle d'Eucalyptus commun est obtenue avec une CMI de 25%. Les taux d'inhibition étaient 54.48, 29.87, 15.46 et 8.96% pour les concentrations 25, 12, 6 et 3%, respectivement

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

D'après les taux d'inhibition générée par les huiles essentielles étudiées, l'huile essentielle de Tea tree présente la meilleure activité sur les deux souches testées.

II.1.3- La comparaison entre les activités des différents HE

Tableau 6 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles de Tea tree, clou de girofle et Eucalyptus commun

	Agents	Les huiles essentielles		
		Tea tree	Clou de girofle	Eucalyptus commun
Croissance mycélienne	<i>B.cinerea</i>	25%	12%	>25%
	<i>F.oxysporum</i>	25%	25%	>25%
Sporulation	<i>B.cinerea</i>	6%	25%	12%
	<i>F.oxysporum</i>	12%	3%	25%

La comparaison entre les effets des différents HE sur *Botrytis cinerea*, montre que Clou de girofle présente le meilleur effet inhibiteur de croissance mycélienne pour une CMI de 12%, suivi du Tea tree (25%) puis Eucalyptus commun (>25%) (Tableau). En revanche, le Tea tree, Clou de girofle et Eucalyptus commun présentent des CMI des croissances mycéliennes similaires sur *F.oxysporum*.

D'après les résultats du tableau, Tea tree s'est révélé la plus active sur la sporulation de *Botrytis cinerea* avec des CMI inférieures à celles obtenues avec les HE. Les CMI étaient évaluées à 6% contre Eucalyptus commun à 12% et Clou de girofle à 25%. En ce qui concerne *F.oxysporum*, la plus faible CMI a été obtenue avec l'HE de Clou de girofle (3%), tandis que la plus haute CMI a été obtenue par l'HE d'Eucalyptus commun (25%).

Discussion

L'activité antifongique des huiles essentielles de Tea tree, Clou de girofle et Eucalyptus commun 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 les huiles essentielles tant sur la sporulation que sur la croissance mycélienne des *F. oxysporum* et *B.cinerea*. D'après les taux d'inhibition générée par les huiles essentielles étudiées, l'huile essentielle de Tea tree exerce une action inhibitrice plus forte sur *F. oxysporum* avec un taux d'inhibition de 100% tandis que la même huile provoque un taux d'inhibition supérieurs à 80% pour *Botrytis cinerea*. L'activité biologique des huiles essentielles est probablement liée a une relation avec les groupes fonctionnels des composants, leurs proportions et l'interaction entre eux (Dorman et Deans, 2000 ; Marino et al. 2001 ; Delaquis et al. 2002).

En effet, le Tea tree que nous avons utilisé est riche en Terpinèn (Terpinèn-4-ol : 30 à 48%), le Clou de girofle est constituée principalement en Eugénol (72 à 84%) et le Eucalyptus commun à 69 à 80 % de 1,8-cinéole. Ainsi, selon leurs activités sur les deux phytopathogènes, ces huiles ont été classées dans l'ordre décroissant suivant : Tea tree > Clou de girofle > Eucalyptus commun.

L'huile de Tea tree a présente des propriétés insecticides, acaricides, répulsives (Walton et al., 2004; Iori et al., 2005; Callander et James, 2012), antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et analgésiques (Carson et Riley, 1993; Hart et Al., 2000; Hammer et al., 2004; Carson et al., 2006). Plusieurs études ont mentionné que l'activité antifongique est le résultat du synergisme ou l'antagonisme des divers composés d'huile essentielle de Tea tree (Langenheim, 2003). Le potentiel antimicrobien de Tea tree a été attribué à son principal composé (terpinène-4-ol), qui représente environ 40% de l'huile de *M. alternifolia* (Carson et al., 2006). Notre résultat est conforme à un travail précédent qui a montré que le terpinen-4-ol est le principal composant actif responsable de l'efficacité antimicrobienne de Tea tree (Cox et al., 2001).

La suppression de la croissance des champignons après le traitement avec de nombreuses huiles essentielles est associée à la dégénérescence des hyphes fongiques et des altérations dans le système endomembranaire (Romagnoli et al., 2005, Soyulu et al., 2006).

Tea tree peut induire des dommages à la membrane dans les cellules bactériennes et fongiques (Carson et al., 2002). Shao et al. (2013b) ont rapporté que la Tea tree

provoque des altérations mycéliennes, et une rupture du plasmalemme et la perte de cytoplasme dans *B. cinerea*.

L'évaluation de l'activité antifongique de ces huiles essentielles a révélé que leur taux d'inhibition varie selon plusieurs facteurs, dont la nature et la concentration de l'huile essentielle ainsi que de la souche fongique utilisée.

La présente étude a démontré également que Clou de girofle présente une faible concentration minimale inhibitrice sur la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* pour une CMI de 12%, suivi du Tea tree (25%) puis Eucalyptus commun (>25%). En revanche, le Tea tree, Clou de girofle et Eucalyptus commun présentent des CMI la plus élevées des croissances mycéliennes sur *F.oxysporum*.

À travers ces résultats, on peut suggérer que l'activité antifongique de clou de girofle est due principalement à son profil chimique riche en l'eugénol qui est très actif contre différents micro-organismes (Dorman & Deans, 2000 ; Guynot et al., 2003). Ces composés sont solubles dans les milieux aqueux et provoquent d'importants dégâts sur les parois cellulaires des microorganismes (Griffin et al., 1999 ; Hammer et al., 2003).

En effet, Neri et al. (2006) et Amiri et al. (2008) ont également rapporté que l'eugénol peut exercer, en fonction de sa concentration, une activité fongistatique ou fongicide sur *B. cinerea* et *P. expansum*. Les travaux de He et al. (2007) et Chami (2005) ont montré l'activité antifongique in vitro et in vivo de l'eugénol sur *Candida albicans*.

Ainsi, des études similaires ont montré que les huiles essentielles de *S. aromaticum* présentent des activités fongistatiques et fongicides sur *Colletotrichum musae* (agent de l'antracnose de la banane) et sur *Lasiodiplodia theobromae* responsable de la pourriture de la couronne du bananier (Ranasinghe et al., 2002).

Oliveira Pereira et al. (2013) montrent que l'activité Eugenol contre *Trichophyton rubrum* a également été évaluée et les résultats de cette étude ont montré que sept souches testées étaient inhibées par l'eugénol à 256 µg / ml. La même concentration a été capable d'inhiber la croissance mycélienne et la germination des conidies, provoquant des anomalies dans la morphologie (hyphes larges, courtes et tordues). Eugenol a également pu inhiber la croissance d'*Aspergillus terreus* et de *Fusarium avenaceum* à une concentration de 140 mg/l. La croissance de *F. oxysporum* a été entièrement inhibée à 150 mg/l, et 100 mg/l pour *Penicillium expansum*, *P. Glabrum*, *P. italicum*, *A. niger*.

L'activité antifongique de l'HE d'*Eucalyptus globulus* a été évaluée sur les deux champignons pathogènes. Les résultats obtenus prouvent les faibles propriétés inhibitrices de l'HE. Toutefois, il est à signaler que l'huile essentielle d'Eucalyptus commun a une CMI nettement plus élevée >25%. *F. oxysporum* s'est révélé moins sensible à l'ensemble des concentrations testées sur le quel nous avons observés les plus faibles taux d'inhibition.

Nos résultats sont conformes à ceux qui ont été obtenus par d'autres auteurs sur l'activité antimicrobienne de l'HE d'*Eucalyptus globulus*. Tyagi et al. (2010) ont obtenu une inhibition complète de la croissance de *C. albicans* à une concentration de 1750 mg/l. Précédemment, Djenane et al. (2011) ont montré que l'HE d'Eucalyptus possède une forte activité antibactérienne contre *E. coli*. Le même effet sur *A. alternata* et *P. expansum* a été montré par Hmiri et al. (2011). Cependant, l'HE d'*Eucalyptus*.sp de Chine a été inactive vis-à-vis d'*A. alternata* ; cette inactivité peut être attribuée à la composition chimique de cette huile (Feng et al., 2007).

D'après les résultats obtenus, Tea tree s'est révélé la plus active sur la sporulation de *B. cinerea* avec des CMI inférieures à celles obtenues avec les autres HE. Les CMI étaient évaluées à 6% contre Eucalyptus commun à 12% et Clou de girofle à 25%. En ce qui concerne *F.oxysporum*, la plus faible CMI a été obtenue avec l'HE de Clou de girofle (3%), tandis que la plus haute CMI a été obtenue par l'HE d'Eucalyptus commun (25%). 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.

Conclusion

L'activité antifongique des huiles essentielles a été réalisée sur deux champignons parasites de tomate ; *B.cinerea* et *F.oxysporum* par la méthode de contact direct et de macrodilution en milieu liquide. Les huiles essentielles ont montré une activité plus ou moins variée.

Pour la mise en évidence de l'activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles, les résultats obtenus mentionnent le grand pouvoir inhibiteur de l'huile essentielle de Tea tree sur la croissance mycélienne et la production des spores de *B.cinerea* et *F.oxysporum*

La présente étude a démontré également que Clou de girofle présente une faible concentration minimale inhibitrice sur la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*. En revanche, les trois HE présentent des CMI plus élevées sur *F.oxysporum*. Ainsi, selon leurs activités sur les deux phytopathogènes, ces huiles ont été classées dans l'ordre décroissant suivant : Tea tree > Clou de girofle > Eucalyptus commun.

L'huile essentielle de Tea tree a exercé une importante activité inhibitrice de la sporulation vis-à-vis de *F. oxysporum*. La CMI la plus faible a été obtenue par la concentration de 12%. Les huiles essentielles de Clou de girofle enregistrent de forts pourcentages d'inhibition de la sporulation (75.88% à 100 %). La CMI relative au Clou de girofle est relativement plus faible par rapport aux autres huiles (3%). La propriété antifongique d'huiles essentielle d'Eucalyptus commun est obtenue avec une CMI de 25%. Les taux d'inhibition étaient de 54.48, à 8.96% pour les concentrations de 3 à 25 %, respectivement.

Pour les deux paramètres étudiés, les variations de l'activité antifongique évaluées sont liées à plusieurs paramètres dont la nature et la concentration de l'HE, la méthode d'application ainsi que la souche fongiques utilisée.

À la lumière des résultats obtenus, le travail ouvre la voie à d'autres perspectives. Dans le but de proposer une formulation biofongicide commerciale et d'approfondir les recherches concernant les effets des facteurs environnementaux sur la capacité antifongique des huiles essentielles, il serait intéressant de compléter le travail plus particulièrement par :

- L'étude des facteurs influençant la composition biochimique des huiles essentielles à savoir, les facteurs environnementaux (la localisation géographique, le climat, la saison de collecte, les conditions de plantation et le milieu), les facteurs propres à la plante (le génotype, l'organe de prélèvement et les stades phénologiques) et les

conditions de conservation des huiles essentielles (température et durée de stockage).

- La prise en considération des conditions affectant le cycle de vie du champignon (température, pH, humidité et milieu de culture).
- L'étude de l'activité antifongique in vitro des huiles essentielles en fractions.

Références bibliographiques

- Abdelly C.**, 2006- Caractérisation des halophytes pour le dessalement des sols salins et le traitement des eaux salines. Rapport d'activités 2007. Centre de biotechnologie à la technopole de Borj-Cedria, Tunisie, pp. 28- 31.
- 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.
- Allakhverdiev. S.I., A.Sakamoto,Y.Nishiyama, M.Inaba, and N. Murata.,**2000-Ionic and osmotic effects of NaCl-induced activation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp.,” Plant Physiology,vol.123,no.3,pp.1047–1056,.
- Allen G. J., Muir S. R. and Sander-, D.**, 1995 - Release of Ca² from individual plant
- Amokrane.M.S.**, 2004-Etude de la variabilité de la germination sous stress salin chez quelques populations d'espèce de medicago.L, Thèse Ing Agro INA El Harrach.
- 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).
- Amtmann, A., et Leigh, R.**, 2010-Ion homeostasis.Chap. 12. Dans Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, molecular and genomic foundation. Sous la direction de A. Pareek, S.K. Sopory, H.J. Bohnert et Govindjee. p. 245–262.antiporters in the salt stress response. Plant J. 30: 529–539p.York.
- Apel, K. and Hirt, H.** (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of Plant Biology Vol. 55, pp. 373-399
- Apse, M.P., Aharon, G.S., Snedden, W.A., and Blumwald, E.**, 1999-Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺-antiport in Arabidopsis. Science, 285(5431):1256–1258. doi:10.1126/science.285.5431.1256. PMID:10455050.
- Arora., Jayant S Bhat., Amish Kumar Sureja., 2009- Effect of salt stress on cucumber: Na⁺/K⁺ ratio,osmolyte concentration, phenols and chlorophyll content Acta Physiol .Plant 32:103–114 DOI 10.1007/s11738-009-0385-1
- Ayres PG. 1984.** The interaction between environmental stress, injury, and biotic disease physiology. Annual Review in Phytopathology 22: 53–75.
- Bartels, D., and Sunkar, R.**, 2005-Drought and salt tolerance in plants.Crit. Rev. Plant Sci. 24(1) : 23–58. doi:10.1080/ 07352680590910410.

- Bekhouche H.**, 1992-Etude de la germination de quelques lignées de pois chiche soumis à la salinité, croissance, anatomie des racines. Thèse D.E.S. Biol. Université d'Oran. 68 P.
- Bernstein, L.** 1975. Effects of salinity and sodicity on plant growth. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 13 : 295-312.
- Besri, M. and Afailal, A.**, 1993. Effect of water salt content on the development of Verticillium wilt on resistant tomato cultivars. Proceedings of the 6th International Congress of Plant Pathology, July 28-August 6, Montréal, Canada.
- Blaich, R., Bachmann, O., and Stein, U.** Causes biochimiques de la résistance de la vigne à *Botrytis cinerea*. *Bulletin de l'OEPP* 12(2), 1982. 167-70.
- 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 éditions. pp. 679
- 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.
- Bondoux, P.**, 1992-Maladies de conservation des fruits à pépins: pommes et poires. INRA. Paris, France. 173 p.
- Boumaaza B, Benkhelifa M, and Belkhouidja M.**, 2015^a-Effects of Two Salts Compounds on Mycelial Growth, Sporulation, and Spore Germination of Six Isolates of *Botrytis cinerea* in the Western North of Algeria. *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Microbiology* Volume 2015, Article ID 572626, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/572626>
- Boumendjel M. & Boutebba A.**, 2001-Effet des traitements thermiques sur les antioxydants de la tomate. *Synthèse (Annaba)* 11:78-85
- Boyer, J.S.**, 1982-Plant productivity and environment. *Science*, 218: 443-448.
- Bozouk S.**, 1981-Effects of kinetine and salinity on germination of tomato barley and cotton seeds. *Annals of Botany* 48 : 81-84, in Abstract 8632, 51 (11).
- Brosché M., Merilo E., Mayer F., Pechter P., Puzõrjova I., Brader G., et al.**, (2010). Natural variation in ozone sensitivity among *Arabidopsis thaliana* accessions and

its relation to stomatal conductance. *Plant Cell Environ.* 33 914–925 10.1111/j.1365-3040.2010.02116

- Chartzoulakis K., Klapaki G.,** 2000- Response of two green house pepper hybridsto NaCl salinity during different growth stages. *Sci. Hortic.* 86, 247–260.
- Clark, C.A., and Lorbeer, J.W.,** 1977-Comparative nutrient dependency of *Botrytis squamosa* and *Botrytis cinerea* for germination of conidia and pathogenicity on onion leaves. *Phytopathology* 67: 212-218.
- 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.
- De Bary, A.** (1866). *Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten, und Myxomyceten.*
- De Miccolis Angelini, R. M., Habia, W., Rotolo, C., Pollastro, S., and Faretra, F.,**2010- Selection, characterization and genetic analysis of laboratory mutants of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) resistant to the fungicide boscalid. *Eur. J. Plant Pathol.* 128:185-199.
- Decognet, V., M. Bardin, Y. Trottin-Caudal, and P. C. Nicot.** 2009. Rapid change in the genetic diversity of *Botrytis cinerea* populations after the introduction of strains in a tomato glasshouse. *Phytopathology* 99 (2):185-193.
- Delphine et al.,** 1998-Salt tolerance and salinity effect on plants: review. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* Vol. 60, 349 p.
- Dik, A.J., and Elad, Y.,** 1999-Comparison of antagonists of *Botrytis cinerea* in greenhouse-grown cucumber and tomato under different climatic conditions. *European Journal of Plant Pathology* 105: 123-137.
- 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.

- Doehlemann, G., Berndt, P., and Hahn, M.,** 2006-Trehalose metabolism is important for heat stress tolerance and spore germination of *Botrytis cinerea*. *Microbiology* 152: 2625-2634.
- 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.
- Dutuit P., Pourrat Y., Dutuit J M** 1994-La notion de stress de la cellule à l'écosystème. *Sécheresse*, Vol. 5, N°. 1: 23- 31.
- Elad, Y. and Yunis, H.** (1993) Effect of microclimate and nutrients on development of cucumber gray mold (*Botrytis cinerea*). *Phytoparasitica* 21:257-268.
- 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.
- Elmer, P.A.G., and Michailides, T.J.,** 2004-Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine crops, p. 243-272, in: *Botrytis: biology, pathology and control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.
- 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.
- Flowers T J., Flowers S A.**, 2005-Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders? *Agricultural Water Management.* Vol.78, N°. 1-2: 15- 24.
- Flowers, T.J., Troke, P.F., and Yeo, A.R.**, 1977-The mechanisms of salt tolerance in halophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 28(1) : 89–121.
doi:10.1146/annurev.pp.28.060177.000513.
- Fravel, D.R** 2005-Commercialization and implementation of biocontrol. *Annual Review of Phytopathology* 43: 337-359.
- Gallais A., et Bannerot H.**, 1992-Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection. Ed. INRA. Paris.
- Gaxiola RA, Fink GR, Hirschi KD** (2002) Genetic manipulation of vacuolar proton pumps and transporters. *Plant Physiol* 129: 967–973
- Gilmour SJ, Sebolt AM, Salazar MP, Everard JD, Thomashow MF** (2000) Overexpression of the Arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation. *Plant Physiol* 124: 1854–1865
- Glenn EP, Brown JJ, Blumwald E: Salt tolerance and crop potential of halophytes.** *Crit Rev Plant Sci.* 1999, **18**: 227–255.
- Gregory.B.**, 2005-Écophysiologie de semis de conifères ectomycorhizés en milieu salin et sodique .Thèse de mémoire .Université Lava Canada .Chapitre 1.
- Grime, J. P.**, 1979-Plant strategies and vegetation processes. John Wiley & Sons, Chichester.
- 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.
- 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 graveolens* subsp. *odorus* (Schousb.) Greuter et *Asteriscus imbricatus* (Cav.) DC. Thèse de doctorat es Sciences Biologiques de Université Ibn Zohr d'Agadir.215p.
- Halitim A.**, 1988-Sols des régions arides d'Algérie. Office de Publications Universitaires, Alger: 39- 40.
- Hamdy A.**, 1999-Saline irrigation and management for a sustainable use. In: Advanced Short Course on Saline Irrigation Proceeding, Agadir: 152- 227.
- Harlan J. R.**, 1987. Les plantes cultivées et l'homme, éd. ACCT/CILF/PUF, , p. 299-300.
- Hasegawa P.M et al.**, 2000:Plant cellular and molecular responses to high salinity. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51, pp463-499.
- Hennebert GL.**, 1973-Botrytis and Botrytis-like genera. Persoonia 7: 183-204
- Hoekstra FA, Golovina EA, Buitink J.** Mechanisms of plant desiccation tolerance. Trends in Plant Sciences.2001;6:431–438
- Hofstetter, B.**, 1990-Nature's fungicides may banish Botrytis. New Farm, mai-juin 1990:31-32,41.
- Horie T et Schroeder JL.**, 2004 : Sodium transporters in plants. Diverse genes and physiological functions.PlantPhysiology pp2457-2462.
- Hubert J., Stejskal V., Munzbergova Z., Kubatova A., Vanova M. et Zdarkova E.**, 2005. Mites and fungi in heavily infested stores in the Czech Republic, J. Econ. Entomol., 97, 2144-2153.
- 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.
- ITCML.**, 1994-Guides pratiques. La culture de la tomate industrielle .A . Achabane, IMP Eloufak.
- Jarvis, W.R.** 1992. Managing diseases in greenhouse crops. American Phytopathological Society, St Paul, MN, 288 p.
- Jarvis, W.R.**, 1977-Botryotinia and Botrytis species: Taxonomy, Physiology, and Pathogenicity. Research Branch, Canada Department of Agriculture, Ottawa, Canada, p. 195.
- Jarvis, W.R.**, 1980-Epidemiology, 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.

- Kenfaoui.A.**, 1997-La salinité des eaux d'irrigation .Synthèse bibliographique réalisé par les élèves ingénieurs de l'école nationale du génie rural des eaux et des forets de Montpellier.
- Khales A et Baaziz M.**, 2006- Etude des peroxydases d'écotypes d'*Opuntia Ficus indica* L en relation avec le développement dans les conditions de stress salin. Congrès international de Biochimie, Agadir: pp. 133-136.
- Khalova J , Sairam R.K, Meena R.C, and Srivastava G.C.**,2009- Response of maize genotypes to salinity stress in relation to osmolytes and metal-ion contents,oxidative
- 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 cinerea* isolates from a vineyard in Germany. *J. Plant Dis. Prot.* 115, 214–219.
- Lasram.M.**, 1995-Salinity problems in the Mediterranean's area, Ed academie de Paris N°2, séances pecialisée du 22 mar 1995.
- Latigui A.**, 1984-Effects des différents niveaux de fertilisation potassique sur la fructification de la tomate cultivée en hiver sous serre non chauffée. Thèse de magister.INRA El-Harrach, Algérie.
- Le Houérou HN.**, 1986-Salt-tolerant plants of economic value in the Mediterranean basin. *Reclamation and Revegetation Research* 5, 319-341
- 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. Lyr, ed.), AgroConcept GmbH, Bonn, Germany 29–40.
- 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.
- Levigneron, A., Lopez, F., Vansuyt, G.**, 1995-Les plantes face au stress salin. *Cahiers Agricultures*, 4 : 263–273
- Liu, J., Ishitani, M., Halfter, U., Kim, C.S., and Zhu, J.K.**, 2000-The *Arabidopsis thaliana* SOS2 gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97(7) : 3730–3734. doi:10.1073/pnas.060034197. PMID:10725382.
- Longstreth DJ et Nobel PS.**, 1979-salinity effects on leaf anatomy. *plant Physical* .,63(4) :700-703
- Maas E. V et POSS J.A.**, 1989-Salt sensitivity of wheat at different growth stages. *Irrig.Sci.* pp29-40.
- MADR.**, 2009-Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural , Direction des Statistiques.62.
- Mahajan, S., Pandey, G.K., and Tuteja, N.**, 2008-Calcium- and salt- stress signaling in plants: Shedding light on SOS pathway. *Arch. Biochem. Biophys.* 471(2) : 146–158. doi:10.1016/j.abb.2008.01. 010. PMID:18241665.
- Maillard J.,2001-** Le point sur l'Irrigation et la salinité des sols en zone sahélienne. Risqueset recommandations. *Handicap International*. Novembre 2001, 34 p.
- Majumder, A.L., Sengupta, S., et Goswami, L.,2010-**Osmolyte regulation in abiotic stress.Chap. 16. Dans *Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, molecular and genomic foundation*. Sous la direction de A. Pareek, S.K. Sopory, H.J. Bohnert et Govindjee. p. 349–370.
- 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.
- Mashali.A, Suarez.D, L.Nabhan.H, Rabindra.R., 2005-**Integrated management for sustainable use of salt –affected soils .Rome: FAO Soils Bulletin, now printing.
- Mirzaei, S., E. M. Goltapeh, M. Shams-Bakhsh, N. Safaie, and M. Chaichi. 2009.** Genetic and phenotypic diversity among *Botrytis cinerea* isolates in Iran. *Journal of Phytopathology* 157 (7-8):474-482.

- Munns R.,2008**-Sodium excluding genes from durum wheat and sea barleygrass improves sodium exclusion of bread wheat. 2nd International Salinity Forum Salinity, water and society-global issues, local action.
- Munns, R., 2002**-Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.*,25: 239-250.
- Naika S., Jeude J.V.L., Goffau M., Hilmi M., Dam B.V.,2005**- Agrodoci 17, la cultura de la tomate, production, transformation et commercialisation Editor: Barbara van Dam / la culture de la tomate. 105 pages.
- 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.
- Ommamie. N., 2005**-Response of Amaranth to salinity stress. These of Ph.D.Horticulture.University of Pretoria.Chapter 1, p 5-20, chapter 6, P1.
- Omrani. A., 1993**-Evolution spatiale de la salinité et du CaCO₃ total et actif de l'horizon de surface dans les sols salés de H'MADNA (Relizane) .Thèse Ing ISA de Tiaret.
- 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.
- Orcutt D.M. & Nilsen E.T.,2000**-Physiology of plants under stress. John Wiley & Sons
- Pardo JM., Quintero FJ.,- 2002**-Plants and sodium ions : Keeping company with the enemy. *Genome Biol.* 3: 1017.1-1017.4p.
- Parent C., 2008**- Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes. C. R. Biologies pp 255-261.polytechnique fédérale de Lausanne, 23 p.
- 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.

- Pettigrew, W., Meredith, J.W. 1994**-Leaf gas exchange parameters vary among cotton genotypes. – Crop Sci. 34: 700-705,.
- Phillips, J.R., Oliver, M.J., et Bartels, D.,2002**-Molecular genetics of desiccation and tolerant systems. Dans Desiccation and survival in plants: Drying without dying. Sous la direction de M. Black et H.Pritchard. CAB International, Mol. Gen. Genet. p. 319–341
- Pilkington L.J, Messelink G, van Lenteren J.C & Le Mottee C., 2009**-Protected biological control”. Biological pest management in the greenhouse industry. Biological Control (Online First). doi:10.1016/j.biocontrol.2009.05.022.
- Price A.H. et Hendry G.A.F.,1991**-Iron-catalysed oxygen radical formation and its possible contribution to drought damage in nine native grasses and three cereals. Plant Cell Environ.14:477-484.
- Regragui, A.,2005**-Contribution à l'étude de l'influence de la salinité sur le couple tomate – Verticillium : Conséquences physiologiques et impact sur la bioprotection des tomates contre la verticilliose. Thèse de doctorat es Sciences Biologiques de Université Mohammed V- Agdal.231p.
- Rhodes D.,1987**-Metabolic responses to stress. In: The biochemistry of plants, 12, Physiology of metabolism, Davis D.D, ed., Acad. Press., pp:201-241.
- Rhodes, D., Nadloska-Orczyk, A., et Rich, P.J.,2002**-Salinity, osmolytes and compatible solutes. Dans Salinity: environment- plants-molecules. Sous la direction de A. Lauchli et U. Luttge. Kluwer, Boston. p. 181–204.
- Rick , C. M., 1976**-Tomato *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). Evolution of Crop Plants. N. W. Simmonds, Longman: 268-273.
- Rick, C.M., J.W. DeVerna, and R.T. Chetelat. (1990). Experimental introgression to the cultivated tomato from related wild nightshades. pp. 19-30. In: A.B. Bennett and S.D. O'Neill (eds.). Horticultural Biotechnology, Wiley-Liss, N.Y.
- 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.
- Schwartz. C., 2007**-Salinisation des sols : processus, causes, effets et gestions des sols salés .Diapositif.
- Shankara N., Van lidt de jeud J., de Goffau M., Hilmi M., Van Dam B. et Florijin. A.** (2005). La culture de la tomate : production, transformation et comercialisation. 5eme (ed).foundation agromisa et CTA, Wageningen.
- Shi, H., Ishitani, M., Kim, C., and Zhu, J.K.,2000**-The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 97(12) : 6896–6901.doi:10.1073/pnas.120170197. PMID:10823923.
- 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.
- Snoussi S. A., 2010**- Etude de base sur la tomate en Algérie. Rapport de mission Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient. Rome, 52 p.
- Snow, D., 1949**-The germination of mould spores at controlled humidities. Annals of Applied Biology 36: 1-13.
- 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.
- Standaert, J.Y., 1975**. Influence de la force ionique et du rapport Na/Ca du milieu sur la sensibilité de la tomate à la fusariose vasculaire. Thèse de Docteur en Sciences Agronomiques, Université Catholique de Louvain, 77p
- Streeter J.G., Lohnes D.G. & Fioritto R.J. 2001**. Patterns of pinitol accumulation in soybean plants and relationships to drought tolerance. Plant Cell Environ. 24: 429–438 stress and antioxidant enzymes activity. BIOLOGIA PLANTARUM 53 (2): 249- 256.

- Sudhir, P. and S.D.S. Murthy**, 2004. Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica*, 42: 481-486.
- Taji T, Ohsumi C, Iuchi S, Seki M, Kasuga M, Kobayashi M, Yamaguchi ShinozakiK, Shinozaki** . Important roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 2002;29:417-426.
- Tausz M, Sircelj H, Grill D (2004)** The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: is a stress-response concept valid? *J Exp Bot* 55:1955–1962
- Tester, M. and Davenport, R., 2003 - Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Ann. Bot.* 91,503-527.
- Tester, M., and Davenport, R.J.,2003**-Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Ann. Bot. (Londres.)*, 91(5) : 503–527.doi:10.1093/aob/mcg058.PMID:12646496.
- 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. Leroch, 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.
- 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. Bot.*, 82, 703–710.
- Yancey, P.H., Clark, M.E., Hand, S.C., Bowlus, R.D., and Somero, G.N.,1982**-Living with water stress: evolution of osmolyte systems.*Science*, 217(4566) : 1214–1222. doi:10.1126/science.7112124.PMID:7112124.

- Yedida I, Benhamou N & Chet I, 1999**-Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. Applied and Environmental Microbiology 65 : 1061-1070.
- Yin, Y.N., Kim, Y.K., and Xiao, C.L.,2011**-Molecular characterization of boscalid resistance in field isolates of *Botrytis cinerea* from apple. Phytopathology 101, 986-995.
- Yoshida, Y., Nanjo, T., Miura, S., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Shinozaki, K.,-1999**.Stress-responsive and developmental regulation of P5CS1 gene expression in *Arabidopsis thaliana*.Biochem.Biophys. Res. Commun. 261 : 766-772. doi:10.1006/bbrc.1999. 1112. PMID:10441499.
- Zhu, J.K.,2002**-Salt and drought stress signal transduction in plants. Annu. Rev. Plant Biol. 53(1) : 247-273. doi:10.1146/annurev. arplant.53.091401.143329. PMID:12221975.
- Zhu, J.K.,2003**-Regulation of ion homeostasis under salt stress.Curr.Opin. Plant Biol. 6(5) : 441-445. doi:10.1016/S1369-5266(03)00085-2. PMID:12972044.
- Zid E., Grignon C., 1991**-Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydrique. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux m
- Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of Plant Biology Vol. 55, pp. 373-399
- 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.

ANNEXES

ANNEXE 1 : les tableaux analyses de variances

Activité antifongique des huiles essentielles 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	40359,7	74	545,401				
VAR.FACTEUR 1	3202,488	2	1601,244	16,378	0		
VAR.FACTEUR 2	28690,6	4	7172,649	73,363	0		
VAR.INTER F1*2	2600,449	8	325,056	3,325	0,00334		
VAR.RESIDUELLE 1	5866,164	60	97,769			9,888	31,39%

Activité antifongique des huiles essentielles 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	58051,11	74	784,474				
VAR.FACTEUR 1	12946,04	2	6473,018	169,561	0		
VAR.FACTEUR 2	22872,55	4	5718,137	149,787	0		
VAR.INTER F1*2	19942,02	8	2492,752	65,298	0		
VAR.RESIDUELLE 1	2290,512	60	38,175			6,179	29,20%

Activité antifongique des huiles essentielles sur sporulation de *B.cinerea*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1420527	74	19196,31				
VAR.FACTEUR 1	361530,5	4	90382,63	5,466	0,00087		
VAR.FACTEUR 2	28992,38	2	14496,19	0,877	0,42427		
VAR.INTER F1*2	37820,5	8	4727,563	0,286	0,04732		
VAR.RESIDUELLE 1	992183,3	60	16536,39			128,594	64,97%

Activité antifongique des huiles essentielles sur sporulation de *F. oxysporum*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	3612515	74	48817,76				
VAR.FACTEUR 1	1522457	4	380614,3	16,328	0		
VAR.FACTEUR 2	468596,3	2	234298,1	10,051	0,00022		
VAR.INTER F1*2	222866,8	8	27858,34	1,195	0,031707		
VAR.RESIDUELLE 1	1398595	60	23309,91			152,676	46,48%