

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



MÉMOIRE

Présenté par

MISSOUM Oumaima

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Génétique

Thème

Etude des maladies cryptogamiques de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.) dans la région de Tafna (W. de Tlemcen)

Soutenu le 24/06/2024, devant le jury composé de :

Président	GAOUAR S. B. S.	Pr.	Université Abou Bekr Belkaid- TLEMCEM
Encadreur	CHOUIKHI-SMAHI H.	MCA	Université Abou Bekr Belkaid- TLEMCEM
Examineur	BELHOUCINE-GUEZOULI L.	Pr.	Université Abou Bekr Belkaid- TLEMCEM

Année universitaire 2023/2024

ملخص: دراسة الأمراض الفطرية للطماطم (*Solanum lycoperscium* L.) بمنطقة تافنة (غرب تلمسان) أجريت هذه الدراسة بهدف عزل وتشخيص وتوصيف الفطريات المسببة للأمراض النباتية المرتبطة بأمراض محاصيل الطماطم (*Solanum lycoperscium* L.) بمنطقة تافنة (ولاية تلمسان).

طريقتين (02) للعزل المباشر كانت قد استخدمت على 45 عينة مأخوذة من نباتات الطماطم التي ظهرت عليها الأعراض. تم أخذ العينات من الجزء الهوائي والترابي للنبات. أظهرت النتائج المتحصل عليها وجود نباتات فطرية متنوعة على المستوى النوعي والكمي. أكد التحليل العياني والمجهري للسلاسل المعزولة وجود ثلاثة عشر نوعاً فطرياً (13) تنتمي إلى أجناس مختلفة وهي:

Botrytis cinerea, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor racemosus*, *Alternaria solani*, *Alternaria tomatophila*, *Asp. fumigatus*, *Asp. niger*, *Peni. solitum*, *Peni. communeon*, *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*.

يختلف معدل السلاسل الفطرية المعزولة من نوع إلى آخر، اعتماداً على العضو المأخوذ (الساق، الأوراق أو الغلاف الجذري) و الأنواع الفطرية نفسها.

سجل نوع *Alternaria tomatophila* (فطري مسبب لمرض اللحة المبكرة) في هذه الدراسة بأعلى معدل تواجد (15%)، و قد يعود هذا الظهور القوي إلى سهولة انتشار أبواغ هذا الفطر أو للظروف البيئية التي تتوافق مع ظروف تطور الفطر. الكلمات المفتاحية: الطماطم ، فطري ، منطقة تافنة، عزل.

Résumé : Etude des maladies cryptogamiques de la tomate (*Solanum lycoperscium* L.) dans la région de Tafna (W. de Tlemcen)

La présente étude a été effectuée dans un but d'isoler, identifier et caractériser les champignons phytopathogènes associés aux maladies cryptogamiques des cultures de la tomate (*Solanum lycoperscium* L.) dans la région de Tafna (W. Tlemcen).

Deux (02) méthodes d'isolement directe ont été utilisé sur 45 échantillons prélevés à partir des plantes symptomatiques de la tomate. Les prélèvements s'effectuent sur la partie aérienne et souterraine de la plante. Les résultats obtenus ont révélé la présence d'une flore fongique diversifiée sur la plan qualitative et quantitative. L'analyse macroscopique et microscopique des souches isolées, nous a confirmé la présence de treize espèces fongiques (13), appartenant aux différents genres à savoir : *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor racemosus*, *Alternaria solani*, *Alternaria tomatophila*, *Asp. fumigatus*, *Asp. niger*, *Peni. solitum*, *Peni. communeon*, *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum*.

La fréquence des souches fongiques isolées, variée d'une espèce à une autre, selon l'organe de prélèvement (Tige, feuilles ou rhizosphère), et l'espèce fongique elle-même. L'espèce *Alternaria tomatophila* (agent pathogène de l'alternariose) a été signalé dans la présente étude avec le taux de présence le plus élevé (15%). Cette forte présence peut être due à la facilité de dispersion de spores du champignon ou par les conditions environnementales qui s'accordent avec les conditions de développement du champignon.

Mots clés : Tomate (*Solanum lycoperscium* L.), champignons, région de Tafna, isolement.

Summary: Study of cryptogamic diseases of tomato (*Solanum lycoperscium* L.) in the Tafna region (W. of Tlemcen)

The present study was carried out with the aim of isolating, identifying and characterizing phytopathogenic fungi associated with cryptogamic diseases of tomato crops (*Solanum lycoperscium* L.) in the Tafna region (W. Tlemcen). Two (02) direct isolation methods were used on 45 samples taken from symptomatic tomato plants. The samples are taken from the aerial and underground part of the plant. The results obtained revealed the presence of a diverse fungal flora on a qualitative and quantitative level. The macroscopic and microscopic analysis of the isolated strains confirmed the presence of thirteen fungal species (13), belonging to different genera, namely: *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor racemosus*, *Alternaria solani*, *Alternaria tomatophila*, *Asp. fumigatus*, *Asp. Niger*, *Peni. solitum*, *Peni. communeon*, *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum*.

The frequency of isolated fungal strains, varied from one species to another, depending on the organ taken (stem, leaves or rhizosphere), and the fungal species itself. The species *Alternaria tomatophila* (early blight pathogen) was reported in the present study with the highest presence rate (15%). This strong presence may be due to the ease of dispersal of fungus spores or to environmental conditions that match the development conditions of the fungus.

Key words: Tomato (*Solanum lycoperscium* L.), fungi, Tafna region, isolation

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude en premier lieu envers ALLAH, qui nous a accordé la patience et la force nécessaires pour mener à bien ce modeste travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Dr. CHOUIKHI-SMAHI Hadjer pour avoir accepté de diriger ce travail, et pour avoir participé activement à la correction de ce Manuscrit. Ses compétences techniques, son efficacité et surtout sa rigueur ont fortement contribué à la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à Pr. GAOUAR Suheil Bechir Semir pour sa disponibilité, sa patience et ses précieux conseils qui ont grandement contribué à enrichir notre formation. Un grand merci d'avoir accepté de présider ce jury.

Je remercie également Pr. GUEZOULI-BELHOUCINE Latifa, qui a bien voulu examiner ce travail.

Je tiens également à rendre hommage à Monsieur le directeur de labo N°31 Gestion Conservatoire de l'eau, sol et forêts : Pr. Mostefai Noureddine, ainsi que son équipe particulièrement Mme. MAAZOUZ-BENFRIHA Sarra.

Mes remerciements vont également à toute l'équipe de Laboratoire de mycologie, Pôle Microbiologie, particulièrement à Mme Amrani Nazha.

Enfin, j'exprime ma gratitude à l'ensemble des professeurs et intervenants de l'université Abou Bekr Belkaid, Département de Biologie, dont les conseils et les critiques ont guidé nos réflexions, ainsi qu'aux personnes qui ont accepté de mon rencontrer, de répondre à mes questions et de faciliter mes recherches.

Merci à vous !

{وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ}

Celui qui dit : "Je l'ai, l'obtenue".

Le voyage n'a pas été court, il n'aurait pas dû l'être, le rêve n'était pas à portée de main et la route n'était pas facile, mais je l'ai fait et je l'ai obtenu.

Alhamdulillah, merci, amour et gratitude à Dieu, grâce à qui je regarde aujourd'hui un rêve longtemps attendu qui est devenue une réalité dont je suis fier.

À mon ange pur, ma force après Dieu, mon premier et éternel soutien "ma mère", je te dédie cette réalisation qui, sans tes sacrifices, n'aurait pas existé, reconnaissant à Dieu de t'avoir choisie parmi les êtres humains, car tu es le meilleur soutien et la meilleure compensation.

Au propriétaire d'une biographie parfumée et d'une pensée éclairée, au propriétaire d'un visage aimable et de bonnes actions, qui ne m'ont pas épargné tout au long de sa vie, j'aurais aimé être parmi les personnes présentes, que Dieu ait pitié de toi et t'accorde le paradis le plus élevé (Mon père).

À ceux qui m'ont dit : " سَتَشُدُّ عَضُدَكَ بِأَخِيكَ ", mes frères, que Dieu vous garde comme une côte constante pour moi.

À celle qui a cru en mes capacités et en la sécurité de mes jours, ma sœur Hafida.

À celles qui me rappellent ma force et se tiennent derrière moi comme mon ombre, mes sœurs Malika et Zawawiya.

A mes sœurs de cœur : Siham, Ikram, Wissam, Rawnak et Roumaissa. J'ai la chance de vous avoir dans ma vie.

Un grand remerciement à mes amis qui m'ont aidé : Islem, Imane, Khalida, khalissa et Mohamed.

A mes copines qui j'ai été réuni par l'université et la résidence universitaires : Meryem, Fatima, Chaimaa, Asmaa.

Un dédicace spéciale à ma cousine Fatma une femme en or un grand chapeau pour vous.

Toute la famille : MISSOUM, BENKADDOUR, ZOUDJI, MESLEM et DAHMANI.

Abréviation

ADN : Acide Desoxyribonucléique

C° : degré Celsius.

cm : centimètre

cm² : centimètre carrée

FAO : Organisation of Food and Agriculture

°F : Fahrenheit

g : Gramme

h : heure

ha : hectare

ITS : Internal Transcribed Spacers

Km : Kilomètre

L : litres

m : mètre

mg : milligramme

ml : millilitre

MEA : Malt Extract Agar

Mpb : Mega base pairs

PDA : milieu à la pomme de terre

PCR : Polymerase Chain Reaction

pH : Potentiel hydrogène

CR : Polymerase Chain Reaction

sp. : Espèce

T° : Température

µm : Micromètre.

φ: Diamètre.

% : Pourcent

Table des matières

Titre	Pages
Introduction	1
Chapitre I : Généralités sur la tomate	2
I.1. Origine et historique	2
I.2. Classification botanique	3
I.3. Classification variétale	4
I.3.1. Les variétés déterminées	4
I.3.2. Les variétés indéterminés	5
I.3.3. Les variétés buissonnantes	5
I.4. Utilisation de la tomate	6
I.5. Valeur nutritionnelle	6
I.6. Importance économique	7
I.6.1. Dans le monde	7
I.6.2. En Algérie	8
I.7. Description botanique	9
I.7.1. L'appareil végétatif	9
I.7.1.1. Le système racinaire	9
I.7.1.2. La tige	10
I.7.1.3. Les feuilles	10
I.7.2. L'appareil reproducteur	11
I.7.2.1. Les fleurs	11
I.7.2.2. Les fruits	12
I.7.2.3. Les graines	12
I.8. Description génétique	12
I.9. Le cycle biologique de la tomate	13

TABLE DES MATIERES

I.9.1. La germination	14
I.9.2. La croissance	14
I.9.3. La floraison	14
I.9.4. La pollinisation	14
I.9.5. La fructification et la nouaison des fleurs	15
I.9.6. La maturation du fruit	15
Chapitre II : Les maladies cryptogamiques	16
II.1. La pourriture grise de la tomate	16
II.1.1. Généralité sur la maladie	16
II.1.2. L'agent causal « <i>Botrytis cinerea</i> »	16
II.1.3. Le cycle d'infection de <i>B. cinerea</i>	17
II.1.4. Symptômes et éléments de diagnostic	18
II.1.5. Facteurs de développement	19
II.1.6. La lutte contre <i>B. cinerea</i>	20
II.2. L'alternariose	20
II.2.1. Généralité sur la maladie	20
II.2.2. L'agent causal « <i>Alternaria sp.</i> »	21
II.2.3. Le cycle d'infection d' <i>Alternaria sp.</i>	21
II.2.4. Symptômes et éléments de diagnostic	22
II.2.5. Facteurs de risques	22
II.2.6. La lutte contre l'alternariose	23
II.3. Fusariose	23
II.3.1. Généralité sur la maladie	23
II.3.2. L'agent causal « <i>Fusarium sp.</i> »	23
II.3.3. Le cycle d'infection de <i>Fusarium sp.</i>	24
II.3.4. Symptômes et éléments de diagnostic	25

TABLE DES MATIERES

II.4. L'oïdium de la tomate	25
II.4.1. Généralité sur la maladie	25
II.4.2. L'agent causal « <i>Oidium neolycopersici</i> »	26
II.4.3. Symptômes et éléments de diagnostic	26
II.4.4. Morphologie et développement de l'agent pathogène	27
II.5. Le Mildiou	28
II.5.1. L'agent causal « <i>Phytophthora infestans</i> »	28
II.5.2. Symptômes et éléments de diagnostic	29
II.5.3. Le cycle d'infection de <i>P. infestans</i>	30
II.6. Méthodes moléculaires pour la caractérisation des champignons phytopathogènes	31
II.6.1. Méthodes basées sur l'analyse des protéines	32
II.6.2. Méthodes basées sur l'analyse de l'ADN	32
Chapitre III : Matériels et méthodes	31
III.1. Zone d'étude	35
III.1.1. Description de la zone d'étude	35
III.2. Problématique d'étude	36
III.3. Prospection et échantillonnage	36
III.3.1. Le choix de site prospecté	36
III.3.2. Méthodes d'échantillonnage	37
III.3.2.1. Partie aérienne (Feuilles et tige)	37
III.3.2.2. Partie souterraine (Sol et racines)	37
III.3.3. Isolement, purification et identification des endophytes fongiques	38
III.3.3.1. Milieux de cultures utilisés	38
III.3.3.1.1 Milieu PDA (Potatos Dextrose Agar)	38
III.3.3.1.2. Milieu MEA (Malt Extract Agar)	39

TABLE DES MATIERES

III.3.3.1.3. Milieu Agar –Agar	39
III.3.3.2. Technique d'isolement directe (partie aérienne)	39
III.3.3.3. Technique de suspension dilution (partie sol)	40
II.3.3.4. Identification des souches fongiques isolées	41
III.3.3.5. Caractérisation des espèces	42
III.3.3.5.1. Test de température	42
III.3.3.5.2. Test d'antagonisme	43
III.3.3.5.3. Conservation des souches par congélation	44
III.3.4. Etude statistique	45
IV. Résultats et discussion	46
IV.1. Symptomatologie	46
IV.2. Importance des endophytes fongiques chez les plantes de la tomate	47
IV.2.1. La microflore associée aux plantes de la tomate infectées	48
IV.2.2. Etude statistique	53
IV.2.2.1. L'analyse des correspondances multiples (ACM) avec Factoshiny	53
IV.2.2.2. Test de Mann-Whitney	54
IV.2.2.3. L'indice de diversité de Shannon et Weaver et d'équitabilité de Pielou	54
IV.3. Identification et caractérisation de la flore fongique associées aux plantes de la tomate	55
IV.3.1. <i>Aspergillus Niger</i>	55
IV.3.2. <i>Aspergillus fumigatus</i>	56
IV.3.3. <i>Penicillium</i> sp.	57
IV.3.4. <i>Penicillium solitum</i>	58
IV.3.5. <i>Penicillium communeon</i>	59

TABLE DES MATIERES

IV.3.6. <i>Fusarium solani</i>	60
IV.3.7. <i>Fusarium</i> sp.	61
IV.3.8. <i>Fusarium oxysporum</i>	62
IV.3.9. <i>Alternaria solani</i>	63
IV.3.10. <i>Alternaria tomatophila</i>	64
IV.3.11. <i>Rhizopus stolonifer</i>	65
IV.3.12. <i>Mucor racemosus</i>	66
IV.3.13. <i>Botrytis cinerea</i>	67
IV.3.14. Test d'antagonisme	68
Conclusion et perspectives	70
Références bibliographiques	72
Annexe	

Figures	Pages
Figure 1 : (A) Plant de tomate naine (cv Red Robin) à croissance déterminée, cultivé en pot.	5
Figure 2 : Évolution de la production mondiale de la tomate	6
Figure 3 : Évolution de la superficie récoltée des cultures de tomates dans le monde	8
Figure 4 : Évolution de la superficie récoltée des cultures de tomates en Algérie	8
Figure 5 : Évolution de la production de tomate en Algérie	9
Figure 6 : Évolution des rendements des cultures de tomates en Algérie	9
Figure 7 : Système racinaire de la tomate	10
Figure 8 : Tige de tomate	10
Figure 9 : Feuille de tomate	11
Figure 10 : La fleur de tomate à l'anthèse	11
Figure 11 : Jeune tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>), coupe transversale (x4)	12
Figure 12 : Les triplications du génome entier ouvrent la voie à la néofonctionnalisation des gènes spécifiques aux fruits	13
Figure 13 : Le cycle de développement de <i>Botrytis cinerea</i> sur différentes cultures	18
Figure 14 : Infection de la tomate par <i>Botrytis cinerea</i>	19
Figure 15 : Cycle épidémique d' <i>Alternaria</i> sp. sur la plante de tomate	22
Figure 16 : Le cycle d'infection de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	24
Figure 17 : Les symptômes de la pourriture racinaire de la plante de tomate (<i>Fusarium</i> sp.)	25
Figure 18 : Symptômes de l'infection par l'oïdium de la tomate (<i>O. neolycopersici</i>) sur <i>S. lycopersicum</i> sensible.	26
Figure 19 : Le champignon de l'oïdium de la tomate « <i>Oidium neolycopersici</i> ».	28
Figure 20: Infection de la tomate par <i>Phytophthora infestans</i>	30
Figure 21 : Cycle de vie de <i>Phytophthora infestans</i> divisé en cycles sexuel et asexuel.	31

Figure 22 : La carte et la région géographique de la région étudiée	36
Figure 23 : Prélèvement des échantillons (Partie aérienne et souterraine)	38
Figure 24 : Préparation des échantillons de la partie aérienne	40
Figure 25 : Le protocole de la méthode de suspensions-dilutions	40
Figure 26 : La méthode de suspensions-dilutions	41
Figure 27 : Test de température	43
Figure 28 : Test d'antagonisme	44
Figure 29 : La conservation des souches pures	45
Figure 30 : Symptomatologie observées sur les plantes de la tomate	47
Figure 31 : L'effectif des endophytes fongiques dans les cultures de la tomate.	52
Figure 32 : Un cercle représente le pourcentage de chaque espèce identifiée	52
Figure 33 : Graphe de corrélation de l'ACM	53
Figure 34 : <i>Aspergillus niger</i>	56
Figure 35 : <i>Aspergillus fumigatus</i>	57
Figure 36 : <i>Penicillium</i> sp.	58
Figure 37 : <i>Penicillium solitum</i>	59
Figure 38 : <i>Penicillium communeon</i>	60
Figure 39 : <i>Fusarium solani</i>	61
Figure 40 : <i>Fusarium</i> sp.	62
Figure 41 : <i>Fusarium oxysporum</i>	63
Figure 42 : <i>Alternaria solani</i>	64
Figure 43 : <i>Alternaria tomatophila</i>	65
Figure 44 : <i>Rhizopus stolonifer</i>	66
Figure 45 : <i>Mucor racemosus</i>	67
Figure 46 : <i>Botrytis cinerea</i>	68
Figure 47 : Test d'antagonisme des deux espèces : <i>Alternaria tomatophila</i> et <i>Fusarium</i> sp. après 5 jours d'incubation à 25 °C	69

Tableaux	Pages
Tableau 1 : Teneur de la tomate en éléments nutritifs « pour 100g ».	6
Tableau 2 : Taxonomie des champignons isolés	48
Tableau 3 : l'isolement des espèces fongiques à partir des plantes infectées de la tomate dans la région de Tafna	49
Tableau 4 : les moyennes, écart type, minimum, maximum et médiane des 3 caractères qualitatif et caractère quantitatifs étudiés de la population fongique isolées.	54
Tableau 5 : la diversité génétique de Shannon et Weaver et d'équitabilité de Pielou.	55

Introduction

La tomate est une variété de légumes abordables qui fait partie intégrante de nombreux plats préparés par les populations. Son fruit est charnu et est couramment consommé frais ou transformé dans de nombreux pays. Étant donné son intérêt économique, la tomate fait l'objet de nombreuses études scientifiques et est perçue comme une plante modèle pour les études sur les fruits charnus (Chanforan, 2010).

La tomate est le fruit, légume le plus cultivé en Afrique, mais elle est sujette à de nombreuses attaques parasitaires et ravageuses, ainsi qu'à des maladies causées par des champignons endophytes. La tomate demeure donc extrêmement difficile à cultiver en période humide et il est préférable de la cultiver en période sèche (Courchinoux, 2008).

Plus de 200 maladies affectent les plants de tomate dans le monde (Watterson, 1986), et constituent une menace pour la production, l'économie, l'environnement et la santé de l'homme. Parmi ces maladies cryptogamiques les plus répandues en Algérie, citons : l'alternariose (*Alternaria tomatophila*), l'oïdium (*Oidium neolycopersici*), la fusariose vasculaire (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) et la moisissure grise (*Botrytis cinerea*) (Blancard, 2009 ; Williamson *et al.*, 2007).

En Algérie, les champignons microscopiques sont peu connus, ce qui explique pourquoi cette biodiversité fongique très active dans la nature est restée ignorée dans les études biologiques. Il n'y a donc pas suffisamment d'études scientifiques concernant ces pathogènes en Algérie.

Dans ce contexte, la présente étude née d'une interrogation sur la susceptibilité d'incidence des plantes de la tomate dans la région de Tafna (W. Tlemcen), par les champignons phytopathogènes. Pour cela, l'objectif escompté de ce travail est de confirmer la présence de ces agents pathogènes sur les cultures de la tomate par l'isolement et l'identification dans un premier lieu, puis par la caractérisation des espèces isolées en second lieu.

Pour atteindre ces objectifs, le présent travail est réparti comme suit :

- Une partie bibliographique divisée en deux chapitres distincts : le premier représente des rappels bibliographiques sur la culture de la tomate. Tandis que le deuxième se concentre sur les différentes maladies fongiques qui l'affecte. Des exemples des maladies phytopathogènes les plus courantes sont également inclus ;

- La deuxième partie « Expérimentale » présente le matériel et les méthodes utilisées pour isoler et identifier les endophytes pathogènes de la tomate (sur terrain et au niveau de laboratoire) dans un troisième chapitre. Ensuite, le dernier chapitre présente les résultats obtenus et leurs interprétations.

Le document se termine par une conclusion générale et perspectives.

Chapitre I :

Généralité sur la tomate

I. 1. Origine et historique

La tomate (*Lycopersicon esculentum L.*), qui vient d'Amérique du sud, a été domestiquée au Mexique. Elle a été introduite pour la première fois dans la première moitié du XVI^e siècle en Espagne et en Italie, puis dans d'autres pays européens. Elle s'est ensuite propagée en Asie du Sud et de l'Est, en Afrique et au Moyen-Orient (Shankara, 2005).

Les espagnols ont introduit sa culture en Algérie en 1905 dans la région ouest (Oran), puis elle s'est propagée vers le centre (Latigui, 1984).

Le mot « **Tomate** » provient de la déformation du mot « Tomalt » et du mot « Lycopersicum », qui signifie en latin "Pêche de loup". Au XVIII^e siècle, l'adjectif « esculentum » a été ajouté à cette appellation peu attrayante en raison des propriétés gustatives de ce légume fruit (Naika *et al.*, 2005).

La tomate est le fruit d'une longue sélection qui a commencé empiriquement avec les Aztèques avant les conquistadors.

Un véritable programme génétique de la tomate aux États-Unis n'a commencé que dans les années 1920. Il est important de se rappeler qu'auparavant, les variétés cultivées provenaient soit d'introductions à partir de leur milieu naturel, soit de mutations et d'hybridations naturelles.

Cette sélection génétique se poursuit de nos jours dans des centres de recherche, afin de proposer aux cultivateurs des variétés toujours plus performantes. Le but est de produire des variétés ou des cultivars adaptés à des conditions climatiques ou des techniques de culture particulières, mais les rendements élevés, la résistance à une ou plusieurs maladies et ravageurs restent les principaux objectifs. Depuis quelques années, cependant, la recherche a intégré l'amélioration des qualités gustatives des fruits comme autre objectif important, qui pendant longtemps resta très secondaire face aux contraintes économiques (Polese, 2007).

a. Domestication

Le génome de la tomate domestique (*Solanum lycopersicum*) vient d'être séquencé par le *Tomato Genome Consortium* (TGC). Cette plante, d'origine péruvienne, est aujourd'hui mondialement cultivée (sur environ trois millions d'hectares). Son fruit, classiquement rond, charnu, et d'un rouge robotatif est entré depuis quelque temps dans sa période baroque. Désormais sur les marchés apparaissent des tomates « cœur de bœuf » ou « cœur de pigeon », en grappe, côtelées, oblongues, et de toutes couleurs, vert, jaune, violet ou noir. De nombreuses équipes, dont celles de l'Institut national de la recherche agronomique (Inra) en France, ont isolé des gènes de *Solanum lycopersicum* et des espèces sauvages. Considérée comme un modèle en génétique, c'est la seule plante qui eut une variété génétiquement modifiée autorisée

à la consommation humaine, mais durant quelques années seulement. D'abord ingrédient important de la gastronomie des cultures méditerranéennes, consommée crue, cuite, séchée, en conserve, jus, sauce ou concentré, elle s'est mondialisée ; on la trouve aussi bien au Moyen Orient qu'en Asie où elle garde toujours son nom (Aureliano *et al.*, 2010)

b. Hybridation

Au XIX^e siècle, les sociétés d'agriculture se multiplient. Les techniques d'hybridation sont appliquées à l'amélioration des espèces agricoles, sans que soient encore comprises les lois qui les régissent (les travaux de Mendel ne seront publiés que bien plus tard en 1866). En 1856, les premières variétés (au nombre de sept) marquent le début des recherches et l'obtention des hybrides (Pitrat *et al.*, 2003). Celles-ci ont une faible variété génétique du fait du goulot d'étranglement que représente le transfert de la tomate domestique en Europe. Charles M. Rick fut un des premiers à organiser des expéditions dans la cordillère des Andes pour rechercher des variétés sauvages afin d'effectuer des croisements. C'est ainsi que *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* ou tomate cerise, *solanum pimpinellifolium* ou tomate groseille - pour n'en citer que quelques-unes - ont permis d'obtenir des lignées nouvelles par introgression (Fridman *et al.*, 2000). Le *Rick tomato genetics resource center* dispose à présent de plus de 1 500 variétés. Une tomate bleue (OSU P20 pour *Oregon state university* 20^e d'une série d'essais) a même été obtenue par croisement entre une tomate domestique et une tomate sauvage du Pérou, riche en anthocyanine. Aujourd'hui, la tomate domestique comporte des milliers de cultivars.

c. La tomate transgénique

Une tomate transgénique moins fragile (moins sensible au pourrissement) est développée par la société Calgene vers 1990. On peut l'obtenir à maturité totale, tandis que les tomates non modifiées sont collectées avant leur maturation, qui est obtenue grâce à l'éthylène, qui joue le rôle d'une hormone végétale. La production de polygalacturonase, qui cause la fragilité des parois cellulaires, peut être entravée par l'incorporation d'un ARN antisens qui réduit l'expression du gène adéquat. Flavr Savr est une tomate qui reçoit une autorisation de mise sur le marché de la Food and Drug Administration (FDA) en 1994 (sans étiquetage spécifique). Cependant, il aurait pu être difficile d'intégrer un marqueur génétique (une résistance à la kanamycine). En réalité, les consommateurs n'ont pas apprécié les tomates Flavr Savr et elles ont été retirées du marché en 1996.

Le concentré de tomate plus épais est fabriqué au Royaume-Uni par la société Zeneca, qui utilise une tomate transgénique à pulpe plus dense. Malgré son label OGM, il connut un grand succès jusqu'à la crise de la vache folle qui a rendu les consommateurs plus prudents (Med Sci, 2012).

I.2. Classification botanique

Le nom scientifique *Solanum lycopersicum* L. a été proposé pour remplacer le nom scientifique *Lycopersicon esculentum* Mille. a été utilisé pendant de nombreuses années. En effet, Linné a

proposé *Solanum lycopersicum* en 1753, un an avant la proposition de Miller d'associer la tomate au genre *lycopersicum*.

Selon Blancard (2009), des études phylogénétiques appuient l'idée que la tomate et ses cousins les *lycopersicum* sauvages doivent être placés dans le genre *Solanum*. La littérature utilise encore les deux noms.

Dans ce cas, nous utiliserons le nom donné par Miller. D'après Cronquist (1981) et Spichiger *et al.*, (2004) la tomate suit la classification ci-dessous :

RègnePlantae

Sous règne.....Trachenobionta

DivisionMagnoliophyta

Classe.....Magnoliopsida

Sous classeAsteridae

Ordre.....Solonales

Famille.....Solanaceae

Genre.....*Lycopersicum*

Espèce.....*esculentum*Miller.

I.3. Classification variétale

Plus de cinq cents variétés sont spécifiées et conservent leurs caractéristiques parentales. Leurs fruits sont plus ou moins réguliers et sensibles aux maladies, mais ils donnent généralement des fruits de qualité gustative excellente. Tandis que le nombre de variétés hybrides est beaucoup plus élevé. Ils n'existent que depuis 1960, ce qui les rend relativement récentes, affirme Polese (2007).

Selon les caractéristiques botaniques, morphologiques et le mode de croissance de la plante (la formation des feuilles, des inflorescences et des bourgeons), les tomates sont classées en plusieurs catégories, qui déterminent l'aspect et le port que revêt la plante. Par conséquent, la plupart des variétés ont un port dit indéterminé, contrairement aux autres variétés dites à port déterminé et buissonnantes (Naika *et al.*, 2005).

I.3.1. Les variétés déterminées

Ce groupe comprend des espèces dont la tige principale produit une quantité spécifique de fleurs. La tige s'arrête automatiquement si aucun bourgeon terminal n'est présent, car elle et les rameaux prévus sont entourés d'un bouquet à fleurs (Fig.1. A). Lorsqu'on souhaite disposer d'une récolte élevée en tonnage, mais dans un éventail de production peu étendu, de 6 à 7 semaines environ, ce groupe est à retenir. Ils sont généralement utilisés pour la culture en plein champs (Laumonier, 1979).

En Algérie, il existe des espèces fixées et des espèces hybrides. Ces dernières sont les plus utilisées, on trouve parmi elles : **Farouna, Juker, Luxor, Super Red, Top 48, Tomaland, Suzana, et Zigana Zeralda** (Snoussi, 2010).

I.3.2. Les variétés indéterminées

Ces variétés présentent généralement une tige principale poussant régulièrement et formant un bouquet à fleurs toutes les trois feuilles, ce qui conduit à une production de fruits prolongée (Fig. 1. B). Cette production peut être arrêtée par piqueur du bourgeon terminal à une hauteur souhaitée. Selon Laumonnier (1979), ce groupe se caractérise par un rendement important qui s'étale sur une longue période.

En Algérie, les variétés hybrides sont les plus utilisées, dont : **Actana, Agora, Bond, Nedjma, Tafna, Tavira, Toufan, Tyernoet Zahra** (Snoussi, 2010).



Figure 1 : (A) Plant de tomate naine (cv Red Robin) à croissance déterminée, cultivé en pot.

(B) Plant de tomate cerise (cv Cervil), à croissance indéterminée, cultivé en pot (Web 1)

I.3.3. Les variétés buissonnantes

Les tomates buissonnantes peuvent être confondues avec les tomates à croissance déterminée, mais elles se distinguent par des tiges épaisses, solides et avec des inflorescences serrées. Ces variétés ne sont pas cultivées en Algérie (Anonyme, 2007).

I.4. Utilisation de la tomate

Les tomates peuvent être consommées fraîches ou transformées en fruit. Ces dernières décennies, ils ont trouvé de nombreuses utilisations : ils sont utilisés pour produire des concentrés, des jus, du ketchup, de la pulpe, des tomates concassées et des tomates pelées (Polese, 2007).

I.5. Valeur nutritionnelle

La tomate, qui est largement consommée dans le monde, contribue à notre alimentation. Ce fruit, qui contient 93 % à 95 % d'eau, est très faible en calories et ne fournit pas plus de 19 000 calories, soit 63 000 joules, pour 100 grammes. Un excellent antioxydant, très riche en bêta-carotène et en lycopène, et fournit des quantités appréciables de vitamines C, de provitamine A et de nombreuses vitamines du groupe B. Il est riche en minéraux, en particulier en potassium, magnésium et phosphore (Grasselly *et al.*, 2000 ; Naika *et al.*, 2005) (Tab. 1).

Tableau 1 : Teneur de la tomate en éléments nutritifs « pour 100g » (Naika *et al.*, 2005).

Élément	Teneur
Vitamine A	600U.I
Vitamine C	14.3 mg
Vitamine B1	0.06 mg
Vitamine B2	0.04 mg
Vitamine E (tocophérols)	0.38mg
Niacine	0.5 mg
Calcium	7 mg
Sodium	8 mg
Fer	0.15 mg
Potassium	207 mg
Glucides	1.7 mg
Protéine	0.8 mg
Lipides	0.3 mg
Eau	94 mg

I.6. Importance économique

I.6.1. Dans le monde

Presque tous les pays du monde (plus de 130) cultivent la tomate. Grâce au développement des cultures sous abri, sa production a augmenté dans toutes les régions climatiques, en particulier dans les pays tropicaux et les pays du bassin méditerranéen, et même dans des régions assez froides. Sur une superficie d'environ 2,5 millions d'hectares, c'est l'une des principales productions légumières du monde (Blancard, 2009).

Selon les informations recueillies sur la plateforme statistique de la F.A.O., la production mondiale de tomates fraîches a connu une augmentation constante depuis les années 60. Dans l'année 2000, elle a franchi les 100Mt et a atteint le record de 182Mt en 2018 (Fig. 2). Sur une superficie d'environ 5 millions d'hectares, la plante est actuellement cultivée sous serre et en plein champ (Fig. 3). Selon la même source, la production mondiale a augmenté de 35% au cours des dix dernières années et se répartit comme suit : l'Asie 45%, l'Europe 22%, l'Afrique 12%, l'Amérique du Nord 11%, l'Amérique du Sud et Centrale 8%.

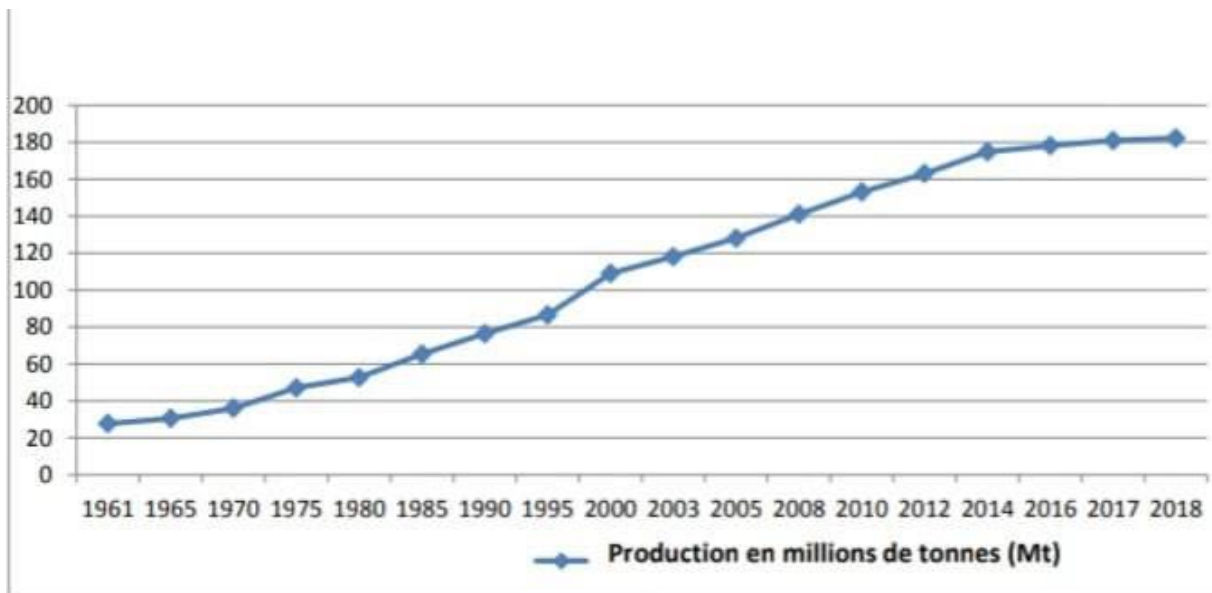


Figure 2 : Évolution de la production mondiale de la tomate (F.A.O.,2020)

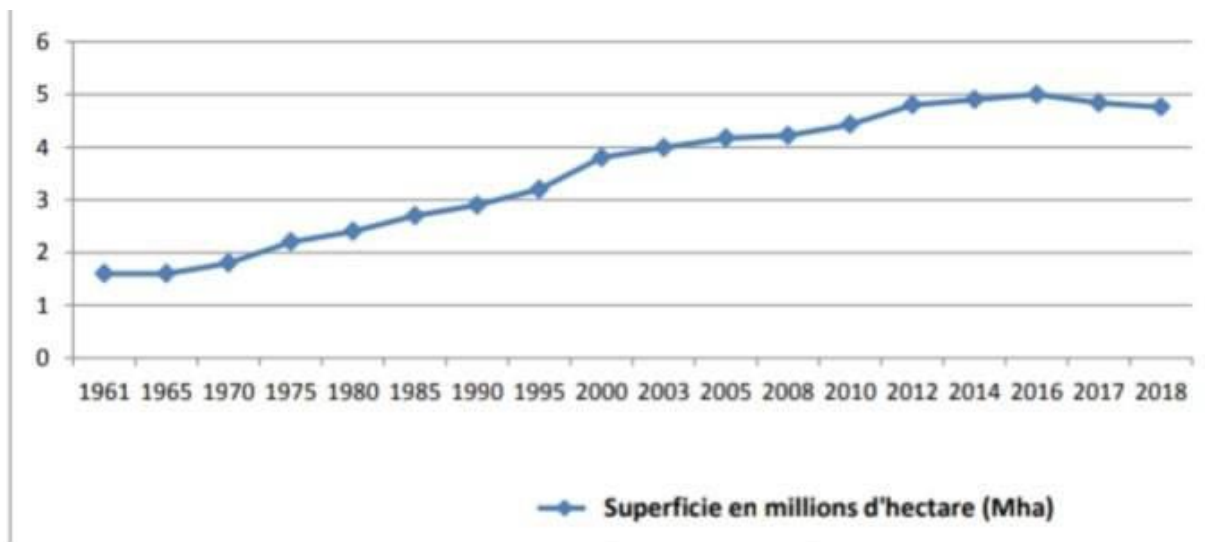


Figure 3 : Évolution de la superficie récoltée des cultures de tomates dans le monde (F.A.O., 2020).

I.6.2. En Algérie

Les conditions climatiques des régions productrices de tomates en Algérie sont extrêmement favorables à l'obtention de rendements élevés. La culture de cette plante est classée en deuxième position après celle de la pomme de terre (Zidani, 2007). La culture de la tomate est cultivée de deux manières : en culture maraîchère et en culture industrielle.

Bien que la superficie récoltée des 15 dernières années n'a pas eu de grande augmentation. En effet, elle a été passée de **21 089 ha** en 2005 à **22 323 ha** en 2018 (Fig. 4). On constate pourtant une évolution croissante de la production, allant de **341 447 t** en 2000 à un pic de **1,3 Mt** en 2018 (Fig.5). Avec une nette augmentation des rendements (Fig. 6) (F.A.O., 2020).

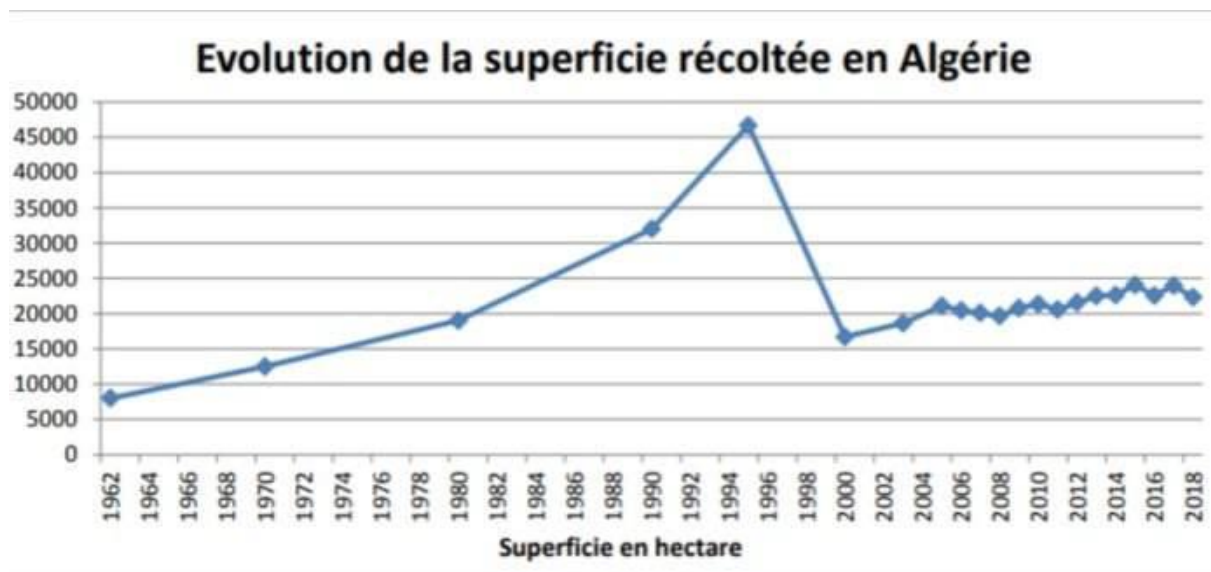


Figure 4 : Évolution de la superficie récoltée des cultures de tomates en Algérie (F.A.O., 2020).

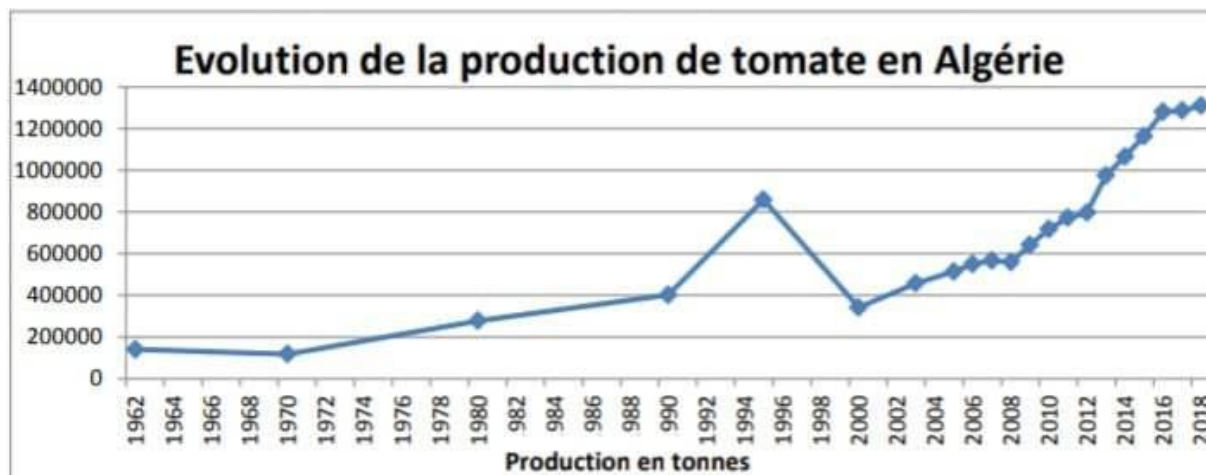


Figure 5 : Évolution de la production de tomate en Algérie (F.A.O., 2020).

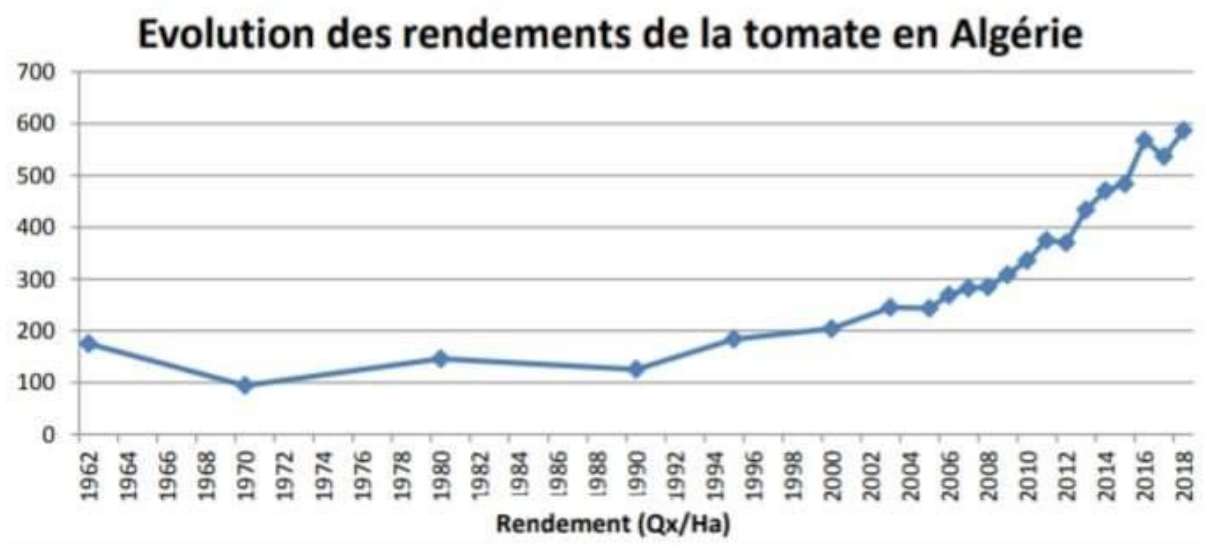


Figure 6 : Évolution des rendements des cultures de tomates en Algérie (F.A.O., 2020).

I.7. Description botanique

La tomate est une plante herbacée qui se développe à la fois en plein air et en culture, avec des tiges poilues et des tiges plutôt grimpantes. Selon les variétés et le mode de culture, sa taille peut varier de 40 cm à plus de 5 mètres.

I.7.1. L'appareil végétatif

I.7.1.1. Le système racinaire

Le système racinaire est de type pivotant. Très dense et ramifié dans les 30 à 40 premiers centimètres (Fig.7). La racine centrale se développe relativement vite, si la graine est plantée directement en place, et peut atteindre une profondeur de 100 à 150 cm (Kolev, 1976).



Figure 7 : Système racinaire de la tomate (Web.1)

I.7.1.2. La tige

La tige présente une forme anguleuse, pubescente et épaisse à l'extrémité. Au départ, il présente une consistance herbacée qui devient légèrement ligneuse avec le temps. Elle se développe de façon monopodiale, puis se transforme en sympodiale après 4 ou 5 croissances (Chaux et Foury, 1994) (Fig. 8).



Figure 8 : Tige de tomate (Web. 2)

I.7.1.3. Les feuilles

Les feuilles se présentent en alternance sur la tige, sans stipule, sont de nature simple ou composée, et sont grossièrement dentelées. Ils mesurent entre 15 et 50 cm de long et 10 à 30 cm de large, tandis que le pétiole mesure entre 3 et 6 cm (Shankaraet *al.*, 2005) (Fig. 9).



Figure 9 : Feuille de tomate (Original)

I.7.2. L'appareil reproducteur

I.7.2.1. Les fleurs

Les fleurs ont une forme actinomorphe, sont autogames, de couleur jaune et se regroupent en inflorescences, avec une taille de 3 à 8 fleurs chez les variétés fixées et au-delà chez les hybrides.

Les étamines latérales de l'androcée sont composées de 5 étamines, tandis que les anthères allongées forment un cône resserré autour du pistil. Dans de nombreuses variétés, il est composé de deux carpelles soudés, formant un ovaire supère biloculaire à 2 loges (plus pour certaines variétés) et placé au centre (Fig. 10). Après la fécondation, le calice persiste et contient 5 sépales qui restent au sommet du fruit (Judd *et al.*, 2002).

En général la formule florale de la fleur suit l'ordre suivant : 5 sépales + 5 pétales + 5 étamines + 2 carpelles (Rey et Costes, 1965).

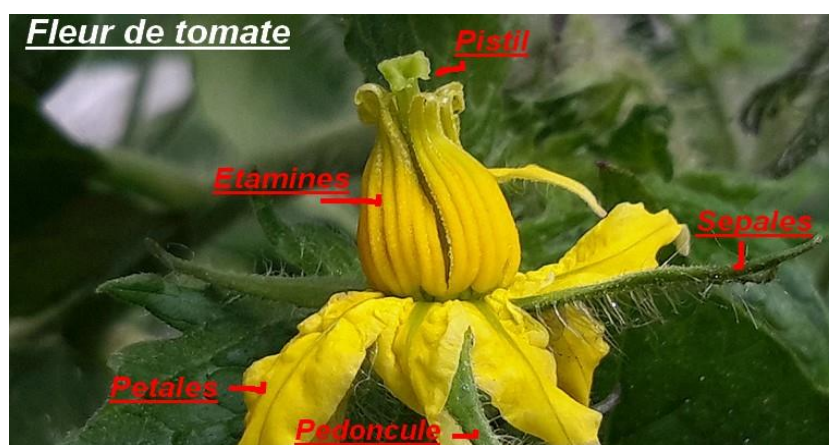


Figure 10 : La fleur de tomate à l'anthèse (Web. 3)

I.7.2.2. Les fruits

Le fruit se présente sous forme de baie, avec des dimensions et des formes variées (sphérique, oblongue, allongée), avec un épiderme lisse et brillant, et des couleurs différentes (blanches, rose, rouge, jaune, orange, verte, noire) en fonction des variétés.

Le péricarpe charnu de la paroi de l'ovaire forme les loges qui renferment les graines. Le placenta occupe une place centrale dans le fruit et est responsable de la formation des tissus parenchymateux. Selon les variétés, le nombre de loges, l'épaisseur du péricarpe et l'importance du gel varient (Grasselly et Letard, 2000) (Fig. 11).

I.7.2.3. Les graines

Les graines, de couleur beige et de petite taille (de 3 à 5 mm de long et 2 à 4 mm de large), sont réparties en grand nombre dans des loges remplies de gel (environ 300 à 350 graines/gr) (Shankara, 2005).

Ces dernières peuvent garder leur faculté germinative durant 4 à 5 années dans des conditions ordinaire (Rey et Costes, 1965).

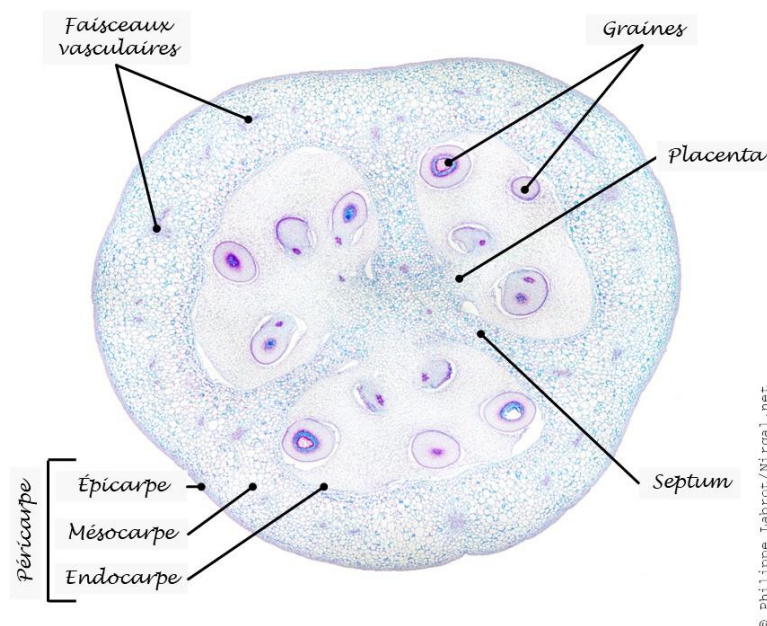


Figure 11 : Jeune tomate (*Solanum lycopersicum*), coupe transversale (x4) (Web. 4)

I.8. Description génétique

Le génome de la tomate comprend 12 paires de chromosome ($2n=24$). Sa taille est estimée à 950Mpb encodant environ 35000 gènes.

Les gènes présentés représentent un réseau de contrôle de la maturation des fruits régulé par des facteurs de transcription (MADS-RIN, CNR) nécessaires à la production de l'hormone de maturation, l'éthylène, dont la production est régulée par l'ACC synthase (ACS). L'éthylène

interagit avec les récepteurs de l'éthylène (ETR) pour entraîner des changements d'expression dans les gènes de sortie, y compris la phytoène synthase (PSY), l'étape limitant le taux de biosynthèse des caroténoïdes. La lumière, agissant par l'intermédiaire des phytochromes, contrôle la pigmentation des fruits par une voie indépendante de l'éthylène. Des paires de gènes paralogues ayant des rôles physiologiques différents (MADS1/RIN, PHYB1/PHYB2, ACS2/ACS6, ETR3/ETR4, PSY1/PSY2) ont été générées au cours des triplifications de l'eudicot (γ , cercle noir) ou de la plus récente (Fig. 12).

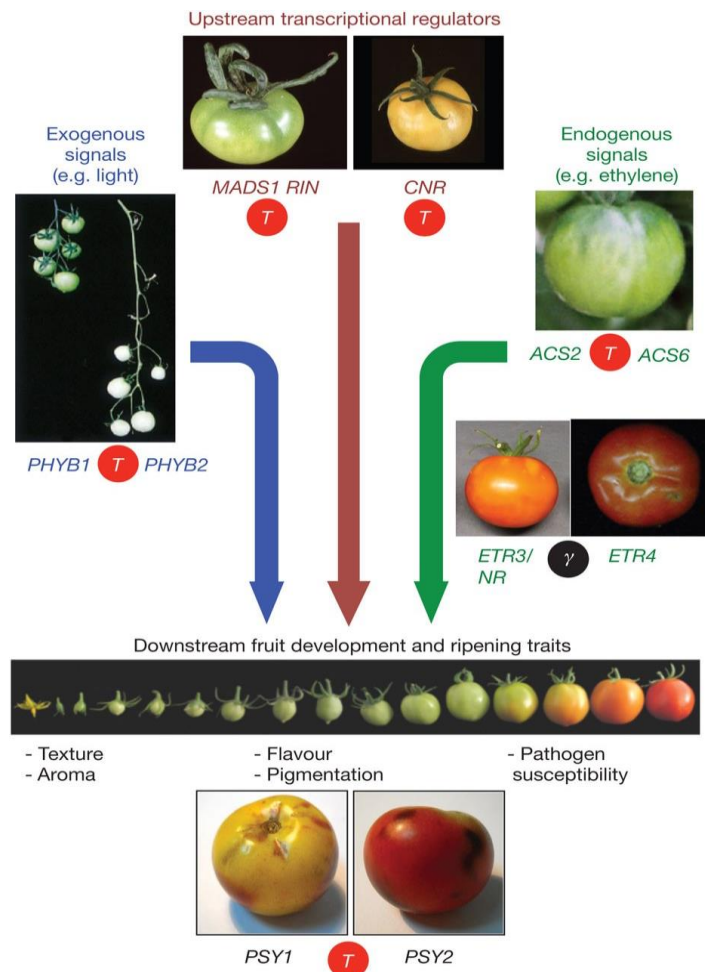


Figure 12 : Les triplifications du génome entier ouvrent la voie à la néofonctionnalisation des gènes spécifiques aux fruits (Shankara, 2005).

I.9. Le Cycle biologique de la tomate

Les différentes variétés, l'époque et les conditions de culture influencent le cycle de vie complet, depuis le semis de la graine jusqu'à l'obtention du fruit. En général, la durée de croissance varie de 3,5 à 4 mois après le semis jusqu'à la récolte finale (7 à 8 semaines de la graine à la fleur et 7 à 9 semaines de la fleur au fruit) (Gallais et Bannerot, 1992).

Ce dernier est constitué de six phases successives, partant de la germination à la maturation des fruits.

I.9.1. La germination

La germination correspond au moment où la graine se lève, mettant ainsi un terme à sa vie latente (quiescence), la conduisant ainsi jusqu'à la jeune plante qui peut se développer normalement. Elle fait référence plus précisément à la reprise du développement et du métabolisme (absorption d'eau, respiration, photosynthèse, activités enzymatiques, etc.). On trouve de l'épice chez la tomate. Il est nécessaire d'avoir une température ambiante d'environ 20°C et une humidité relative de 70 à 80 % afin de stimuler le processus de germination (Chaux et Foury, 1994).

I.9.2. La croissance

La croissance d'un végétal se caractérise par une croissance permanente d'une ou de plusieurs de ses parties. Cela se manifeste par la croissance des cellules, la croissance des entrenœuds et des racines, la croissance de la tige et du système racinaire, ainsi que la multiplication et la croissance des feuilles (Rey et Costes, 1965).

I.9.3 La floraison

La croissance des ébauches florales se produit lorsque le méristème apical passe de l'état végétatif à l'état reproducteur (Shankaraet *al.*, 2005).

D'après la même référence, les premières fleurs apparaissent chez la tomate après environ un mois de croissance. Auparavant, ces fleurs étaient des boutons de fleurs. La floraison est influencée par la durée de la lumière et la température. Elle ne peut se développer que si elle bénéficie d'une lumière constante et d'un apport équilibré en nutriments.

I.9.4 La pollinisation

La fécondation est essentielle pour la reproduction sexuée des plantes à fleurs, ce qui est appelé pollinisation. Il s'agit de la circulation des grains de pollen générés par les organes mâles de la plante (anthères) vers les organes femelles (stigmates).

Même si la tomate est hermaphrodite, il est nécessaire que des éléments extérieurs, tels que le vent ou certains insectes tels que le bourdon, interviennent pour faire vibrer les anthères et libérer le pollen (Chaux et Foury, 1994).

Toutefois, la libération et la fixation du pollen demeurent influencées par les conditions météorologiques. En effet, si la température nocturne est inférieure à 13°C, la majorité des grains de pollen seraient vides, tandis qu'une faible humidité dessèche les stigmates, ce qui rend le dépôt du pollen plus difficile (Pesson et Louveaux, 1984).

I.9.5 La fructification et nouaison des fleurs

La nouaison englobe toutes les étapes de la gaméto-genèse, de la pollinisation, de la croissance du tube pollinique, de la fécondation des ovules et du développement des fruits, appelé « fructification ».

Pendant la nouaison, la température varie de 13°C à 15°C. La présence de nuits chaudes à 22°C nuit à la nouaison (Rey et Costes, 1965).

I.9.6 La maturation du fruit

La maturation du fruit implique plusieurs événements biochimiques et structuraux qui augmentent l'attrait du fruit pour le consommateur. Les manifestations les plus claires sont associées aux changements de taille, de couleur, de fermeté et de saveur des fruits.

La lumière intense favorise la production active de matière organique qui est rapidement transportée vers les fruits en pleine croissance. Pour cela, il est nécessaire d'avoir une température de 18°C la nuit et 27°C le jour (Rey et Costes, 1965).

Chapitre II :

Les maladies cryptogamiques de la tomate

La culture de la tomate est sujette à diverses attaques de ravageurs (acariens, insectes et nématodes), de maladies cryptogamiques, bactériennes et virales. Elle peut être également concurrencée par des mauvaises herbes et agressée par des facteurs abiotiques dont l'importance varie selon plusieurs facteurs, comme le mode d'installation en plein champ ou sous abris (Chibane, 1999).

Parmi ces facteurs biotiques et abiotiques, les maladies cryptogamiques due aux champignons endophytes sont les plus redoutables, à savoir : la pourriture grise, l'alternariose, fusariose, l'oïdium, ..et autres.

II.1. La pourriture grise de la tomate

La pourriture grise est l'une des maladies cryptogamiques les plus répandue dans les cultures de la tomate sous abris. Elle est causée par champignons ascomycète *Botrytis cinerea* (forme imparfaite du *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel, qui se développe sous forme d'un pourrissement des tissus infectés, suivi par l'apparition d'un feutrage gris due à une production importante de spores (Williamson *et al.*, 2007).

II.1.1. Généralité sur la maladie

La maladie a été décrite pour la première fois en 1729 par Pier Antonio Micheli qui la répertorié dans le « Nova Plantarum Genera » puis de manière définitive par Hennebert, comme la majorité des espèces du genre (Groves *et al.*, 1953 et Hennebert, 1973).

Le nom *Botrytis cinerea* a été proposé par Elias Magnus Fries, le botaniste suédois qui, à la suite de Linné, fut le fondateur de la systématique des champignons.

Cette maladie peut affecter toutes les parties de la plante, notamment les feuilles et les fruits, parfois même la tige et les branches, où elle engendre des pertes économiques importantes sur une large gamme des espèces fruitières y compris la tomate (Veloukas *et al.*, 2011). Les pertes économiques causées par ce genre de champignon peuvent allant jusqu'à 20% des récoltes mondiales (Elad *et al.*, 2004 ; Fernandez-Ortun *et al.*, 2012).

II.1.2. L'agent causal « *Botrytis cinerea* »

L'étymologie de son nom fait référence directement à sa morphologie : « Botrytis » ce qui signifie « en forme de grappe », indiquant ainsi la morphologie des conidiophores. En revanche, le nom « cinerea » renvoie à la couleur gris-cendrée de la sporulation.

En 1801, le nom « *Botrytis cinerea* » a été donné par Persoon pour la première fois à un agent pathogène qui affecte la vigne. Le champignon possède deux types de reproduction (sexuée et

asexuée). Sous sa forme parfaite (téléomorphe), il porte le nom *Botryotinia fuckeliana* (De Barry) Wetzl, et avec sa forme imparfaite (anamorphe), l'espèce est *Botrytis cinerea* Pers.

C'est un Ascomycète de la classe des Leotiomycetes, de l'ordre des Helotiales, famille des Sclerotiniaceae.

En plus d'être considéré comme un champignon nécrotrophe, l'espèce *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.1.3. Le cycle d'infection de *B. cinerea*

Ce champignon se conserve sur des débris végétaux mais aussi dans le sol, sous différentes formes : conidies, mycélium et sclérotés. Il possède deux modes de reproductions sexuée et asexuée (végétatives) (Ajouz, 2009). Pour cela, il forme des spores asexuées s'appellent les macroconidies, et les microconidies lors de sa reproduction sexuée.

Durant la période d'hiver, le champignon se conserve sous forme de sclérotés. Ces dernières, 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 pour avoir une nouvelle infection. Il y aura par la suite, développement des conidiophores portant des macroconidies (spores asexuées) qui serviront d'inoculum primaire (Williamson *et al.*, 2007) (Fig. 13). Ces macroconidies se propagent par l'eau (arrosage, pluie), le vent et les courants d'air dans les serres, ce qui sera considéré d'inoculum secondaire. Pour la plupart des espèces y compris la tomate, l'infection commence généralement sur les fleurs sénescents puis se propage sur les fruits adjacents en développement.

La pénétration du champignon dans les tissus végétaux peut s'effectuer par les blessures sur les fruits ou les feuilles (Elmer et Michailides, 2004). Ce champignon germe en quelques heures sur les feuilles mouillées et/ou en présence d'une humidité ambiante d'au moins 95 %.

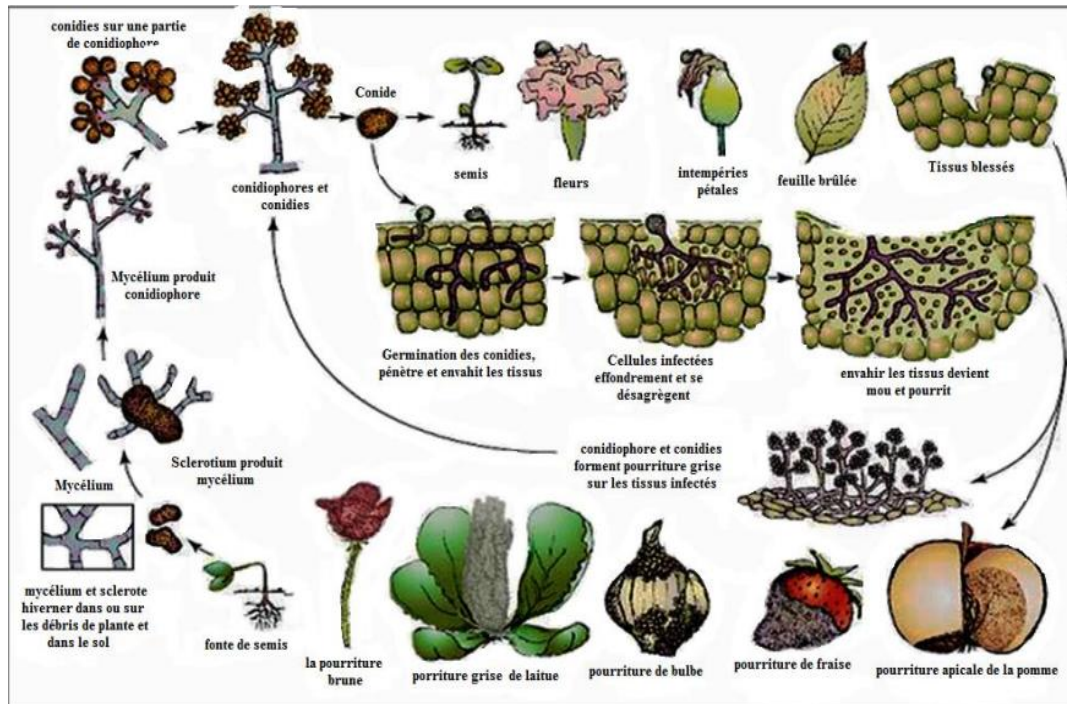


Figure 13 : Le cycle de développement de *Botrytis cinerea* sur différentes cultures (Agrios, 2005)

II.1.4. Symptômes et éléments de diagnostic

Le champignon exprime leurs symptômes sur les fleurs, les fruits et les tiges. Son évolution est plus rapide avec les fruits les plus mûrs.

Sur les feuilles, la maladie se traduit sous forme d'un pourrissement des tissus infectés, suivi par l'apparition d'un feutrage gris due à une production importante de spores. Il s'agit de taches beiges en anneaux centraux, parfois en forme de flamme, ainsi que de chancres de couleur gris beige légèrement déprimés avec un duvet grisâtre composé des fruits conidiennes du champignon.

Au niveau des fruits, le pathogène se développe comme une détérioration légère des tissus qui commence généralement avec les sépales ou les pétales desséchés. Des anneaux blanchâtres sont également observés, connu sous le nom de taches fantômes, confirme El akel *et al.* (2001). Ce mycélium qui porte une couleur blanche et un aspect dense peut apparaître en surface et contaminer même les fruits sains adjacents provoquant la formation de 'nids' de pourriture dans les caisses (Bondoux, 1992), dans des conditions favorable (l'humidité en particulier) (Fig. 14).

Le champignon *B. cinerea* peut entraîner des pertes de rendements importantes, en affaiblissant les plantes et en les détruisant (Williamson *et al.*, 2007).



Figure 14 : Infection de la tomate par *Botrytis cinerea* (Rogalska et Reglaudre, 2016)

II.1.5. Facteurs de développement

La présence de *B. cinerea* est conditionnée par des facteurs qui lui permettent de surmonter la phase parasitaire pour devenir un agent pathogène.

Parmi ces facteurs, la température joue un rôle principal. Dans une étude réalisée par Thomas et Marois (1986), le champignon se développe d'une manière plus rapide à une température de 21°C. D'autres études confirment que la température optimale pour la croissance mycélienne varie selon les souches de *B. cinerea* mais dans l'ensemble elle est comprise entre 18 et 23°C (Jarvis, 1977). Tandis que la température optimale pour la germination des conidies était comprise entre 20 et 30 °C. À des températures inférieures à 5 °C et supérieures à 35 °C, les spores de *B. cinerea* ne germent pas après 48 heures d'incubation. A 10 °C la germination est très retardée avec seulement 60% de conidies germées 48 heures après l'inoculation. (Shiraishi *et al.*, 1970).

De plus, la disponibilité en eau à la surface des plantes et la forte humidité relative à 90% ont toujours été considérées parmi les facteurs majeurs influençant le processus des infections dues au genre *Botrytis* (Blakman, 1980). En effet, les conidies issues de la reproduction végétatives germent à 100% à 20 °C, 15 °C et 5 °C avec 100% d'humidité (Jarvis, 1977).

Selon O'Neill *et al.*, (1997), la phase de sporulation est favorisée par une forte humidité relative et l'interruption de ces conditions entraîne un retard de sporulation.

II.1.6. La lutte contre *B. cinerea*

Afin de lutter contre la pourriture grise, plusieurs moyens sont proposés. Nous pouvons citer entre autres : la lutte agronomique, biologique et chimique.

Tout d'abord, 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. Le séchage peut éliminer les champignons du sol par l'utilisation de la vapeur d'eau. Par exemple, le passage au travers de la terre de la vapeur d'eau à 100°C pendant 10 à 20 minutes permet la stérilisation partielle (Messiaen *et al.*, 1991). Ainsi, il faut choisir un site où l'air circule facilement, avec une bonne exposition au soleil, sur un sol qui se draine bien. Il est préférable d'orienter les rangs dans le sens des vents prédominants, toujours pour assurer un séchage rapide du feuillage (Wilcox, 1993).

De plus, le CPVQ (1985) recommande d'irriguer de préférence le jour et lorsque la température dépasse 20 °C. L'irrigation est préférable le matin par journée ensoleillée de façon à accélérer le séchage de la surface du sol et donc réduire la sporulation du champignon (Hofstetter, 1990). Aussi, l'irrigation goutte-à-goutte permet de réduire les risques de maladie en gardant le feuillage sec.

L'utilisation des micro-organismes antagonistes, champignons filamenteux, levures et bactéries, peut aussi réduire la densité de l'inoculum de l'agent pathogène ou d'altérer son activité pathogène (Thomashow et Weller, 1996 ; Yedida *et al.*, 1999 ; Haas *et al.*, 2000). Par exemple, les espèces de *Trichoderma* spp. font l'objet de plusieurs études. 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.

La lutte chimique par l'utilisation des fongicides anti-Botrytis a été utilisée en végétation depuis le début des années 1970. Des progrès ont été réalisés dans les années 1970 avec la commercialisation des benzimidazoles, des thiophanates, et des dicarboximides à partir de 1976 (Leroux *et al.*, 1999). La plupart des fongicides affectent directement des fonctions essentielles, comme par exemple la respiration, la biosynthèse des stéroïdes ou la division cellulaire (Leroux, 2004). La plupart des fongicides anti-Botrytis utilisés ont une action directe sur le champignon.

II.2. L'alternariose

II.2.1. Généralité sur la maladie

Parmi les maladies aériennes des Solanacées, l'Alternariose est certainement l'une des plus fréquentes et des plus répandues dans le monde (Rotem, 1994; Pryor *et al.*, 2000; Song *et al.*, 2011), elle est retrouvée sur tous les continents, partout où ces plantes sont cultivées. La

présence de rosées dans les régions semi-arides permet son développement. Elle affecte surtout les cultures de plein champ, et parfois les abris froids.

Autant que parasites de faiblesse, les *Alternaria* sont capables de mener une existence saprophytique pendant des périodes plus ou moins longues. En Algérie, l'Alternariose est une maladie très répandue ; où elle affecte toutes les productions de plein champ et sous les tunnels plastique (serre), les conséquences de la défoliation sont graves, elles contribuent au ralentissement et à la diminution de la production voir même la perte de fruit (ITCMI, 2010).

II.2.2. L'agent causal « *Alternaria sp.* »

L'alternariose est l'une des maladies phytopathogènes qui s'attaque les tomates depuis plusieurs décennies. Elle est causée par les espèces ascomycètes appartenant du genre *Alternaria* (Blancard *et al.*, 2012). Ce genre comprend près de 275 espèces (Simmons, 2007) avec des modes de vie saprophytes et phytopathogènes qui peuvent affecter les cultures sur champ ou les produits végétaux pendant la récolte et post-récolte (Logrieco *et al.*, 2009).

Quelques espèces, comme *Alt. solani*, *Alt. dauci* et ses formes, *Alt. linicola*, *Alt. zinniae*, etc., vivent à l'état parasites sur des plantes encore apparemment vigoureuses (Messiaen *et al.*, 1991). Ce sont des champignons mésophiles, leurs activités prédominantes disparaissent lorsque la température s'élève (Botton *et al.*, 1990).

L'alternaria fait partie des Dothideomycetes, ordre des Pleosporale et la famille des Pleosporaceae. Les espèces les plus répandues sur les cultures de tomate sont *Alt. solani*, *Alt. tomatophila* et *Alt. dauci*.

II.2.3. Le cycle d'infection d'*Alternaria sp.*

Sur les feuilles mortes au sol, le champignon se conserve, bien qu'elle soit également possible (mais beaucoup moins fréquente et efficace) sur les rameaux ou dans les bourgeons (Keissl, 1912). Dès que les conditions sont favorables (au printemps), les conidies (spores asexuées) libérées après une période d'humectation, et les infections foliaires sont produites (phase parasitaire). La maladie se développe au cours de la saison avec plusieurs cycles d'infection à partir des infections foliaires.

L'infection des fruits, à l'origine de petites taches brunes, résulte probablement de l'inoculum produit sur feuilles dans la canopée. Elle pourrait se produire tout au long de leur développement, mais il existe de fortes différences entre variétés pour la fréquence des symptômes sur fruits (Bessadat, 2014). Généralement, la capacité d'infection des fruits dépend des souches fongiques qu'ils attaquent. Il est important de distinguer ces infections externes de la pourriture de cœur des fruits, visible seulement après récolte et coupe du fruit. Celle-ci est causée par des champignons opportunistes qui pénètrent à l'intérieur du fruit au niveau de l'œil (pièces florales) (Fig. 15).

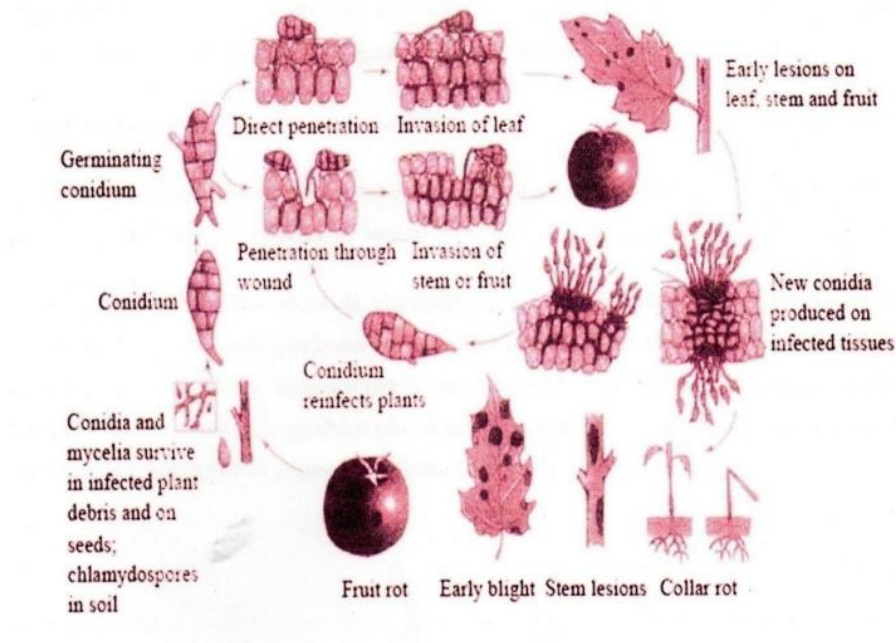


Figure 15 : Cycle épidémique d'*Alternaria* sp. sur la plante de tomate (Agrios, 2005)

II.2.4. Symptômes et éléments de diagnostic

Sur les feuilles, le champignon responsable se développe sous forme de taches arrondies, bien délimitées, foncées et avec des anneaux centriques. Cependant, cela peut également se traduire par une nécrose, qui commence souvent au niveau de la cicatrice pédonculaire (El akel *et al.*, 2001). Ces premiers symptômes qui se développent sur les feuilles apparaissent en général après la floraison. Par temps sec, les lésions peuvent se détacher et faire place à des trous.

D'après Carahasbl (2006), les tâches foliaires sont de petites tailles (avoisine les 2mm) et grandissent avec la gravité de la maladie où elles peuvent s'étaler sur l'ensemble de la feuille. D'après la même référence, dans certains cas plus graves (défoliation précoce) cela peut nettement affecter le rendement (de 10 à 50%), mais aussi la qualité de la récolte (manque de calibre, poids sous eau insuffisant).

Le pathogène peut aussi provoquer de graves lésions sur les tiges qui peuvent atteindre jusqu'à 5 cm de longueur. Quand les conditions météorologiques sont favorables, les lésions se développent sur les tiges et les pétioles (Vloutoglou et Kalogerakis, 2000.) le dépérissement des extrémités du collet est un autre symptôme associé à la maladie (Patterson, 1991).

II.2.5. Facteurs de risques

La combinaison de pluie et de soleil encourage la croissance du champignon (Messiaen *et al.*, 1991). Elle exige des hygrométries élevées et des températures comprises entre 18 C° et 25 C° (Blancard, 1988).

II.2.6. La lutte contre l'alternariose

L'Alternariose est habituellement combattue par l'application de fongicides lutté contre le mildiou, en particulier ceux contenant du mancozèbe. Des traitements spécifiques peuvent être nécessaires pour les variétés sensibles.

En générale, les mesures prophylactiques suivantes peuvent être mises en place afin de limiter le risque d'infection :

- La bonne circulation de l'air est la meilleure façon d'éviter cette maladie. S'il s'agit d'une culture en serre, aérer et ventiler l'abri.
- L'application excessive d'engrais azotés est à éviter car cet élément favorise le développement du champignon ;
- Utiliser des variétés résistantes, des semences certifiées ;
- A la vue des premiers symptômes, il est nécessaire de détruire les premières feuilles attaquées pour éviter la dissémination du champignon qui peut être très rapide ;
- Planter la culture de manière espacée et dans un sol sain ;
- Eviter l'excès d'humidité au niveau du sol.

II.3. La fusariose

La fusariose est l'une des principales maladies qui affectent les cultures de tomate. Elle est provoquée par les champignons telluriques du genre *Fusarium*. Ce dernier ne s'attaque qu'à certains cultivars. Les plantes infectées présentent un jaunissement des feuilles et un flétrissement se propageant à partir de la base de la tige.

II.3.1. Généralité sur la maladie

La fusariose causée par les espèces du genre *Fusarium* se présente sous forme d'un jaunissement des feuilles et un flétrissement qui se propageant à partir de la base de la tige. L'agent pathogène est un parasite omniprésent du sol, leur présence est cosmopolite, il a été isolé dans le pôle Nord et dans le sable des déserts.

Le genre *Fusarium* a été décrit pour la première fois par Linke en 1809. Dans ce genre, l'espèce *F. oxysporum* est la plus répandue dans le monde et elle se caractérise par une large gamme des espèces de plantes hôtes.

Les souches du pathogènes envahissent le système racinaire et vasculaire des plantes.

II.3.2. L'agent causal « *Fusarium sp.* »

Le genre *Fusarium* est un Deuteromycètes, appartient à la famille des Tuberculariacées, dans le groupe des Hyphomycètes (Les champignons filamenteux). L'espèce *Fusarium oxysporum* peut infecter un grand nombre de plantes, souvent de façon très spécifique. Plus de 120 formes spéciales et races ont été identifiées, basées sur leurs spécificités d'hôtes (O'Donnell *et al.*, 2015). Tandis que, l'espèce *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* est un champignon

qui affecte uniquement la tomate, donc il constitue ce qu'on appelle « forme spéciale lycopersici » (Agrios, 1998).

II.3.3. Le cycle d'infection de *Fusarium sp.*

Le *Fusarium* se multiplie par voie végétative ou par l'intermédiaire de spores asexuées. Cette forme imparfaite (anamorphe) est caractérisée par un mycélium septé et ramifié (Belabid, 2003).

Au cours de son cycle d'infection, l'espèce *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* possède une phase saprophyte, suivi par une phase parasitaire tout dépend de la présence ou non de la plante hôte (tomate) (Nelson *et al.*, 1981 ; Beckman, 1988).

La conservation du champignon au niveau du sol dans sa phase parasitaire, se fait sous trois formes différentes : les macroconidies, les microconidies et les chlamydospores (Beckman, 1988).

Dès qu'elles viennent les conditions favorables (Humidité en générale) et la présence de la plante hôte, le champignon germe. La germination des spores atteignent les sites privilégiés sur les racines de la plante et initier le processus de l'infection (phase parasitaire) (Van Loon, 2007) (Fig. 16).

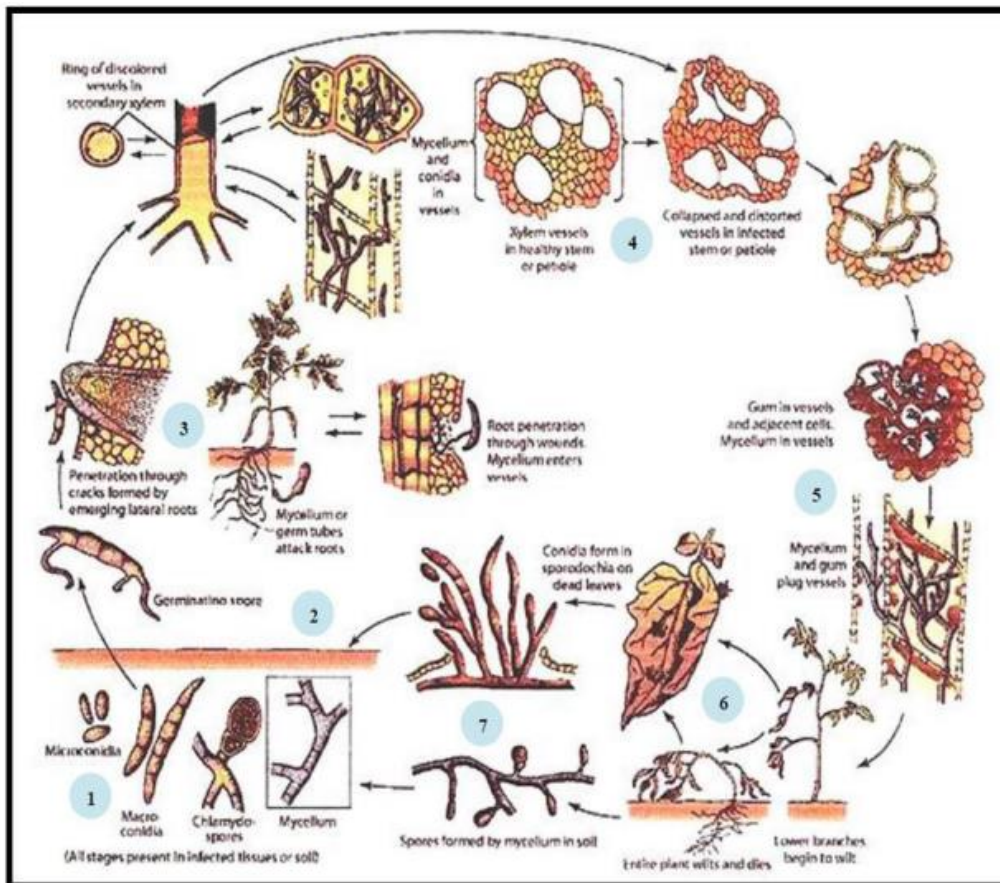


Figure 16 : Le cycle d'infection de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Agrios, 2005).

II.3.4. Symptômes et éléments de diagnostic

Ce champignon dévastateur est avant tout inféodé au système racinaire chez la plante de tomate, sur laquelle il provoque, dans un premier temps, de nombreuses lésions humides avec une couleur brune rougeâtres, 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 (Fig. 17). 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).



Figure 17 : Les symptômes de la pourriture racinaire de la plante de tomate (*Fusarium* sp.), (a) Chancre brun en forme de flamme se développant sur un seul côté du collet et de la tige, (b) Système racinaire réduit, brun et pourri, vaisseaux brun chocolat dans les parties basses de la tige, (c) Brunissement des racines, de leur cylindre central et des vaisseaux situés au niveau du pivot et du collet malades (Blancard, 2013).

II.4. L'Oïdium de la tomate

II.4.1. Généralité sur la maladie

L'oïdium sur tomate est une nouvelle maladie qui a été rapportée au Royaume-Uni en 1986 (Fletcher *et al.*, 1988), et qui s'est propagée à travers le monde. Son identité était incertaine, car il n'y avait pas de stade sexuel et des rapports variables sur sa structure, notamment sur le fait que les conidies étaient formées individuellement ou en chaînes.

La première description adéquate du champignon responsable de cette maladie, semble être originaire d'Australie (Cooke et Massee, 1888), et le nom a été renommé, en 1999, *Oidium lycopersici*, selon le Code international de littérature botanique (Mieslerova et Lebeda, 1999). Toutefois, il existe encore une confusion quant à la classification par caractéristiques morphologiques.

II.4.2.L'agent causal« *Oidium neolycopersici* »

Les origines de l'espèce *Oidium neolycopersici* ne sont pas encore établies. Selon Huang et ses collègues (2000), il a été suggéré que l'espèce aurait pu "migrer" d'un hôte à l'autre en développant un ou plusieurs facteurs de pathogénicité. Cependant, jusqu'à présent, il n'existe aucune preuve directe pour soutenir cette hypothèse. Toutefois, des exemples de résistance à *Oidium neolycopersici* ont été identifiés chez des espèces sauvages de *Lycopersicon*, dont *L. hisutum*, *L. pennelli* et *L. parviflorum* (Ciccarese *et al.*, 1998 ; Kozik, 1993 ; Laterrot *et al.*, 1995 ; Lindhout *et al.*, 1994a,b ; Mieslerova *et al.*, 2000 ; Van der Beek *et al.*, 1994), ce qui suggère que l'apparition de l'espèce *O. neolycopersici* n'est pas un phénomène récent, mais plutôt un phénomène qui vient de se faire plus visible. On en déduit aussi l'identification d'*O. neolycopersici* à partir de spécimens d'herbier d'Asie depuis 1947 (Kiss *et al.*, 2001). Cependant, cela ne permet pas d'expliquer pourquoi cette espèce est devenu un tel problème récent et pourquoi il s'est propagé rapidement dans le monde. Il est possible que cela soit causé par l'augmentation des flux de plantes dans le cadre du commerce horticole international, ainsi que par la dispersion aérienne des conidies et leur survie ultérieure sur de nombreux hôtes alternatifs.

II.4.3. Symptômes et éléments de diagnostic

L'*Oidium neolycopersici* est un champignon très polyphage de l'oïdium qui s'attaque aux tomates. Il entraîne des dommages blancs poudreux sur la face adaxiale des feuilles de la tomate (Fig. 18). Le champignon peut aussi contaminer les surfaces abaxiales, les pétioles et le calice, mais le fruit n'est pas touché. Les infections sévères provoquent la chlorose des feuilles, la sénescence prématurée et une diminution significative de la taille et de la qualité des fruits (Whipps *et al.*, 1998). Actuellement, ce pathogène représente une menace majeure pour les cultures de tomates en serre et devient de plus en plus important pour les cultures de tomates en plein air.

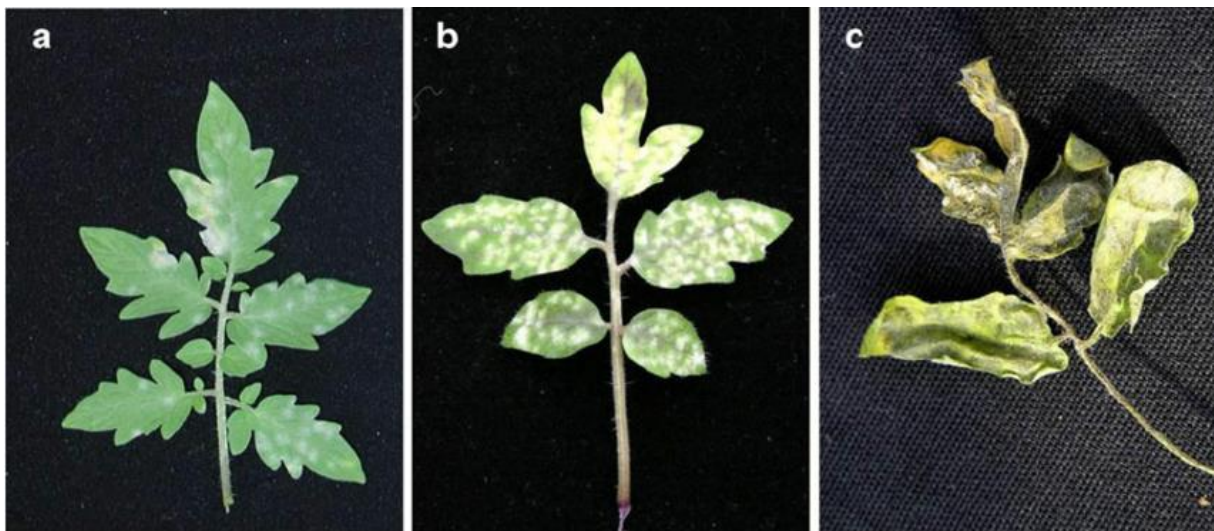


Figure 18 : Symptômes de l'infection par l'oïdium de la tomate (*O. neolycopersici*) sur *S. lycopersicum* sensible : (a) Les premiers symptômes de l'oïdium, (b) Infestation intensive de la maladie, et (c) Nécrose après le développement intensif de la maladie (Mieslerová, 2013).

II.4.4. Morphologie et développement de l'agent pathogène

Selon Jones *et al.* (2000), les spores de l'espèce *O. neolycopersici* sont de forme ellipsoïdale et mesurent environ $30 \mu\text{m} \times 15 \mu\text{m}$. Un réseau irrégulier de projections rubanées et arrondies recouvre la surface des conidies (Fig. 19A), mais, à la germination, un tube germinatif à surface lisse s'échappe du corps de la conidie (Fig. 19B). À l'extrémité, ce tube s'allonge et devient lobé ou feuille de trèfle. En général, on trouve cette structure appressorielle à la jonction de trois cellules épidermiques (Fig. 19C). Par la suite, une tige sort du milieu de la « paume » de l'appressorium lobé et entre dans la plante hôte, laissant un pore de pénétration d'environ $0,2 \mu\text{m}$ de diamètre (Fig. 19D). La plante hôte est rapidement colonisée, les hyphes secondaires étant à la fois visibles du corps conidien et de l'appressorium primaire. Les appressoria secondaires d'*O. neolycopersici* se forment individuellement ou en combinaison (Fig. 19E) à partir des hyphes qui se sont développés sur la surface de l'hôte. Le cycle de vie asexué se termine par l'apparition de conidiophores perpendiculaires à la surface de l'hôte sur une cellule de pied cylindrique droite, supportant une zone méristématique de conidies immatures et portant un seul conidium ellipsoïdal mature à l'apex de la colonne (Fig. 19F). Pendant la morphogenèse des germes, les trois étapes principales du développement sont chronométrées, avec une germination qui se produit entre 3 et 5 heures après l'inoculation (Jones, 2001).

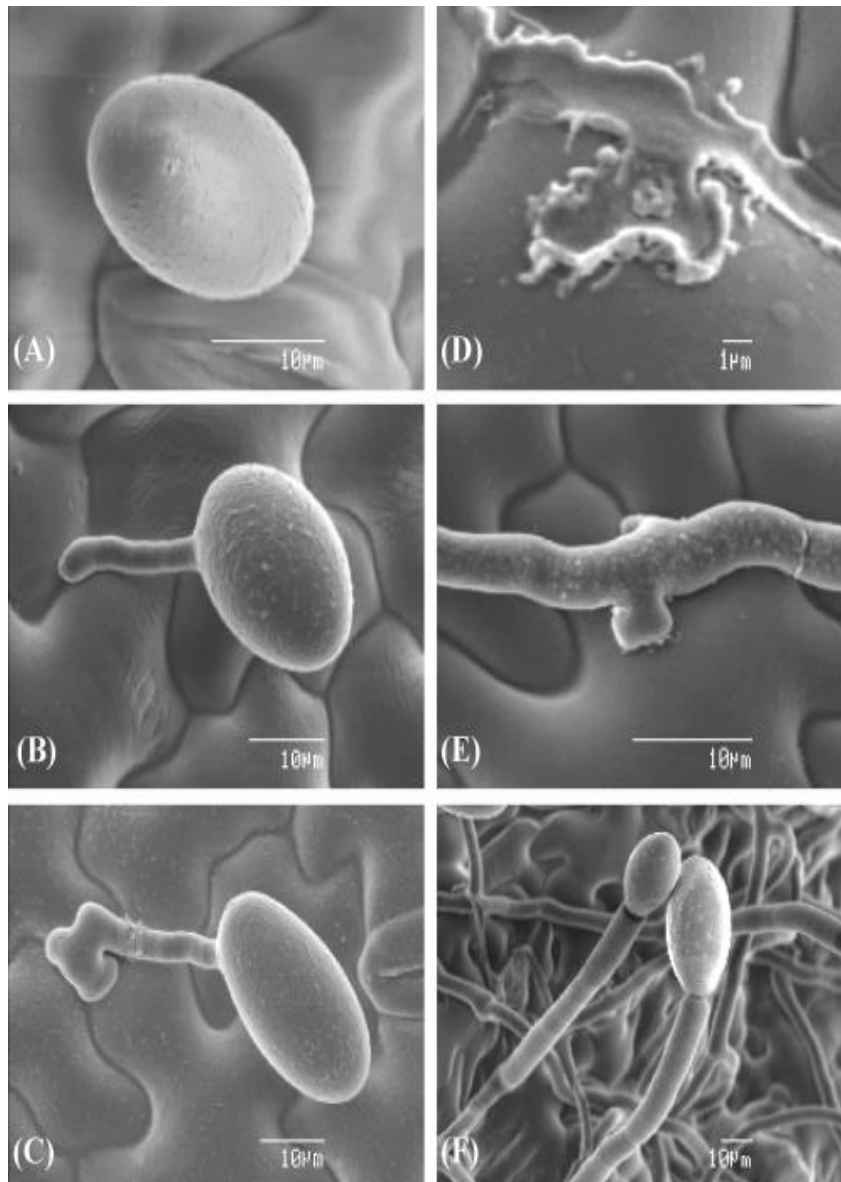


Figure 19 : Le champignon de l'oïdium de la tomate « *Oidium neolycopersici* » (Jones, 2001)

II.5. Mildiou de la tomate

Le mildiou est une maladie des végétaux qui touche différentes espèces de *Solanum spp.*, telles que l'aubergine, le poivron, les morelles et le pétunia. Il est cependant surtout célèbre pour sa dégradation de la pomme de terre, *S. tuberosum*, et de la tomate (*S. lycopersicum*).

II.5.1. L'agent causal «*Phytophthora infestans*»

Le mildiou de la tomate est causé par l'oomycète *Phytophthora infestans*, une moisissure aquatique pathogène. Aux États-Unis, ce champignon semblable passe l'hiver dans les débris végétaux sous forme de mycélium (une croissance filamenteuse du pathogène). L'espèce peut former une oospore, une spore persistante dans le sol, dans certains pays d'Europe et d'Amérique du Sud, mais cette oospore n'a pas été découverte aux États-Unis. La propagation du pathogène se fait par le passage de spores asexuées : sporanges (spores suspendues dans

l'air) et zoospores (spores nageant dans l'eau). Les cellules de la plante hôte sont infectées par l'agent pathogène, ce qui entraîne la mort de la plante.

Les conditions humides (90-100% d'humidité relative) et les températures modérées (60-80°F) favorisent la production de spores pathogènes. Les sporanges peuvent se développer à une température de 64-75°F, tandis que les zoospores sont libérées à une température de 46-64°F. Les mycéliums ont une croissance optimale à des températures d'environ 73°F (Gevens et wilbur, 2014).

II.5.2. Symptômes et éléments de diagnostic

Le mildiou se manifeste sur toute la partie aérienne de la plante de tomate. En général, les feuilles infectées sont marquées de taches vertes à brunes de tissus morts entourées d'un bord vert pâle ou gris. Si le temps est très humide, les infections de mildiou peuvent sembler humides ou d'un marron foncé et sont généralement décrites comme grasses. On peut voir une croissance blanche et duveteuse sur la face inférieure des feuilles ou sur les tiges inférieures. Les tiges et les pétioles présentent des lésions brunes et leur forme est souvent indéterminée. Il est également possible que les fleurs se décolorent et qu'elles tombent. Les tachetés surviennent sur les fruits de tomate symptomatiques, souvent avec des surfaces dorées à brun foncé, fermes et enfoncées (Fig. 20). On peut aussi observer une croissance pathogène blanche et floue associée aux lésions des fruits (Gevens et wilbur, 2014).



Figure 20: Infection de la tomate par *Phytophthora infestans* (Gevens et wilbur, 2014).

II.5.3. Le cycle d'infection de *P. infestans*

L'oomycète *Phytophthora infestans* est asexué (sporangies et zoospores). En été, les sporangies se fixent sur les tissus sensibles de l'hôte et se reproduisent directement pour causer une infection. En revanche, en période de froid et d'humidité, les sporangies génèrent des zoospores mobiles capables d'infecter les tissus de l'hôte. Une nouvelle phase de sporulation peut survenir sur le site initial de l'infection après seulement 4 à 5 jours d'humidité adéquate et de températures modérées. Les nouveaux sporangies sont ensuite transportés par le vent et les éclaboussures d'eau vers de nouveaux tissus végétaux, ce qui entraîne de nouvelles infections, et la maladie se répand. Les épidémies de mildiou à grande échelle et à évolution rapide sont causées par la répétition continue et rapide de ce cycle asexué de la maladie (Fig. 21).

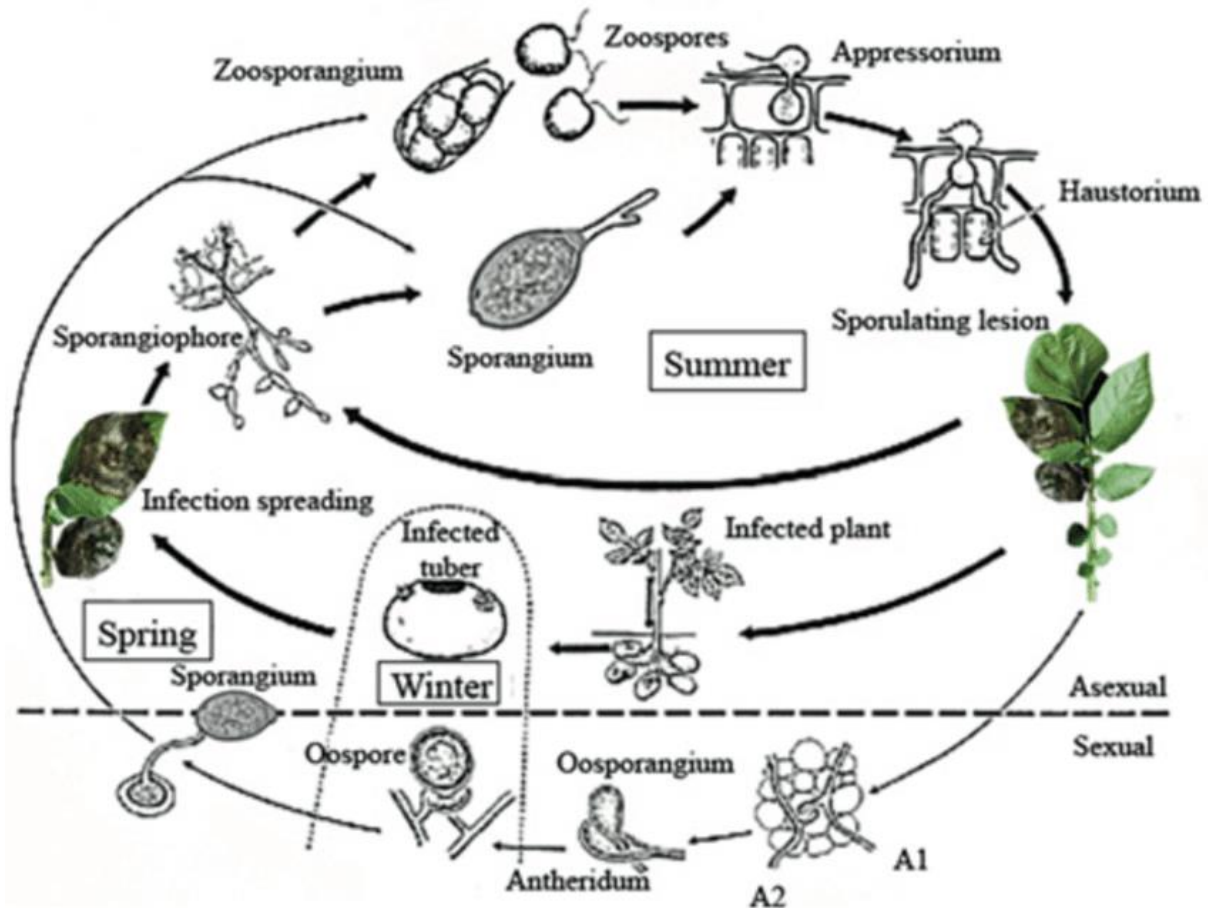


Figure 21: Cycle de vie de *Phytophthora infestans* divisé en cycles sexuel et asexuel (Kessel et Förch, 2006).

II.6. Méthodes moléculaires pour la caractérisation des champignons phytopathogènes

Les méthodes moléculaires sont universellement applicables et permettent d'explorer le polymorphisme à différents niveaux (comparaison entre des souches, des espèces, des genres, etc.) (Verschuere *et al.*, 2002). Elles permettent d'explorer l'énorme variabilité naturelle existante au niveau de l'ADN (Xu, 2010). Ceci s'est révélé très important dans la mesure où la connaissance des relations génétiques dans une population pathogène est indispensable pour le développement de nouvelles variétés résistantes et la mise au point de stratégie de contrôle des épidémies. En effet, malgré l'intérêt des marqueurs de virulence qui sont mis en évidence via les tests du pouvoir pathogène, ceux-ci ne révèlent qu'une petite portion de la diversité génétique présente dans une population pathogène. Par contre, il est admis que les marqueurs moléculaires qu'ils soient de type protéines ou ADN, sont indépendants de la sélection de l'hôte et permettent une étude de la biodiversité directement au niveau du génome. Cependant, les marqueurs moléculaires basés sur l'analyse de l'ADN sont actuellement préférés à ceux basés sur l'analyse des protéines lors de la caractérisation des différents champignons phytopathogènes.

II.6.1. Méthodes basées sur l'analyse des protéines

Elles comportent l'étude des protéines totales, des allozymes et le plus souvent l'étude des isozymes. Il existe diverses études où cette dernière approche a été utilisée pour la différenciation et la caractérisation entre les isolats, les formes spéciales ou les races de plusieurs champignons phytopathogènes (Burdon et Marshall, 1981 ; Berner *et al.*, 1983 ; Alfenas *et al.*, 1984 ; Lin *et al.*, 1989 ; Fofana *et al.*, 1992 ; Weitz *et al.*, 1993). Les marqueurs de type isozymes ont montré leurs limites, car pour chaque système enzymatique, les conditions optimales d'extraction et d'utilisation des tampons doivent être déterminées. De plus, la variation intra-spécifique peut être trop faible pour être détectée avec ce type de méthode. Enfin, certains enzymes sont exprimés uniquement à des stades de développement particuliers ou peuvent être spécifiques à certains tissus (Michelmore et Hulbert, 1987).

II.6.2. Méthodes basées sur l'analyse de l'ADN

Un large spectre de méthodes rentre sous la coupole des techniques basées sur l'étude de l'ADN. Parmi les plus utilisées, nous discuterons la RFPL (Restriction Fragment Length Polymorphism), la RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), l'AFLP (Amplified Fragment Length) et les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeat). Chacune de ces méthodes présente des avantages et des inconvénients :

A. La RFPL (Restriction Fragment Length Polymorphism)

Le polymorphisme de taille des fragments de restriction implique une digestion de l'ADN génomique par des enzymes de restriction, ceci génère plusieurs fragments. Les bandes sont alors identifiées individuellement grâce à une hybridation avec une sonde appropriée (Apuya *et al.*, 1988). C'est un outil important dans l'identification de la diversité inter et intra-spécifique (Southern, 1979). Lors de l'étude d'un fragment d'ADN ou d'un gène particulier, la digestion enzymatique peut être précédée d'une PCR (Frisvad *et al.*, 1998), nous parlons alors de la PCR-RFPL. Cette dernière approche est largement exploitée pour l'étude de plusieurs espèces fongiques ; lorsqu'elle est suivie d'un séquençage des fragments générés, elle est très utile pour les investigations afférentes à la variabilité entre souches, l'évolution des populations et celle des espèces (Xu, 2010). Dans cette optique, les régions ITS (Internal Transcribed Spacers) sont largement utilisées pour la comparaison entre espèces (Nasraoui et Lepoivre, 2003), ce sont probablement les régions les plus séquencées chez les champignons actuellement. De même, les IGS (Inter Genetic Spacer), sont plus recommandées pour l'étude de la diversité intra-spécifique car ces séquences possèdent la variabilité la plus importante observée au niveau de l'ADN ribosomique. Enfin, il est à noter que la PCR-RFLP peut générer d'excellents marqueurs co-dominants de grande stabilité et reproductibilité, idéal aussi bien pour les organismes haploïdes que diploïdes (Xu *et al.*, 1999).

B. La RAPD (Random Amplified Polymorphic)

Elle consiste en l'amplification par PCR de fragments de l'ADN génomique en utilisant des amorces arbitraires de courte taille (10 pb) (Williams *et al.*, 1990). L'analyse via cette méthode révèle deux types de variation génétique ; celle de la longueur du fragment qui

sépare deux sites d'hybridation de l'amorce, et la variation dans la séquence du site d'hybridation (Xu, 2001). Cette technique est reconnue pour être simple, rapide et ne nécessite pas de connaissance préalable de la séquence. Son inconvénient majeur réside dans le fait qu'elle manque de reproductivité car elle est très sensible à la concentration en ADN et aux conditions d'amplification (Najimi *et al.*, 2003). Elle a été utilisée afin d'évaluer le niveau de la diversité génétique entre les races de plusieurs champignons phytopathogènes (Chen *et al.*, 1993 ; Kolmer *et al.*, 1995 ; Borchardt *et al.*, 1998 ; Gonzalez *et al.*, 1998 ; Hamelin *et al.*, 1998). Elle a également été l'outil d'identification et de discrimination entre les pathotypes d'autres espèces (Kelly *et al.*, 1994 ; Goodwin et Annis, 1991). De même qu'elle a été largement employée pour la discrimination entre isolats de provenances diverses (Vakalounakis et Fragkiadakis, 1999 ; Singh, 2001 ; Santos *et al.*, 2002 ; Singh et Hughes, 2006). Elle permet aussi la mise en évidence de certains marqueurs ; tel est le cas à titre d'exemple pour *Pyrenophora teres f. teres* chez qui un marqueur RAPD associé à une faible virulence a été identifié (Weiland *et al.*, 1999). Enfin, elle est recommandée pour le développement d'empreinte génétique utilisé comme marqueur épidémiologique (Xu, 2010).

C. L'AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphic)

Elle est fondée sur l'amplification sélective des fragments de restriction. Elle comporte trois étapes : (i) L'ADN génomique est clivé par deux enzymes de restriction, puis des adaptateurs de séquences connues et spécifiques des enzymes de restriction utilisées sont ajoutés aux extrémités des fragments. (ii) L'amplification sélective des fragments de restriction : une première amplification, dite pré-amplification est réalisée à l'aide d'amorces de séquences complémentaires à la séquence des adaptateurs et des sites de restriction, la deuxième amplification, dite sélective, utilise des amorces identiques aux premières mais prolongées à l'extrémité 3' de 1 à trois nucléotides; ces amorces sélectives permettent de réduire le nombre de fragments amplifiés à une centaine. (iii) L'analyse des fragments amplifiés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (Vos *et al.*, 1995). Cette technique est puissante, stable et rapide, elle ne nécessite aucune connaissance préalable de séquences du génome étudié (Najimi *et al.*, 2003). Toutefois, elle nécessite une très bonne qualité de l'ADN et un niveau de technicité important. La technique AFLP s'est révélée être un outil très précieux dans les études des structures génétiques des champignons et leur diversité. Sa grande sensibilité génère plus d'information sur la variabilité que toute autre technique moléculaire (Majer *et al.*, 1996). Son application a été rapportée à titre d'exemple, sur *Septoria* (Kema *et al.*, 2002 ; Schnieder *et al.*, 1998), *Leptosphaeria* (Pongam *et al.*, 1999) , *Fusarium* (Abd-El Salam *et al.*, 2002) et *Pyrenophora tritici-repentis* (Leisová *et al.*, 2008 ; Friesen *et al.*, 2005).

D. Les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeat)

Les microsatellites sont constitués de séquences de di-, tri- ou tétranucléotides répétés en tandem. Ces éléments sont uniformément répartis en plusieurs exemplaires sur l'ensemble du génome d'une espèce et présente un taux de polymorphisme élevé. Ce dernier est dû à la variation du nombre d'unités de répétition constituant le microsatellite (Morgante et Olivieri, 1993). Par voie de conséquence, la technique SSR repose sur l'amplification de ces motifs et

la détection de la différence entre le nombre de répétition chez les individus différents. Ceci est possible après le développement d'amorces complémentaires des régions flanquant le microsatellite (Field *et al.*, 1996). Cette méthode présente l'avantage d'être reproductible et nécessite peu d'ADN, mais elle est longue et coûteuse (Verscheure *et al.*, 2002). Elle a été, à l'origine, utilisée pour évaluer la diversité chez les végétaux et les animaux puis utilisée actuellement pour l'étude des champignons (Guo, 2010). Cependant, les microsatellites des espèces fongiques semblent exhiber un polymorphisme moins important que celui des autres organismes (Dutech *et al.*, 2007). Ainsi, la technique SSR a été employée dans plusieurs travaux traitant de diversité moléculaire d'espèces fongiques. A titre d'exemple, chez *Phaeosphaeria nodorum*, l'utilisation de cette méthode sur une collection de 693 isolats provenant de champs de blé des cinq continents a montré l'existence d'une très grande diversité chez cette espèce mais un faible niveau de diversité entre les groupes provenant de continents différents. De même qu'il a été possible de démontrer que la similitude génétique observée entre les populations était due au taux de migration qui a permis de réduire la différenciation des populations (Stukenbrock *et al.*, 2006). L'amplification des microsatellites des ADN d'une collection d'*Ascochyta rabiei* a permis de classer les isolats en plusieurs groupes, mais aucune corrélation avec l'origine géographique n'a été retrouvée (Bayraktar *et al.*, 2007).

Chapitre III :

Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé sur terrain et au niveau des deux Laboratoires : Labo de mycologie, Pôle Microbiologie, Département Biologie ; et Labo N°31 : Gestion conservatoire de l'eau, du sol et des forêts et développement durable des zones montagneuses de la région de Tlemcen. Université Abou Bekr Belkaid -Tlemcen. Il porte sur l'isolement, l'identification et la caractérisation des champignons phytopathogènes infectent la tomate.

III. 1. Zone d'étude

III.1.1. Description de la zone d'étude

Situé en Oranie Occidentale, mais en position assez méridionale par rapport au reste du Tell algérien (34° à 34°50N, l'amont se trouve ainsi à la même latitude que la bordure nord du Chott Chergui et des Hautes plaines algéroises) et de dimensions assez modestes (superficie de 7 245 km², non compris les affluents se trouvant au Maroc), le bassin-versant de la Tafna est un véritable « résumé » des traits géomorphologiques et de l'évolution néogène de l'Oranie. La Tafna est le second grand cours d'eau de l'Oranie après le Chéelif (Fig. 22). C'est aussi, jusqu'à une date récente (1986-87), un cours d'eau pérenne, ce qui est remarquable dans nos contrées sèches. Il draine un bassin à relief de petites et moyennes montagnes constitué par :

- les Monts des Traras et les Sébaa Chioukh (1 200 et 600 m) au nord et qui font partie du Tell septentrional ;

- les Monts de Tlemcen (1 800 m) au sud, qui appartiennent au Tell méridional ou Tell atlasique. La Tafna débouche dans la mer Méditerranée, sur la bordure sud de la mer d'Alboran, au niveau de Rachgoun, sur une côte escarpée et à plate-forme continentale très large. La première originalité de son bassin, c'est son appartenance à deux domaines structuraux différents :

- alpin ou tello-rifain dans les Traras orientaux et les Sébaa Chioukh ;

- atlasique ou « Temcénien » selon l'expression de S. Elmi (1985) dans les Monts de Tlemcen et les Traras occidentaux (Remoun, 2003).



Figure 22 : La carte et la région géographique de la région étudiée (Google. earth, 2024)

III.2. Problématique d'étude

La présente étude a été réalisée dans une ferme cultivant de la tomate. La ferme se situe à proximité de « Oued Tafna ». Grâce à des observations visuelles sur le terrain, nous avons détecté des problèmes phytosanitaires sous forme de symptômes à l'échelle des parties aériennes et souterraines, ce qui nous a amené à nous interroger sur l'étiologie de ces symptômes, sachant qu'aucun trou d'insecte n'a été observé. L'hypothèse sur l'incidence des jeunes plantules de la tomate par les endophytes fongiques (particulièrement les ascomycètes) figure en tête. Pour cela, une analyse mycologique a été effectuée sur ces plantules symptomatiques, afin d'identifier, et caractériser les champignons phytopathogènes associés à l'apparition de ces symptômes sur les plantules de la tomate.

III.3. Prospection et échantillonnage

III.3.1. Le choix de site prospecté

Le choix de cette zone d'étude, est basé sur les caractéristiques de la station (géographiques, édaphiques, écologiques,...), l'état sanitaire de la tomate qui existent, ainsi que sur la présence ou non des symptômes d'infections de plusieurs champignons qui ceux décrits par plusieurs auteurs (Carrier *et al.*, 2009 ; Ammad *et al.*, 2014, Linaldeddu *et al.*, 2015 et Arkam *et al.*, 2021) : comme l'amincissement, la décoloration ou le jaunissement des parties aériennes (Feuilles), les taches noires sur la collet, la nécrose au niveau feuilles et des pourritures sur les fruits ou au niveau des racines..

III.3.2. Méthodes d'échantillonnage

La présente étude s'articule sur l'isolement, l'identification et la caractérisation des champignons aériens et telluriques associés à l'apparition de la symptomatologie observée sur les jeunes plantules de la tomate. Pour cela, deux méthodes ont été utilisés :

III.3.2.1. Partie aérienne (Feuilles et tige)**III.3.2.2. Partie souterraine (Sol et racines)**

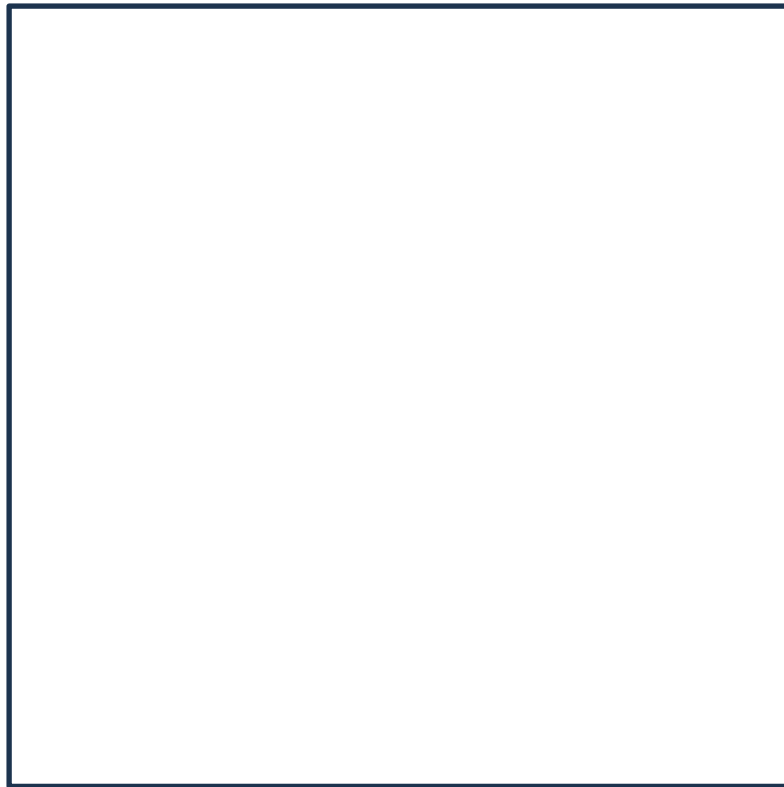


Figure 23 : Prélèvement des échantillons (Partie aérienne et souterraine) (Original)

III.3.3. Isolement, purification et identification des endophytes fongiques

III.3.3.1. Milieux de cultures utilisés

Le choix d'un milieu de culture est très important pour une bonne croissance et une identification bien définie des champignons phytopathogènes. Suivant les besoins expérimentaux, trois (03) types de milieu de culture sont mise en œuvre afin d'isoler, purifier ou caractériser les espèces fongiques isolées. Les milieux utilisés sont : le PDA, MEA et l'Agar-agar. La composition des milieux de cultures utilisés est indiquée dans l'annexe 1.

III.3.3.1.1. Milieu PDA (Potatos Dextrose Agar)

Le Milieu PDA (Potatos Dextrose Agar) est utilisé pour la croissance et le développement de la plupart des champignons microscopiques grâce à sa capacité de conférer les besoins et les conditions vitaux d'une large gamme des champignons phytopathogènes (Smahi, Com. Pers.). C'est un milieu microbiologique mixte à base d'infusion de glucose de pomme de terre. Dans cette étude, le milieu a été utilisé pour isoler, identifier et caractériser les souches fongiques obtenues.

III.3.3.1.2. Milieu MEA (Malt Extract Agar)

Sur la base des exigences nutritionnelles strictes de certains types de champignons, le milieu MEA a été utilisé pour la purification, l'identification et la caractérisation de certains groupes. Il assure une bonne croissance du mycélium.

III.3.3.1.3. Milieu Agar-agar

L'isolement de certains champignons phytopathogènes est extrêmement difficile, cela peut être dû à la faible capacité compétitive de ces micro-organismes par rapport aux champignons saprophytes et aux bactéries. De plus, la production des spores pour certains champignons est difficile. Dans ce cas là, l'utilisation de la gélose à l'eau est recommandée pour la croissance et la production des spores de certains espèces fongiques (Smahi, Com. Pers.)

Les trois milieux de culture ont été autoclavés à 121°C pendant 20 minutes, et additionnée par le Streptomycine comme antibiotique avec 500 mg.l-1 afin d'éliminer toutes croissance bactérienne.

III.3.3.2. Technique d'isolement directe (Partie aérienne)



Figure 24 : Préparation des échantillons de la partie aérienne (Original)

III.3.3.3. Technique de suspensions-dillutions (Partie souterraine)

Pour les échantillons de la partie souterraine, nous avons effectués des isolements basés sur la methode de suspensions-dillutions (Fig. 25). Plusieurs scientifiques ont utilisé la dilution en série et diverses techniques de placage depuis plus d'un siècle pour quantifier de façon fiable la charge bactérienne, fongique et virale dans les environnements cliniques, industriels, pharmaceutiques et universitaires de laboratoire (Koch, 1883 ; Ben-David et Davidson, 2014 ; Pepper *et al.*, 2019).

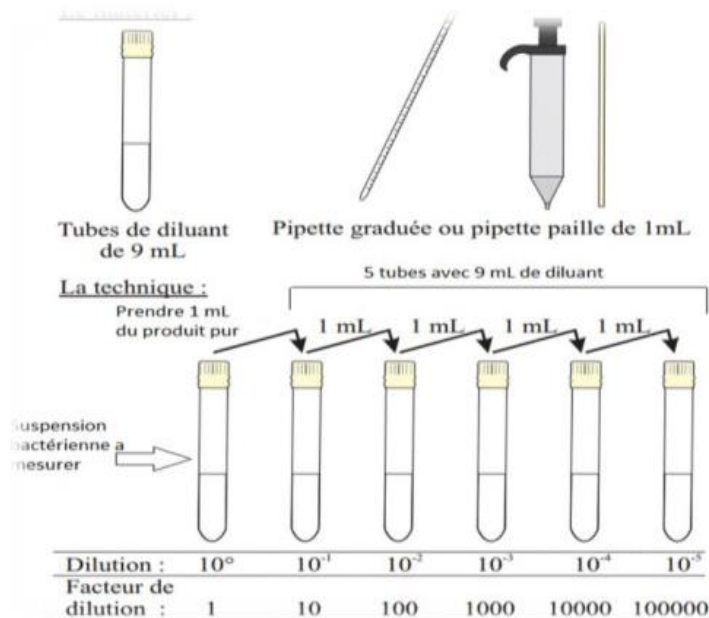


Figure 25 : Le protocole de la méthode de suspensions-dillutions (Anonyme, 2014)

Dans la présente étude, nous avons procédé à la dilution en utilisant l'eau physiologique stérile (9g de Na Cl /un litre de l'eau distillée stérile).

10 g de chaque échantillon du sol, a été ajouté à 90 ml d'eau physiologique stérile (solution mère). Ensuite, 1 ml de cette solution mère a été prélevé et additionné à 9 ml d'eau physiologique stérile, ce qui correspond à la dilution 10^{-1} . Puis, 1 ml de cette dernière est ajouté à 9 ml d'eau stérile pour avoir la dilution 10^{-2} jusqu'à arriver à la dilution 10^{-5} pour chaque échantillon.

Dans des boîtes pétri contenant l'un des milieux de culture cité précédemment, auquel on a incorporé un antibiotique (Streptomycine) pour inhiber la prolifération des bactéries, 1 ml de chaque dilution est étalé. Les boites ont été codifiées selon le numéro de l'échantillon du sol et la dilution correspondants et mises à l'obscurité à une température $25C^{\circ}$, pendant 4-7 jours (Fig.26).

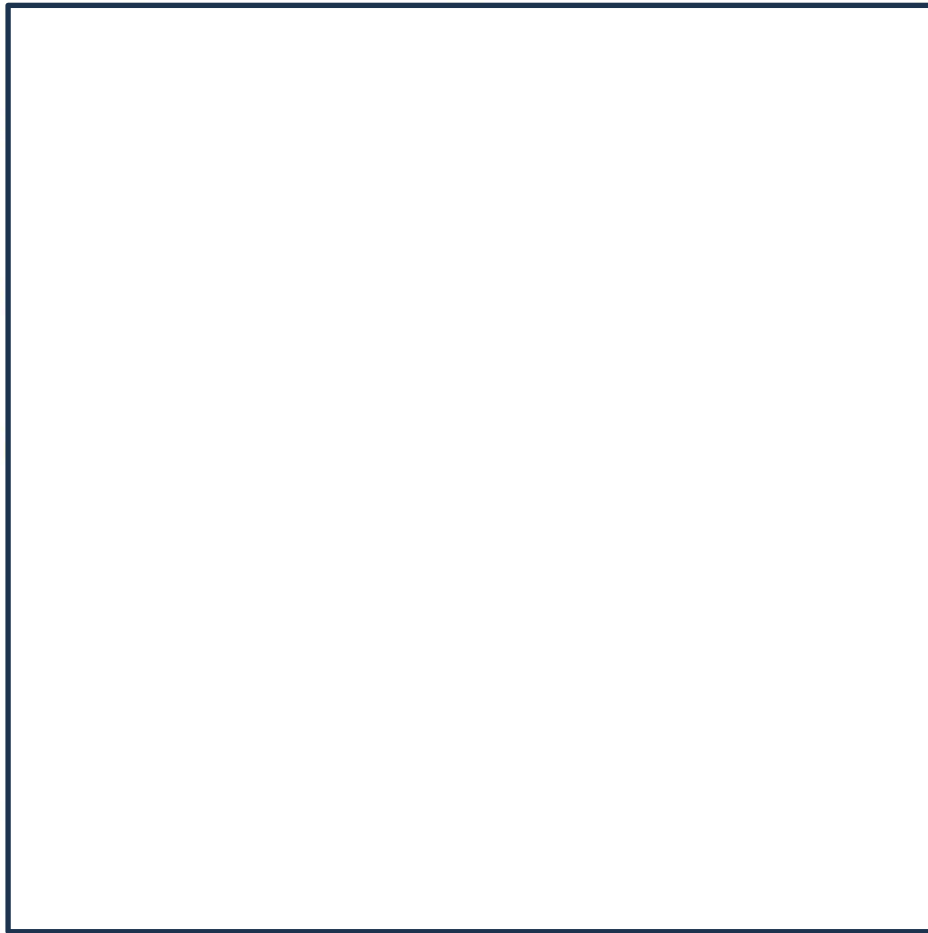


Figure 26 : La méthode de suspensions-dillutions (Original)

III.3.3.4. Identification des souches fongiques isolées

L'identification des souches isolées est basée, dans un premier temps, sur une étude macroscopique des caractères cultureux sur milieu solide (aspect avers et revers des cultures), et dans une seconde étape, une étude microscopique des caractères morphologiques des

organes de reproduction sexuée et/ou asexuée et du type de mycélium, signale Plaats-Niterink (1981).

✓ L'identification macroscopique

Les souches pures obtenues ont été groupées conformément et classées en fonction de leurs caractéristiques macroscopiques afin de ne sélectionner que des représentants de chaque groupe pour l'identification. Ces caractéristiques morphologiques comprennent : apparence de la colonie sur milieu de culture, relief, taille, couleur (face et revers), l'odeur et la forme de la marge. Chaque caractère est examiné à l'œil nu sur une plaque lamineuse.

✓ L'identification microscopique

Tout d'abord, l'aspect microscopique des espèces a été étudié avec un microscope optique avec un logiciel et caméra.

Quant à la préparation des lames : un petit morceau de mycélium a été prélevé sur la marge du thalle à l'aide d'une aiguille stérile et placé sur une lame propre avec une goutte d'acide lactique, ce qui assure l'isotonie de la cellule fongique. Une lamelle a été déposée sur la préparation avec une goutte d'huile d'immersion.

Le microscope est utilisé pour observer les espèces fongiques à des grossissements de x10, x40 et x100, et les espèces ont été identifiées en se basant sur des critères microscopiques tels que la forme de la vésicule, la disposition et la forme des spores et des conidies, la septation des conidies, le cloisonnement du mycélium, etc.

Plusieurs guides ont été utilisés pour cette identification à savoir : Barnett et Hunter (1972), Botton et al. (1990), Champion (1997) et Plaats-Niterink (1981).

III.3.3.5. Caractérisation des espèces

III.3.3.5.1. Test de température

La température est considérée comme l'un des facteurs les plus importants au développement des endophytes fongiques. Pour cela, un test de température a été réalisé à différentes températures afin de déterminer l'optimale de chaque espèce isolée. Le protocole expérimental est le suivant : Un fragment de mycélium de 0.5 x 0.5 cm de chaque isolat a été prélevé sur la marge des cultures pures et mis au centre des boîtes de pétri coulées préalablement par un milieu PDA. Ensuite, les boîtes sont incubées à différentes températures : 5, 10, 15, 20, 25,

30, 35 et 40 ° C ($\pm 0,5$ ° C) dans l'obscurité. Trois (03) répétitions ont été faites pour chaque isolat dans une température donnée. Deux mesures perpendiculaires l'une à l'autre ont été prises sur le diamètre de la colonie après 24, 48 et 72 heures d'incubation, le temps suffisant pour que le mycélium ait la croissance la plus rapide et couvre toute la boîte de pétri. Les mesures ont été enregistrées dans un tableau afin de connaître la température optimale, minimale et maximale pour chaque espèce (Fig. 27).

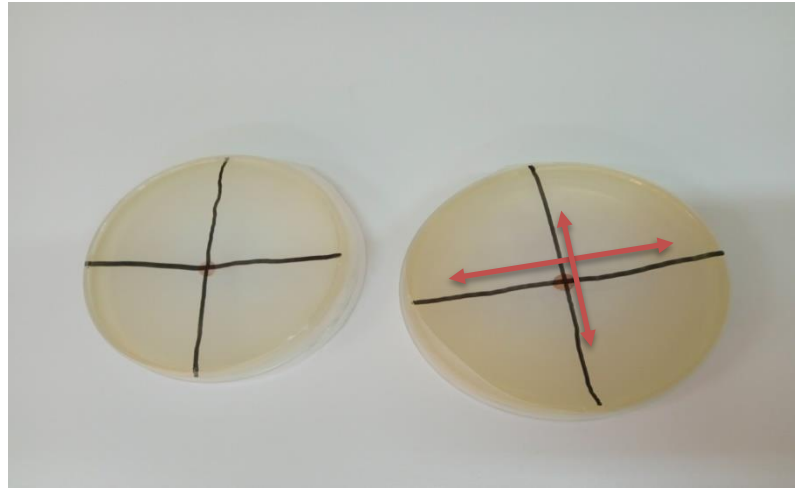


Figure 27 : Test de température (Original)

III.3.3.5.2. Test d'antagonisme

Un test d'antagonisme a été effectuée selon la méthode décrite par Benhanou et Chet (1996). Le test a été réalisé pour les deux espèces : *Alternaria tomatophila* et *Fusarium* sp.

Sur des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture PDA, deux bouchons mycéliens (5 mm de diamètre) ont été prélevé sur le pourtour des cultures des deux champignons concernés par le test et les déposés sur la même ligne de la boîte pétri face à face. Chaque combinaison fait l'objet de deux (2) répétitions.

Les boites sont incubées, par la suite, dans l'obscurité à 25 °C. La croissance mycélienne des deux champignons est évaluée toutes les 24 heures pendant 5 jours dans la même heure (Fig. 28).

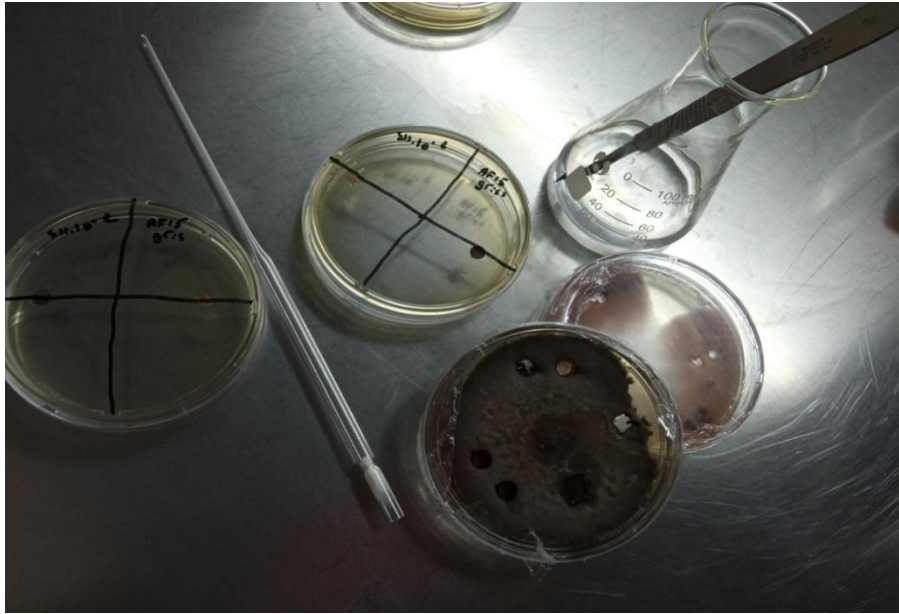


Figure 28 : Test d'antagonisme (Original)

III.3.3.5.3. Conservation des souches par congélation

La congélation est un procédé pratique et rapide pour la conservation des champignons.

La conservation des isolats obtenus a été réalisée à partir des cultures fongiques bien sporulées. La méthode consiste à prélever des fragments mycéliens à partir des souches fongiques pures et les déposer dans des Eppendorf stériles. Ces derniers contiennent un pourcentage de 60% d'eau distillée stérile, accomplie par 40% de glycérol (Fig. 29).

Les Eppendorf ont été conservés à une température de 4 °C, afin assuré leur viabilité, pendant une période allant jusqu'à un an.



Figure 29 : La conservation des souches pures (Original)

III.3.4. Etude statistique

L'analyse statistique des données relatives à la flore fongiques isolées à partir des plantes infectées de la tomate, a été effectuée avec le programme statistique R studio. En effet, le test d'ACM, le test de Mann-Whitney et les analyses descriptives ont été réalisés par ce programme.

En revanche, l'indice de Shannon et Weaver, ainsi que, les graphes et les cercles ont été réalisés par l'Excel (2010).

Chapitre IV :

RESULTATS ET DISCUSSION

La présente étude a été réalisée selon deux étapes ; la première est sur terrain (Échantillonnage), et la seconde (expérimentale) est au niveau de laboratoire.

IV.1. Symptomatologie

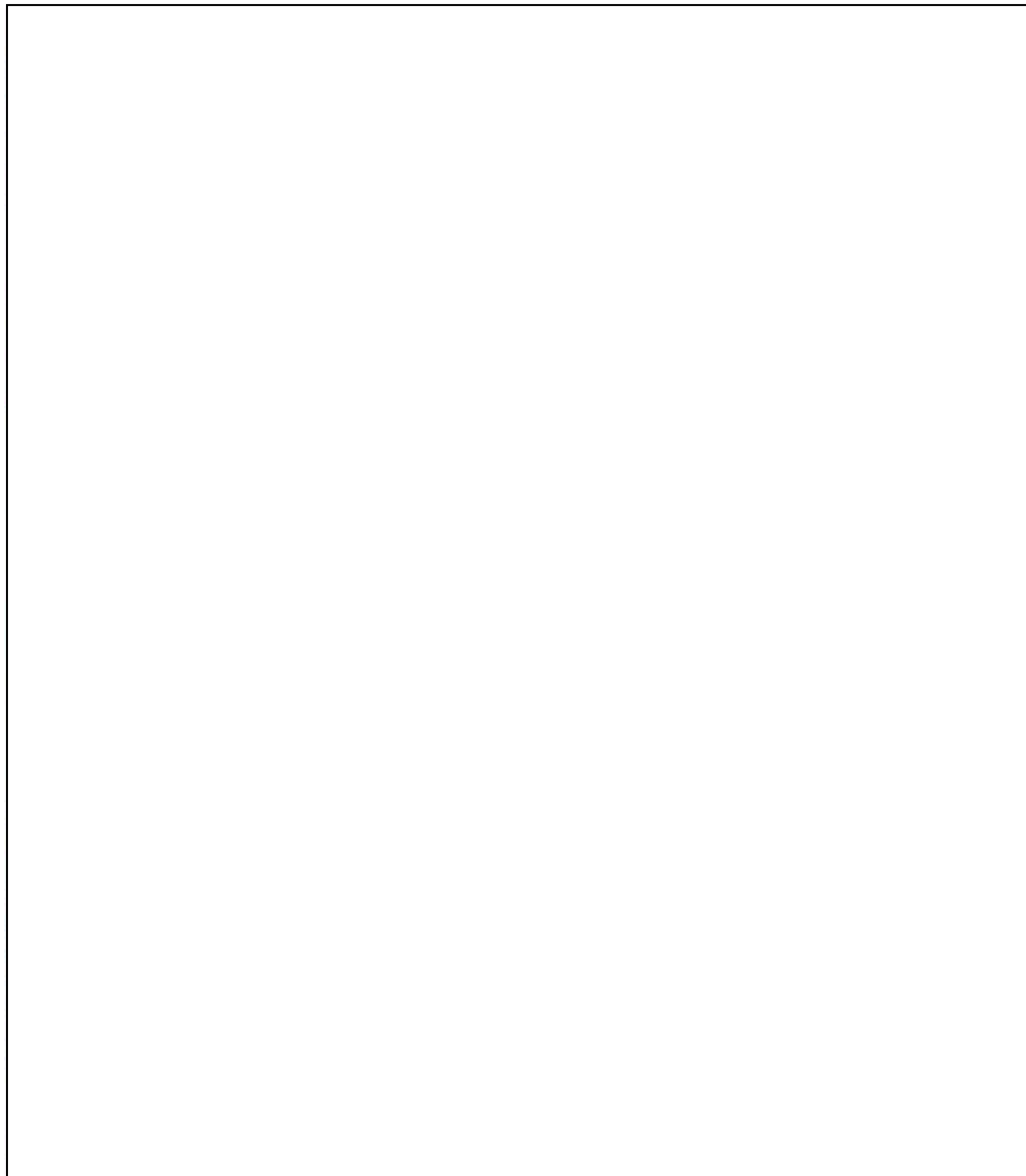


Figure 30 : Symptomatologie observée sur les plantes de la tomate :(A) Nécroses au niveau des feuilles infectées;(B) tâches et pourrissement au niveau des fruits ; (C) les chancres des tiges ; (D) flétrissements des plantes (Original).

IV.2. Importance des endophytes fongiques chez les plantes de la tomate

L'étude macroscopique et microscopique des souches isolées ont révélé la présence de treize (13) espèces fongiques appartenant aux différents genres (Tab. 2).

Tableau 2: taxonomie des champignons isolés.

Division	Ordre	Espèce
Ascomycota	Hypocreales	
	Pleosporales	
	Helotiales	
Deuteromycotina	Eurotiales	
	Eurotiales	
Zygomycotina	Mucorales	
	Botryosphaeriales	

IV.2.1. La microflore associée aux plantes de la tomate infectées

Les résultats de l'identification microscopique et macroscopique des espèces isolées à partir des cultures de la tomate dans la région Tafna (Wilaya de Tlemcen), ont révélé une grande diversité fongique au niveau du sol, racines, tiges et feuilles échantillonnés (Tab. 3).

Les cultures obtenues confirment la présence de plusieurs endophytes fongiques appartenant à cinq (5) familles différentes à savoir : Nectriaceae, Sclerotiniaceae, Trichocomaceae, Mucoraceae et Pleosporaceae.

Tableau 3: L'isolement des espèces fongiques à partir des plantes infectées de la tomate dans la région de Tafna

N° d'échantillon	Zone d'étude	Plante hôte	Partie de prélèvement	+/-	Espèces identifiées
AF1	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+	
AF2	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+	
AF3	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+	
AF4	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+	
AF5	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+	
AF6	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+	
AF7	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+	
AF8	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	-	
AF9	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+	
AF10	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+	
AF11	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+	
AF12	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+	
AF13	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+	
AF14	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+	
AF15	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+	
AT1	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+	

AT2	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+
AT3	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	-
AT4	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+
AT5	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	-
AT6	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+
AT7	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+
AT8	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+
AT9	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+
AT10	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+
AT11	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+
AT12	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+
AT13	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Feuilles	+
AT14	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+
AT15	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Tige/ Branches	+
S1	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	+
S2	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	+
S3	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	+
S4	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	+
S5	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	+

S6	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	+	
S7	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	-	
S8	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	+	
S9	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	+	
S10	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	-	
S11	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	+	
S12	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	+	
S13	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	+	
S14	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	-	
S15	Tafna	<i>Solanum lycoperscium L.</i>	Sol / Racine	+	

D'après le tableau précédent, treize (13) espèces ont été isolées à partir des plantes infectées de la tomate, la majorité sont pathogènes, les autres sont saprophytes. Selon leurs caractéristiques culturels et microscopiques, les espèces isolées ont été identifiées comme suit :

(Fig. 31). Une humidité abondante et une température élevée dans l'air comme dans le sol sont les deux facteurs environnementaux les plus importants qui régulent cette distribution de ces espèces isolées.

La fréquence des souches fongiques isolées à partir de 45 échantillons prélevés, variée d'une espèce à une autre, selon l'organe de prélèvement (Tige, feuilles ou rhizosphère) (Fig. 32).

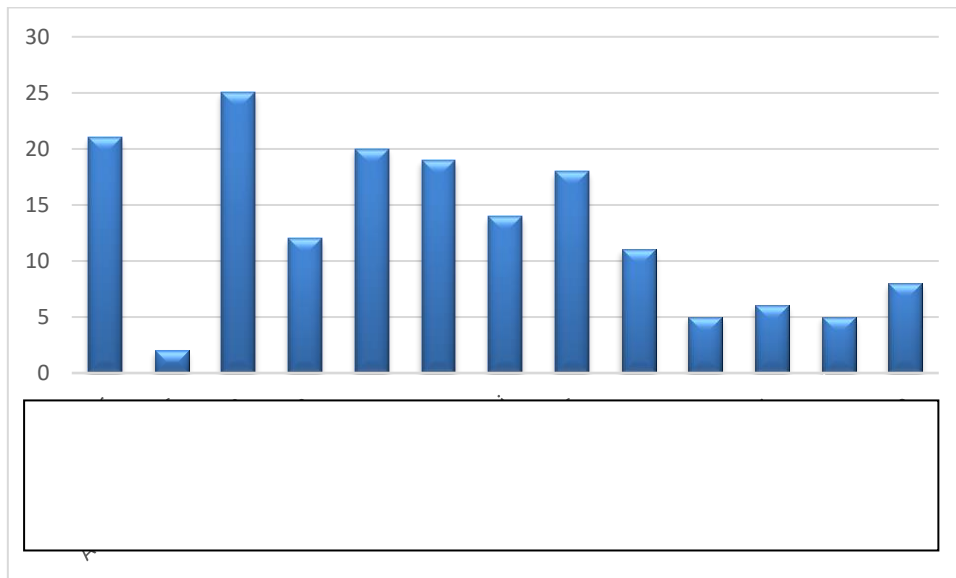


Figure 31: L'effectif des endophytes fongiques dans les cultures de la tomate.



Figure32 : Un cercle représente le pourcentage de chaque espèce identifiée

IV.2.2. Etude statistique

IV.2.2.1. L'analyse des correspondances multiples (ACM) avec Factoshiny

L'analyse des correspondances multiples (ACM) est une méthode d'analyse factorielle adaptée aux données qualitatives (aussi appelées catégorielles), l'ACM la généralise en permettant d'étudier le lien entre plusieurs variables qualitatives (Fig. 33).

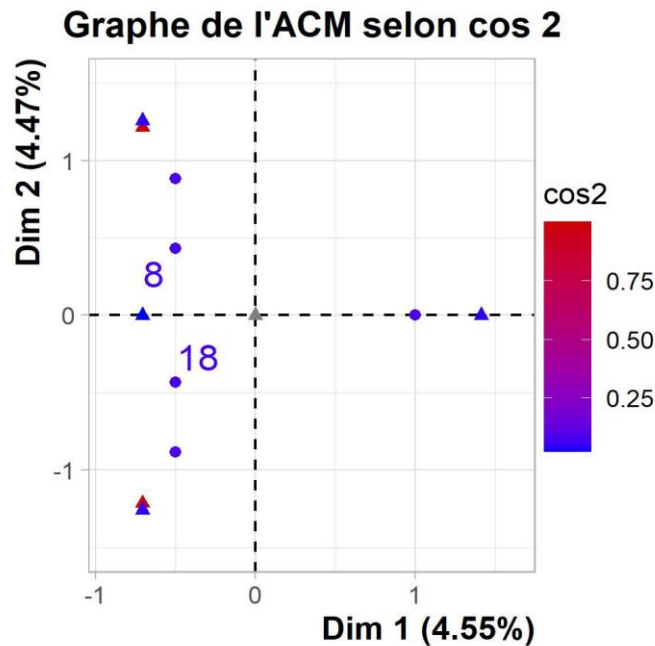


Figure 33 : Graphe de corrélation de l'ACM

Selon la figure précédente (Fig. 33), on observe une corrélation positive entre les paramètres au sein la zone d'étude (Tafna). Cette corrélation positive entre les caractères peut s'expliquer soit par l'influence de gènes, c'est-à-dire que ces caractères sont contrôlés par un ensemble de gènes communs, soit par des réactions similaires à des conditions environnementales. Pour exclure l'une ou l'autre probabilité, il serait nécessaire d'observer la même population évoluant dans deux biotopes différents et de voir si les corrélations changent. Si les corrélations restent constantes, cela indiquerait que les caractères sont principalement influencés par des gènes communs. Si les corrélations varient, cela suggérerait une influence environnementale prédominante.

Les données du tableau ci-dessous (Tab. 4) fournissent un aperçu détaillé des caractéristiques de la population fongique étudiée. Le nombre d'échantillon moyen est de 23.67 avec un écart-type de ± 13.53 , la partie de prélèvement moyen de 2 ± 0.83 et la présence et l'absence des champignons (+/-) a moyen de 8.87 ± 0.34 . De plus, la moyenne du caractère « espèce identifiée » est de l'ordre de 21.38 ± 12.70 . Ces statistiques offrent des informations

précieuses sur la morphologie, la masse, la complexité et la qualité du milieu. Elles fournissent aussi une base solide pour analyse et l'interprétation des données d'étude.

Tableau 4: Les moyennes, écart type, minimum, maximum et médiane des 3 caractères qualitatif et caractères quantitatifs étudiés de la population fongique isolée.

Caractère	Moyenne	Ecart type	Médiane	Minimum	Maximum
N° d'échantillon	23.67	13.53	24	1	46
Partie de prélèvement	2	0.83	2	1	3
+/-	8.87	0.34	1	0	1
Espèce identifiée	21.38	12.70	21	1	43

IV.2.2.2. Test de Mann-Whitney

Nous avons réalisé un test de normalité en utilisant le test de Shapiro-Wilk dans R Studio. Ce test a pour objectif de vérifier si notre jeu de données suit une distribution normale.

La p-valeur obtenue à partir du test est de 0.002. Puisque cette p-valeur est inférieure au seuil de signification conventionnel de 0,05, nous avons rejeté l'hypothèse nulle.

En conséquence, nous ne pouvons pas utiliser l'analyse de la variance (ANOVA à un facteur), l'une des raisons pour laquelle, nous nous dirigeons vers le test de Mann-Whitney où nous avons obtenu les résultats suivants :

- La valeur de « p » de la zone d'étude est $0.866 > 0.05$ supérieur au seuil de signification ;
- La valeur de « p » de la plante hôte (*Solanum Lycoperscium* L.) est $0.866 > 0.05$ supérieur au seuil de signification ;
- La valeur de « p » de la partie de prélèvement distribué sur : la feuille ($0.866 > 0.05$), la tige ($0.933 > 0.05$), le sol ($0.80 > 0.05$).

Les résultats s'avèrent que la différence entre les médianes n'est pas statistiquement significative mais nous ne disposons pas des preuves suffisantes.

IV.2.2.3. L'indice de diversité de Shannon et Weaver et d'équitabilité de Pielou

Suite au calcul de l'indice de diversité de Shannon et Weaver (H') et de l'équitabilité de Pielou (H max) sur Excel, nous avons obtenu un taux de 0,764 pour la population fongique isolée. Cette valeur relativement élevée suggère une diversité écologique importante. Ceci indique une variabilité substantielle des espèces fongiques étudiés de la partie souterraine et aérienne. L'indice de Shannon et Weaver a montré une grande variété entre les espèces isolées en fonction de la partie de prélèvement (Tab.5).

Tableau 5 : la diversité génétique de Shannon et Weaver et d'équitabilité de Pielou.

Caractères	H'/H max
Partie de prélèvement	0.8606
Modalité (présence absence)	0.4513
Espèces identifiées	0.9798
Moyenne	0.7639

IV.3. Identification et caractérisation de la flore fongique associées aux plantes de la tomate

Sur la base de l'analyse des caractéristiques à la fois à l'échelle macro et microscopique de chaque souche fongique dans un milieu de culture PDA, MEA ou Agar-agar, l'identification microscopique repose principalement sur l'analyse morphologique du mycélium (absence ou présence de cloisons, couleur, différenciation) et des spores (forme, couleur, texture des parois), et autres caractéristiques microscopiques.

IV.3.1. *Aspergillus Niger*

En examinant ces isolats à l'œil nu, on observe des colonies poudreuses, de couleur noire sur les deux milieux de cultures PDA et MEA. Le revers de la colonie porte une couleur jaune pâle et se plisse de façon radiale au cours de la croissance

Selon les clés d'identification de Botton *et al.* (1990), l'isolat fait partie de l'espèce *Aspergillus niger*, qui présente :

Un thalle à croissance rapide, avec une sporulation rapide, un mycélium cloisonné et des vésicules globuleuses. Les conidies sont globuleuses, parfois légèrement aplaties, brunes, échinuleuses et verruqueuses (Fig.34).

Températures cardinales : Le champignon est une espèce mésophile. Sa température de croissance optimale est de l'ordre de 37 °C, mais le champignon peut survivre jusqu'à 40 °C.

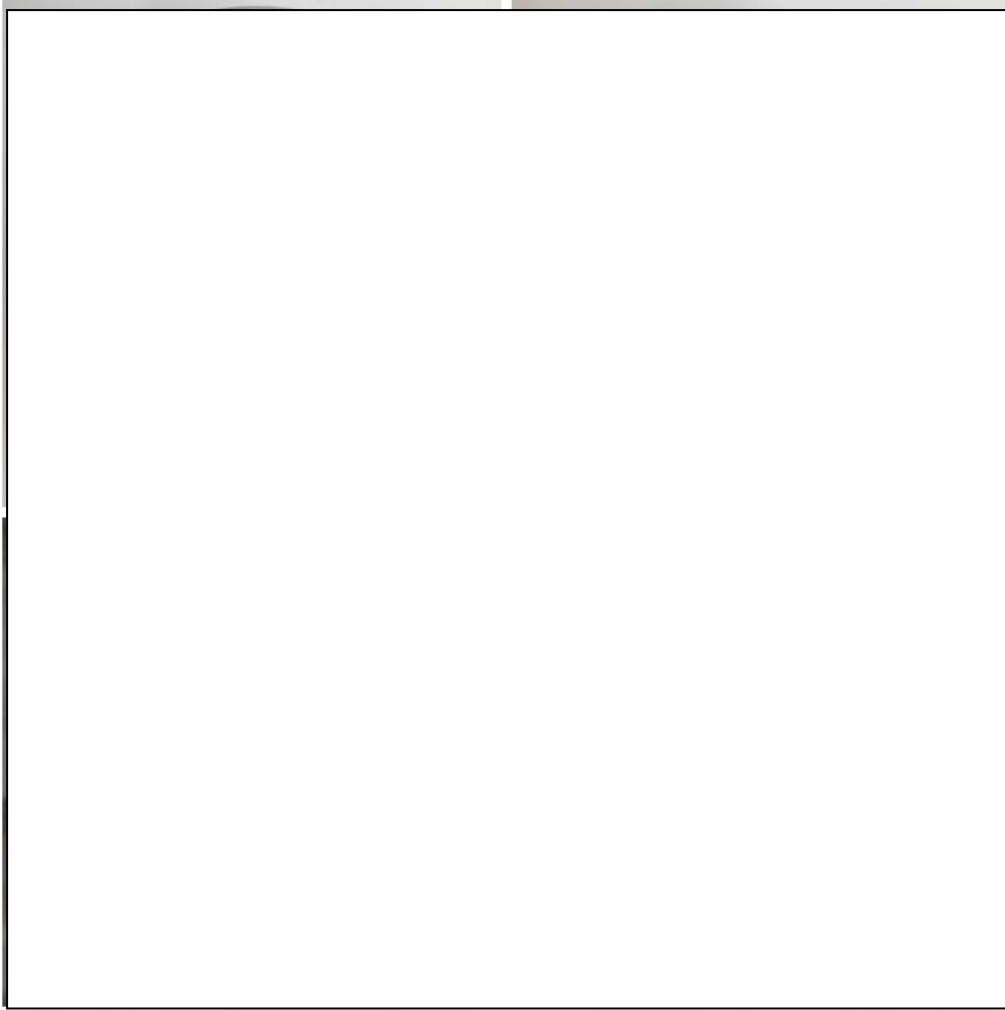


Figure 34 : *Aspergillus niger* : (en haut) Aspect macroscopique du thalle (face et revers) sur un milieu PDA ; (en bas) Observation microscopique du champignons (mycélium, spores), Obj x 40 (Originale).

IV.3.2. *Aspergillus fumigatus*

Aspergillus fumigatus est l'un des champignons saprophytes les plus répandus dans l'air. L'identification de cette espèce repose principalement sur la morphologie des conidies et des conidiophores.

L'organisme se caractérise par des conidies échinulées vertes, de 2,5 à 3 μm de diamètre, produites en chaînes basipétales à partir de phialides verdâtres, de 6 à 8 par 2 à 3 μm de taille (Fig. 35). Quelques isolats d'*A. fumigatus* sont dépourvus de pigments et produisent des conidies blanches. Les chaînes de conidies sont portées directement sur des vésicules largement clavées (20 à 30 μm de diamètre) en l'absence de métules. Aucun stade sexuel n'est connu pour cette espèce.

L'espèce a une croissance rapide, du fait que la taille de la colonie peut atteindre 4 ± 1 cm en une semaine lorsqu'elle est cultivée sur gélose à 25°C (Raper *et al.*, 1965). De plus, elle est de

nature thermophile, dont la croissance se produit à des températures allant jusqu'à 55°C et dont la survie est maintenue à des températures allant jusqu'à 70°C (Harden *et al.*,1988 ; Know-Chung *et al.*,1994 ; Samon *et al.*,1988).

Températures cardinales : D'après nos tests de températures, cette espèce se développe bien à des températures allant jusqu'à 45°C. Sa croissance optimale est de l'ordre 37 °C.

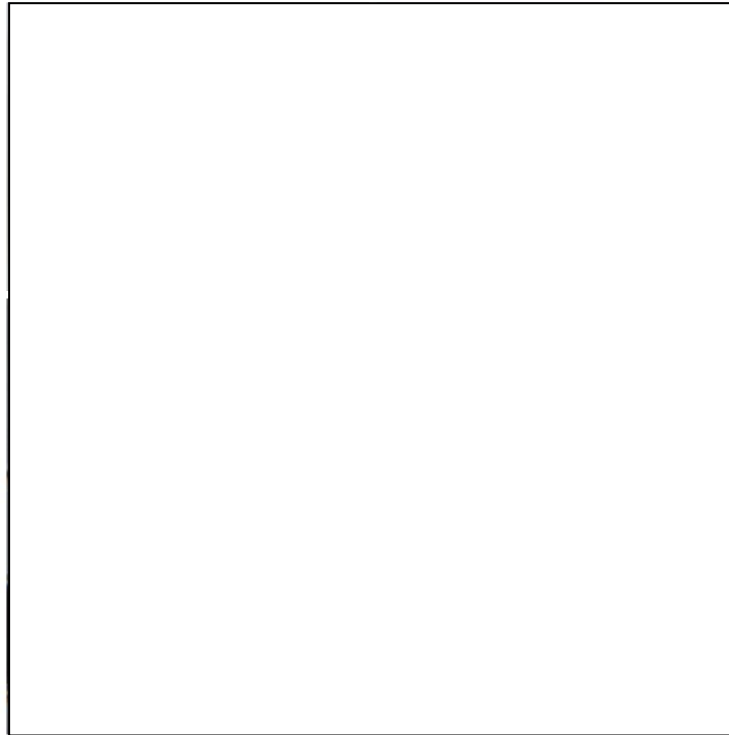


Figure : *Aspergillus fumigatus*: (en haut) Aspect macroscopique du thalle (face et revers) sur un milieu PDA ; (en bas) Observation microscopique du champignons (mycélium, conidiosphère), Obj x 10 (Originale).

IV.3.3. *Penicillium* sp.

Le diagnostic macroscopique révèle que ces isolats ont des colonies de couleur vert-bleuâtre (la couleur des phialides) et qu'elles sont veloutées (Fig. 36).

D'après les recherches de Pitt (1985), ces isolats sont ceux de l'espèce *Penicillium* sp., présentant les caractéristiques microscopiques suivantes :

- Des conidiospores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés, qui sont interconnectés et regroupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien conçues.
- Un thalle constitué de filaments mycéliens interconnectés et hyalins.

Températures cardinales : Les températures minimales et maximales de ce champignon sont 5 °C et 37 °C, respectivement. Son optimum de croissance se situe entre 25 °C et 27 °C.

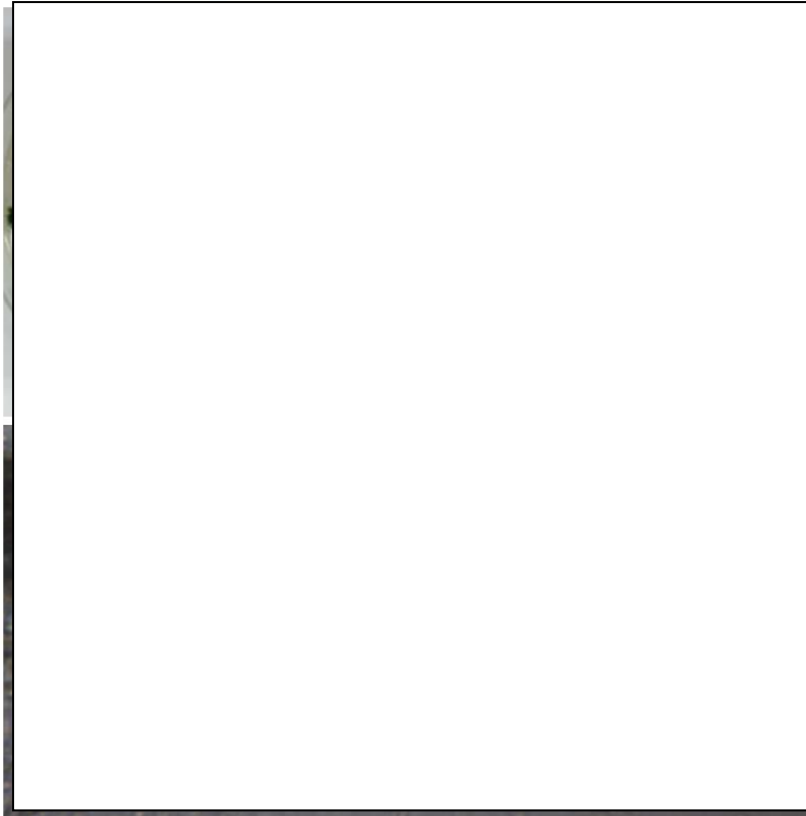


Figure 36 : *Penicillium* sp.: (en haut) Aspect macroscopique du thalle (face et revers) sur un milieu PDA ; (en bas) Observation microscopique du champignons (mycélium, vésicule et spores), Obj x 10 (Originale).

IV.3.4. *Penicillium solitum*

Penicillium est un genre de champignons filamenteux imparfaits de la classe des Deutéromycètes (Fig. 37). On connaît quelques formes parfaites (sexuées) qui font partie de la classe des Ascomycètes (Carpenteles, *Eupenicillium*, *Talaromyces*). Il existe entre 100 et 250 espèces dans ce genre (Botton *et al.*, 1999).

Les espèces de *Penicillium solitum* sont généralement des champignons polyphages, très répandus dans l'environnement et susceptibles de causer de nombreuses dégradations. Leur habitat est constitué du sol, des aliments, des matières organiques en décomposition, du compost, des graines, des céréales, etc...

Plusieurs espèces sont cultivées dans les usines pour la production de fromages (*Penicillium roqueforti* et *Penicillium camembertii*), pour la fabrication de métabolites tels que les antibiotiques (*Penicillium notatum* et *Penicillium chrysogenum*), l'acide gluconique (*Penicillium purpurogenum*) et de nombreuses mycotoxines (citrioviridine, griséofulvine, patuline, pénicilline, roquefortine, etc.) (Hawksworth *et al.*, 1995 ; Kiffer et Morelet, 1997).

Températures cardinales : L'espèce peut se développer entre 5 et 37 °C, avec un optimum entre 25 et 26°C.

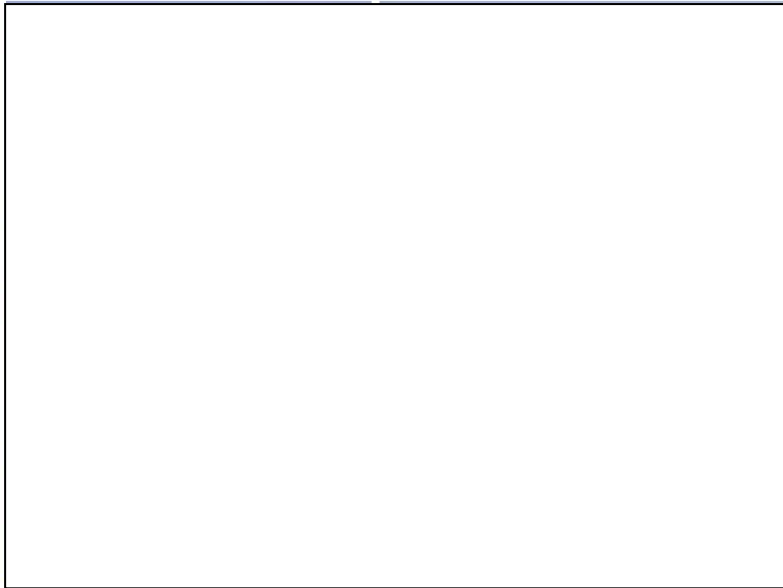


Figure 37: *Penicellium solitum* : Aspect macroscopique du thalle (Face et revers) (Original)

IV.3.5. *Penicellium communeon*

Les espèces de *Pen. Communeon* se sont des champignons polyphagies, très communs dans l'environnement, peuvent être responsables de nombreuses dégradations.

Sur les trois milieux de culture PDA, MEA et l'Agar-agar, les colonies ont une nature poudreuse, avec croissance rapide, et une couleur généralement verte.

Les observations microscopiques montrent que des conidiospores qui sont isolés ou groupés, simple ou ramifier (Fig. 38). De plus, les conidies sont disposées en longues chaînes, globuleuses, elliptiques, cylindriques ou fusiformes (Kiffer et Morelet, 1997).

Températures cardinales : L'espèce peut se développe entre 5 et 37 °C, avec un optimum de croissance à 25 °C.

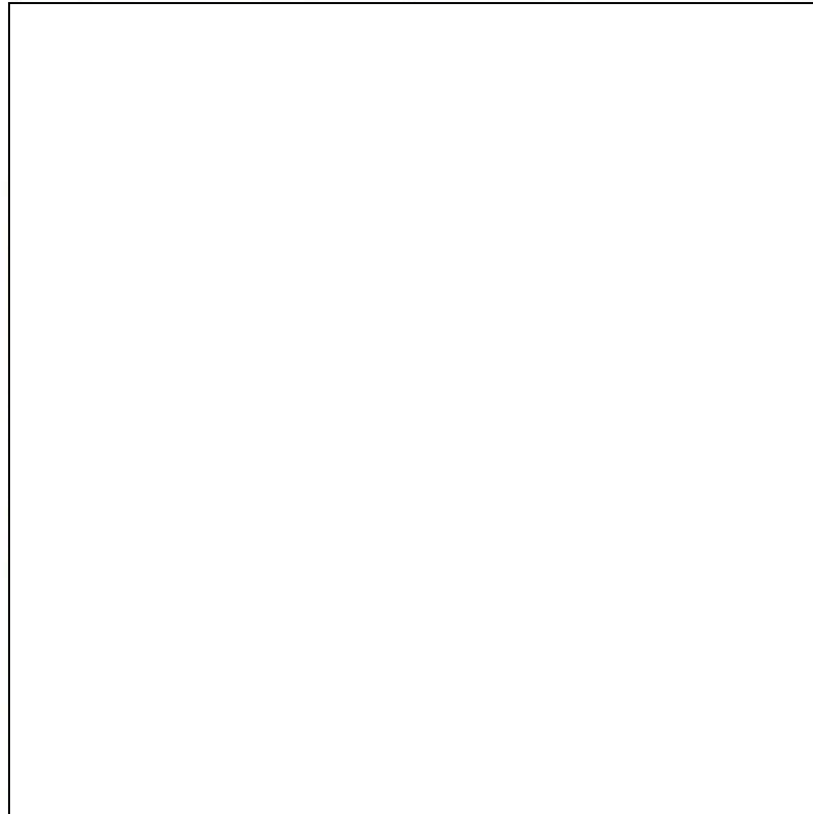


Figure 38 : *Penicellium communeon* sur un milieu MEA : (En haut) Aspect macroscopique du thalle (face et revers) ; (En bas) Aspect microscopique.

IV.3.6. *Fusarium solani*

Selon les clés d'identification utilisées (Chabasse *et al.*, 2002 ; Pit et Hocking, 2009 ; Campbel *et al.*, 2013), Six isolats ont été identifié comme *Fusarium solani*. Sur le milieu PDA les colonies sont duveteuses ou cotonneuses, le thalle est d'une couleur blanche, alternant souvent avec des sporodochies de couleur crème ou gris bleuâtre jusqu'à la périphérie (Fig. 39).

L'analyse microscopique révèle :

- Des microconidies cylindriques avec trois cloisons sont regroupées en deux à trois paires rapprochées et plus ou moins éloignées.
- Des sporodochies peuvent être formées avec de sept à neuf cloisons ; Les microconidies cylindriques avec trois cloisons sont regroupées en deux à trois paires rapprochées et plus ou moins éloignées.

Températures cardinales : L'espèce se développe bien entre 5 °C et 37 °C, avec un optimum entre 25 °C et 30 °C. Au-delà de cet intervalle, la croissance du champignon est nulle.

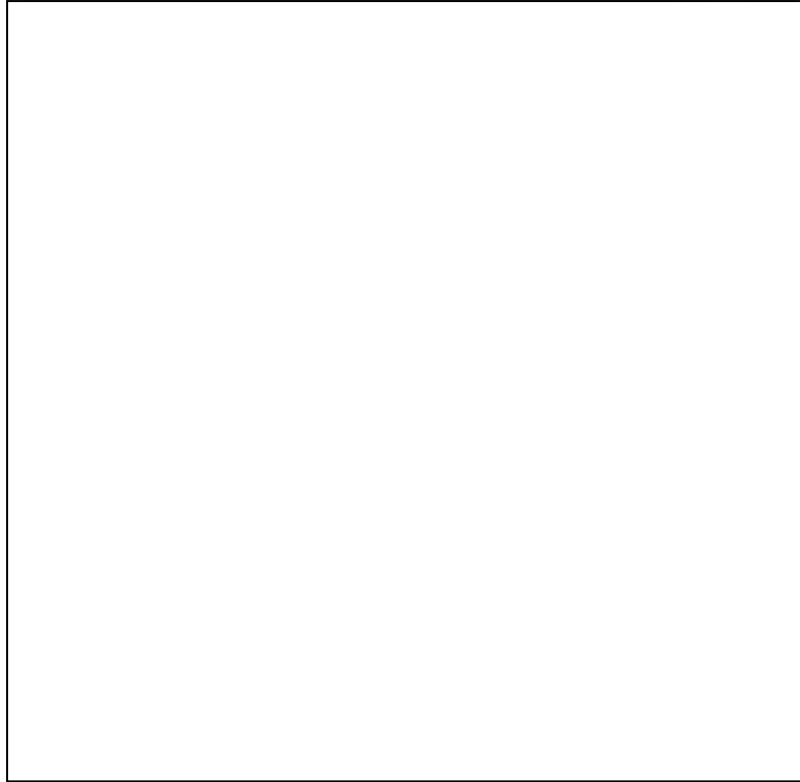


Figure 39: *Fusarium solani* : (en haut) Aspect macroscopique du thalle sur un milieu PDA ; (en bas) Observation microscopique de l'espèce fongique Obj x 40 (Originale).

IV.3.7. *Fusarium* sp.

Macroscopiquement, ces isolats présentent des colonies d'un blanc-rosé, d'un blanc-beige à une mauve pâle, avec un revers d'un brun jaune à un brun pourpre. Selon les isolats, les colonies peuvent être floconneuses ou rases, avec une apparence muqueuse ou veloutée (Fig. 40).

Selon les clés d'identification fournies par Botton *et al.* (1990), cet isolat est identifié comme étant *Fusarium* sp. L'examen microscopique révèle :

- Des conidies très distinctives de forme ;
- Les phialides portent des microconidies et des macroconidies ;
- Les macroconidies sont courtes, falciformes presque droite, avec des paroi mince et le plus souvent de 3 cloisons.

Températures cardinales : L'espèce est un mycète mésophile. Sa température de croissance optimale est de l'ordre de 37 °C, mais le champignon peut survivre jusqu'à 40 °C.

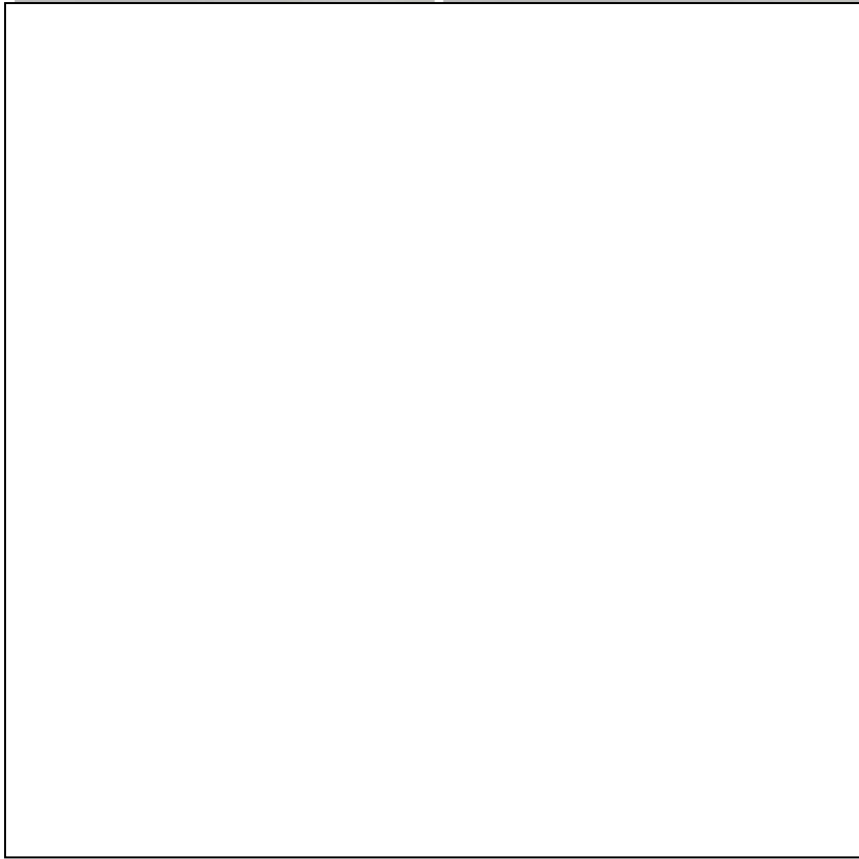


Figure 40: *Fusarium* sp. : (en haut) Aspect macroscopique du thalle sur un milieu PDA ; (en bas) Observation microscopique de l'espèce fongique Obj x 40 (Originale).

IV.3.8. *Fusarium oxysporum*

Les espèces identifiées comme *F. oxysporum*, porte un mycélium floconneux d'une couleur varie du blanc au violet pâle sur le milieu PDA.

Sous microscope, les macroconidies sont courtes, falciformes presque droite, à paroi mince et le plus souvent de 3 cloisons. Les macroconidies sont formées à partir des monophialides sur conidiophores ramifiés (Fig. 41). Les microconidies sont généralement cloisonnées avec une seule cloison, et une forme ovale ou réniforme et sont formées en abondance avec des fausses têtes sur des monophialides court. Les chlamydospores sont intercalaires et formées en abondance dans les hyphes.

Températures cardinales : Les températures minimales et maximales de ce champignon sont 5 °C et 37 °C, respectivement. L'optimum de croissance se situe entre 25 °C et 30 °C.

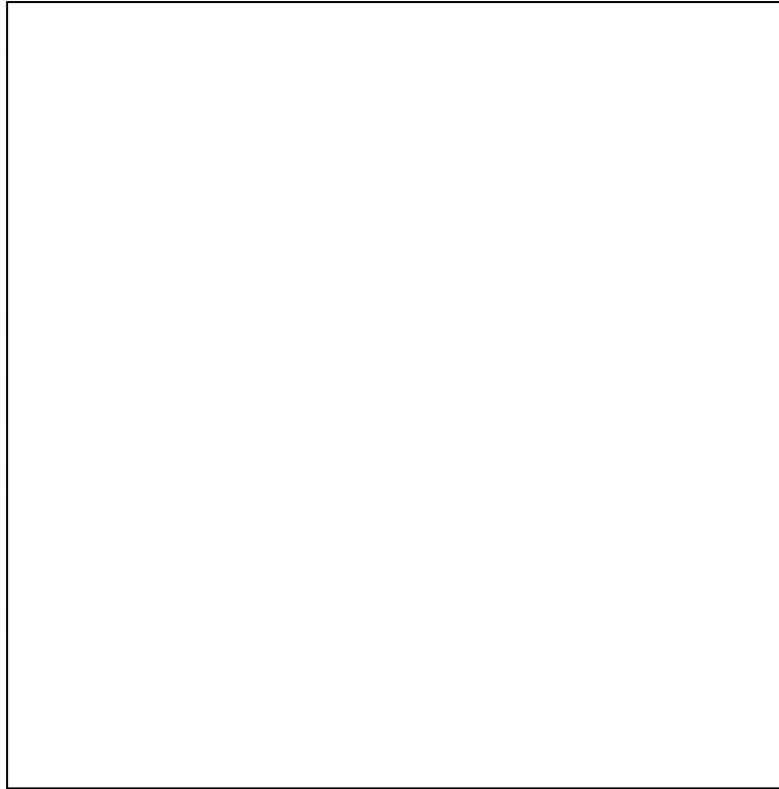


Figure 41: *Fusarium oxysporum* : (en haut) Aspect macroscopique du thalle sur un milieu PDA ; (en bas) Observation microscopique de l'espèce fongique Obj x 100 (Originale).

IV.3.9. *Alternaria solani*

Les souches d'*Alternaria solani* se développent sous forme de colonies rasées verdâtres avec un revers noir. Les parois sont noires en raison de la présence de mélanine. Les conidiospores à croissance sympodiale, qu'ils soient noirs ou foncés, peuvent être simples ou branchés et produire, des chaînes de conidies qui sont à leurs extrémités terminales. À leur naissance, ces dernières sont ovoïdes à base large et au sommet conique et, à leur maturité, prolongées par un bec qui leur donne, à terme, la forme d'une raquette ou d'une massue. Les conidies sont composées de plusieurs cellules, séparées par des septas transversaux, longitudinaux ou obliques qui sont tout à fait distinctifs (Botton *et al.*, 1990) (Fig. 42).

Températures cardinales: L'espèce est un mycète qui se développe bien entre 5 °C et 32 °C. Son optimum varie entre 25 °C et 29 °C.



Figure 42: *Alternaria solani* : (en haut) Aspect macroscopique du thalle sur un milieu PDA ; (en bas) Observation microscopique du champignon Obj x 40 (Originale).

IV.3.10. *Alternaria tomatophila*

Le champignon *Alternaria tomatophila*, appartient aux espèces à grosse spores. Elle dispose d'un mycélium cloisonné se mélanisant progressivement avec l'âge, elle produit de courts conidiophores bruns sur lesquels ne se forme souvent qu'une seule conidie (Simmons, 2000). Les conidies sont brunes, pluricellulaires et très allongées. Elles possèdent un long appendice hyalin (bec) (Fig. 43), parfois bifurqué et plus long que le corps de la spore, qui mesure entre 120 et 300 μm de long.

Températures cardinales: L'espèce peut se développer bien entre 5 °C et 35 °C. Son optimum est de l'ordre de 25 °C.

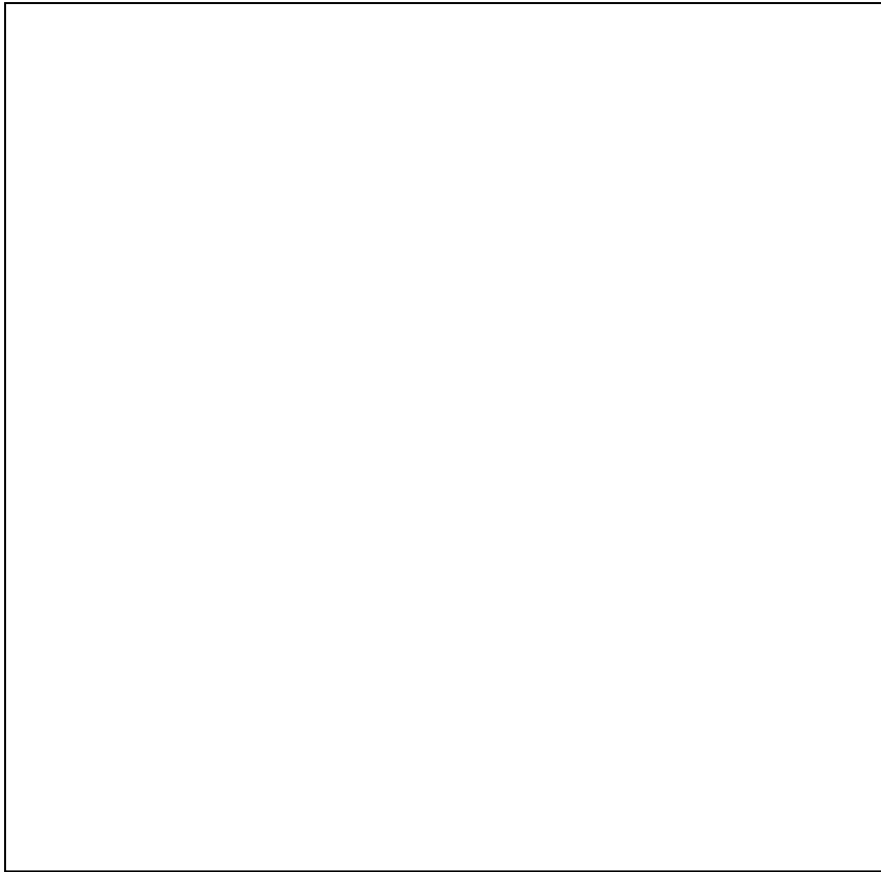


Figure 43: *Alternaria tomatophila* : (en haut) Aspect macroscopique du thalle sur un milieu PDA ; (en bas) Observation microscopique du champignon Obj x 40 (Originale).

IV.3.11. *Rhizopus stolonifer* Vuill 1902

Les mucorales sont des champignons présents souvent dans le sol, et qui sont globalement répandus, saprophytes et rarement mycoparasites. Certains sont des parasites de plantes ou d'animaux (Hawksworth *et al.*, 1995).

Selon Bottons *et al.* (1990), les espèces de cet ordre sont des champignons filamenteux à mycélium qui se développent rapidement, présentant une apparence cotonneuse de couleur blanche à grise avec l'âge. Ces hyphes ne sont pas septés.

Selon Samson *et al.* (2011), Les sporangiophores se présentent individuellement ou en groupes de 2 à 7 stolons dont les parois sont presque incolores à brun foncé, lisses ou légèrement rugueuses, opposées aux rhizoïdes brancheux. À maturité, les sporanges sont globuleux à subglobuleux, d'un brun noirâtre. Les sporangiospores présentent des caractéristiques spécifiques. Les formes irrégulières sont souvent polygonales ou ovaïdes, globuleuses, elliptiques et striées (Fig. 44).

Températures cardinales : L'espèce peut se développer entre 5 et 33 °C, avec un optimum entre 25 et 26°C. Leur température maximale variée entre 32 et 33°C.

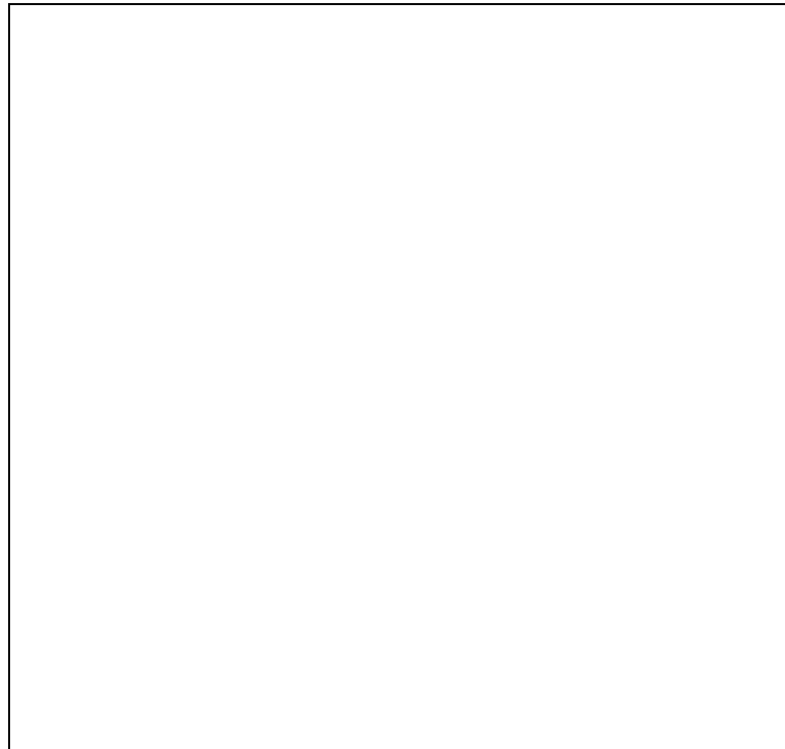


Figure 44: *Rhizopus stolonifer* : (en haut) Aspect macroscopique du thalle sur un milieu PDA ; (en bas) Observation microscopique du champignon Obj x 40 (Originale).

IV.3.12. *Mucor racemosus*

Les champignons les plus importants du groupe des Mucorales sont les espèces du genre *Mucor*, qui se caractérisent par un thalle siphonné, velouté ou floconneux, blanc, gris ou noir. L'espèce n'a pas de stolon. Les sporocystophores sont longs et ramifiés sous le microscope, avec une paroi incrustée. Elles sont toujours dressées et terminées par un Sporocyste, simple ou avec des branches sympodales, monomodales ou mixtes. Sporocystes globuleux de couleur blanche ou légèrement colorée, sans apophyse, avec une collumelle, à plusieurs spores. Variété de spores, lisses ou granuleuses. Clamydospores occasionnelles. Quand elles sont jeunes, les clamydospores sont jaunâtres, cylindriques et subglobuleuses avec l'âge, présentes dans tous les éléments du thalle, y compris les sporocystophores. Les Zygosporos n'ont pas d'appendices sur les suspenseurs (Botton *et al.*, 1990) (Fig. 45).

Les champignons de ce type peuvent provoquer des infections chez l'homme, les grenouilles, les amphibiens, les bovins, etc. ; et la plupart d'entre eux ne peuvent pas se développer à une température de 37 °C (Anonyme, 2010).

Températures cardinales : Le *Mucor racemosus* se développe bien entre 4 et 37 °C, avec un optimum de 20 et 25 °C.



Figure 45 : *Mucor racemosus* : (en haut) Aspect macroscopique du thalle sur un milieu PDA ; (en bas) Observation microscopique du champignon Obj x 40 (Originale).

IV.3.13. *Botrytis cinerea*

L'espèce *B. cinerea* est un champignon phytopathogène responsable de la pourriture grise, l'une des maladies cryptogamiques qui sévit sur plusieurs cultures d'intérêt agronomique majeur comme la tomate.

Botrytis cinerea est un ascomycète infect plus de 200 espèces de plantes, provoquant une moisissure grise qui se manifeste à la surface par un mycélium gris et cotonneux. Au niveau mondial, il cause des pertes annuelles de 10 à 100 milliards de dollars. Elle est capable de contrecarrer une large gamme de produits chimiques de défense des plantes. C'est l'un des agents pathogènes nécrotrophes des plantes les plus étudiés.

L'espèce est caractérisée par mycélium septé qui produit des spores sexuées et qui a une forme de grappe. Sur gélose, le mycélium du champignon comprend des filaments articulés, grisâtres ou olivâtres, cylindriques, quelquefois vésiculeux au niveau de la cloison médiane, dont le diamètre varie considérablement suivant les conditions de développement des hyphes. Lorsque le mycélium est au stade de fructification, il produit des touffes de conidiophores grisâtres (Fig. 46).

Températures cardinales : L'optimum de cette espèce varie entre 17 et 23 °C. Ces conidies cessent à germer à 30 °C.



Figure 46 : *Botrytis cinerea* : (en haut) Aspect macroscopique du thalle sur un milieu PDA ; (en bas) Observation microscopique du champignon Obj x 40 (Originale).

IV.3.14. Test d'antagonisme

Les résultats du test d'antagonisme in vitro, ont montré l'effet antagoniste des souches de *Fusarium* sp. contre les souches d'*Alternaria tomatophila*. En effet une bonne croissance mycélienne de l'espèce *Fusarium* sp. a été enregistrée par rapport aux colonies d'*Alternaria tomatophila*, après une période d'incubation de 5 jours à 25 °C (Fig. 47).



Figure 47. Test d'antagonisme des deux espèces : *Alternaria tomatophila* et *Fusarium* sp. après 5 jours d'incubation à 25 °C.

Conclusion générale et perspectives

La tomate est une plante annuelle qui développe des buissons, appartenant à la famille des solanacées. Elle est très appréciée pour son fruit, qu'il soit frais ou transformé. Les pays de la Méditerranée en consomment à toutes les saisons. En Algérie, sa consommation est considérablement plus élevée.

Selon l'Institut technique des cultures maraichères et industrielles, la tomate occupe la première place parmi les cultures maraichères en Algérie. La part de la production totale en produits maraichères est de 51%. Il s'étend sur environ 1737 hectares, ce qui représente environ 40% de la superficie en serre totale (4350 ha).

En raison de sa valeur économique, elle est l'objet de nombreuses études scientifiques et est perçue comme une plante modèle en génétique. Dans les années 90, elle a engendré la création d'hybrides qui ont été commercialisés rapidement aux États-Unis. À l'heure actuelle, le tiers de la production agricole mondiale est détruit d'une année à l'autre par divers agents pathogènes tels que les champignons phytopathogènes et les insectes qui mettent en péril la culture du semis jusqu'à sa commercialisation.

D'après la présente étude, les plantes de la tomate échantillonnées ont révélé la présence d'une flore fongique diversifiée associée non seulement à la partie aérienne de la plante, mais aussi à la rhizosphère. Selon les résultats de l'analyse mycologique des plantes symptomatiques, il apparaît que les deux méthodes d'isolement directe, nous a permis d'isoler une large gamme d'endophytes fongiques, la plupart sont des espèces pathogènes.

L'identification macroscopique et microscopique nous a confirmé la présence de treize espèces fongiques, appartenant aux genres *Penicillium*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Mucor* et *Aspergillus*. Ces espèces fongiques causées des dégâts très importants sur la plante *solanum lycoperscium* L., peuvent être redoutables parasites de cultures dans les champs agricoles.

Certaines d'eux sont largement étudiées en raison de leur capacité à causer d'importants dégâts aux végétaux, c'est le cas d'*Alternaria tomatophila* (agent pathogène de l'alternariose) qui a été signalé dans la présente étude avec le taux de présence le plus élevé, qui avoisine les 15%. Cette espèce a déjà été signalé par plusieurs auteurs pour leur pouvoir de colonisation très élevé sur les plantes de la tomate.

L'isolement et l'identification des espèces fongiques, nous a permis de mieux appréhender leurs impacts sur la santé de la tomate. Cette approche permettra également de déterminer les espèces fongiques spécifiques qui sont les plus préjudiciables et nécessitent une attention particulière dans la région de Tafna.

Enfin, la méthode de lutte contre les maladies cryptogamiques des plantes repose sur une compréhension approfondie des agents pathogènes concernés, de leur biologie et de leurs

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

interactions avec les plantes hôtes et l'habitat. En prenant en compte cette conclusion, nous estimons que notre étude, tout comme toute autre recherche, ne peut être que participative et qui nécessite d'autres plus approfondies. Pour cela, on propose :

- Utiliser des méthodes moléculaires afin de dévoiler d'autres espèces existantes qui peuvent être stériles ou mal identifiées ;
- Tester l'effet d'antagoniste de quelques espèces biologiques, afin de les utiliser comme un moyen de lutte biologique ;
- Tester l'effet pathogènes des espèces isolés sur d'autres espèces variétés.

- Abd-El salam K.A., Khalili M.S., Aly A.A. et Asran-Amal A., 2002.** Genetic diversity among *Fusarium oxysporum f.sp. vasinfectum* isolates revealed by UP-PCR and AFLP markers. *Phytopathol. Mediterr.*, 41, 1-7.
- Agrios G. N., 2005.** *Plant Pathology. Fifth Edition.* Academic Press. San Diego. 629p.
- Alfenas A.C., Jeng R. et Hubbes M., 1984.** Isozyme and proteins of isolates of *Cryphonectria cubensis* differing in virulence. *Can. J. Bot.*, 62, 23-30.
- Apuya N.R., Frazier B.L., Keim P., Roth E.J. et Lark K.G., 1988.** Restriction fragment length polymorphism as a genetic markers in soybean, *Glycine max (L.) Merrill.* *Theor. Appl. Genet.*, 75, 889-901.
- Barnett H. C., Horace L. et Hunter B. B., 1986.** *Illustrated Genera of Imperfect Fungi. APS Press.*
- Barnett H.C. et Hunter B.B., 1972.** *Illustrated genera of imperfect fungi. 3rd Edition,* Burgess Publishing Co., Minneapolis, 20 p.
- Bayraktar H, Dolar F.S et Tör M., 2007.** Determination of genetic diversity within *Ascochyta rabei* (Pass.)Labr., The case of *Ascochyta* Blight of chichpea in Turkey. *J. Plant Pathol.*, 89 (3), 341-347.
- Bernier L.R.S. et Hubbes M., 1983.** Differentiation of aggressive and non-aggressive isolates of *Ceratocystis ulmi* by electrophoresis of intramycelial enzymes. *Mycotaxon*, 17, 466-472.
- Blancard D., 1988.** *Maladies de la tomate: observer, identifier, lutter.* INRA.
- Blancard D., 2009.** *Les maladies de la tomate: Identifier, connaître, maîtriser.* Editions Quae.
- Bombarely A. et Menda N., 2010.** The Sol Genomics Network (solgenomics.net): growing tomatoes using Perl
- Borchardt D.S., Welz H.G. et Geiger H.H., 1998.** Genetic structure of *Setosphaeria turcica* populations in tropical and temperate climates. *Phytopathology*, 88, 322-329.
- Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y. et Veau P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. Paris Milan Barcelone Mexico. Deuxième édition. PP .93, 191, 139.
- Bovey R., 1967.** *La défense des plantes cultivées: traité pratique de phytopathologie et de zoologie agricole.* Payot.
- Burdon J.J. and Marshall D.R., 1981.** Isozyme variation between species and formae speciales of the genus *Puccinia*. *Can. J. Bot*, 59, 2628-2643.
- Chanforan C., 2010.** « Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate ». Phdthesis, Université d'Avignon. <https://theses.hal.science/tel-00581598>.
- Chaux C. et Claude F. ,1994.** *Productions légumières: Généralités. Tome 1.* Lavoisier-Tec et Doc.
- Chen X., Line R.F. et Leung H., 1993.** *Relationship between virulence variation and DNA polymorphism in Puccinia striiformis.* *Phytopathology*, 83, 1489-1497.
- Chouibani M., Ouizbouben M. et Kaack A. (Eds.), 2018.** PDF Téléchargement Gratuit. s.d. Production estimate revised down to 36.5 million tonnes - *Tomato News* ». s. d. Consulté le 13 Mars 2024.

- Cronquist A. 1981.** An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press. « FAOSTAT ». s. d. « FICHE TECHNIQUE : Comment cultiver du Piment Bio - Agriculture au Cameroun ». s. d. Consulté le 13 juin 2024
- Dos Santos A.M.P.V., Matsumura A.T.S. et Vander Sand S.T. (2002).** *Intraspecific genetic diversity of Drechslera tritici-repentis as detected by random amplified polymorphic DNA analysis. Genet. Mol. Biol., 25, 243- 250.*
- Dutech C., Enjalbert J., Fournier E., Delmotte F., Barrès B., Carlier J., Tharreau D. et Giraud T., 2007.** Challenges of microsatellite isolation in fungi. *Fungal Genet. Biol., 44, 933-949.*
- Field D., Eggert L., Metzgar D., Rose R., et Wills C., 1996.** Use of polymorphic short and clustered coding region microsatellites to distinguish strains of *Candida albicans*. *FEMS Immunol. Med. Mic., 15, 73-79.*
- Frisvad J.C., Bridge P.D. et Arora D.K., 1998.** Chemical fungal taxonomy. New York: Marcel Dekker.
- Fofana A., Louanchi M., Robin P., Balesdent M.H et Despreaux D., 1992.** Interspecific variation in soluble protein and isozyme patterns in *Rigidoporus lignosus*, the causal agent of white root disease on *Hevea brasiliensis*. *Indian J. Nat. Rubber Res. 5, 141-150.*
- Fridman E., Pleban T. et Zamir D., 2000.** A recombination hotspot delimits a wild-species quantitative trait locus for tomato sugar content to 484 bp within an invertase gene. *Proc Natl Acad Sci USA ; 97 : 4718–4723.*
- Friesen T.L., Ali S., Klein K.K. et Rasmussen J.B., 2005.** Population genetic analysis of a global collection of *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat. *Phytopathology, 95, 1144-1150.*
- Gallais A. et Hubert B., 1992.** Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection. Quae.
- Gonzalez M., Rodriguez R., Zavala M.E., Jacobo J.L., Hernandez F., Acosta J., Martinez O. et Simpson J., 1998.** Characterization of Mexican isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* by using differential cultivars and molecular markers. *Phytopathology, 88, 292-299.*
- Goodwin P.H. et Annis S.L., 1991.** Rapid identification of genetic variation and pathotype of *Leptosphaeria maculans* by random amplified polymorphic DNA assay. *Appl. Environ. Microbiol., 57, 2482-2486.*
- Grasselly D., Navez B. et Letard M., 2000.** Tomate : pour un produit de qualité. *Hortipratic.* Paris: CTIFL.
- Guo L.D., 2010.** Molecular diversity and Identification of endophytic fungi. In: Springer Heidelberg Dordrecht (eds.) *Molecular identification of fungi.* (pp. 277-296). London, England.
- Hamelin R.C., Dusabenyagasani M. et Et-touil K., 1998.** Fine-level genetic structure of white pine blister rust populations. *Phytopathology, 88, 1187-1191.*
- Hardin T. C., Graybill J. R., Fetchick R., Woestenborghs R., Rinaldi M. G. et Kuhn J. G., 1988.** Pharmacokinetics of Itraconazole Following Oral Administration to Normal Volunteers ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy 32 (9): 1310-13.*
- Judd W.S., Christopher S. C., Elizabeth A. K. et Peter S., 2011.** Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. De Boeck Supérieur.
- Kema G.H.J., Goodwin S.B., Hamza S., Verstappen E.C.P., Cavaletto J.R., Van derlee T.A.J., De Weerd M., Bonants P.J.M. et Wlwijk C., 2002.** A combined amplified fragment length polymorphism and randomly amplified polymorphism DNA genetic

- linkage map of *Mycosphaerella graminicola*, in *Septoria tritici* leaf blotch pathogen of wheat. *Genetics*, 161, 1497-1505.
- Kwon-Chung K. J. et Bennett J.E., 1992.** *Medical Mycology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- in *Aspergillus Fumigatus* ». *Archives of Medical Research* 24 (3): 269-74.
- Latigui A., 1984.** « Effets des différents niveaux de fertilisation potassique sur la fructification de la tomate cultivée en hiver sous serre non chauffée. » Thèse Magister., INA El-Harrach.
- Latge, J. P., J. P. Debeaupuis, J. Sarfati, M. Diaquin, et S. Paris., 1993.** « Cell Wall Antigens in *Aspergillus Fumigatus* ». *Archives of Medical Research* 24 (3): 269-74.
- Laumonnier R., 1978.** Cultures légumières et maraîchères. Editions J.-B. Bailliere.
- « Le bassin-versant de l'Oued Tafna (Algérie occidentale): mise en place du réseau hydrographique et processus morphogéniques à l'origine de l'organisation du bassin ». s. d. Consulté le 13 juin 2024.
- Leisová L., Hanzalová A. et Kucera L., 2008.** Genetic diversity of *Pyrenophora tritici-repentis* isolates as revealed by AFLP analysis. *J. Plant Pathol.*, 90, 233-245.
- Lin D., Dumas M.T. et Hubbes M., 1989.** Isozyme and general protein patterns of *Armillaria spp.* Collected from the boreal mixed wood forest of Ontario. *Can. J. Bot.*, 67, 1143-1147.
- Lourenço J., Luiz A. M., Reginaldo S. R. et Eduardo S. G., 2006.** Biocontrol of tomato late blight with the combination of epiphytic antagonists and rhizobacteria ». *Biological Control* 38 (3): 331-40. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.04.005>.
- Majer D., Mitten R., Lewis B.G., Vos P. et Olivier R.P., 1996.** The use of AFLP fingerprinting for the detection of genetic variation in fungi. *Mycol. Res.*, 100, 1107-1111.
- Michelmore R. W. et Hulbert S.H., 1987.** Molecular markers for genetic analysis of phytopathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 25, 383-404.
- Morgante M. et Olivieri A.M., 1993.** PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J.*, 3, 175-182. *Mycol. Res.*, 100, 1107-1111.
- Michelmore R. W. et Hulbert S.H., 1987.** Molecular markers for genetic analysis of phytopathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 25, 383-404.
- Najimi B., El Jaafari S., Jlibéne M. et Jacquemin J.M., 2003.** Application des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes. *B.A.S.E.*, 7, 17- 35.
- Naika S., Joep V. L., Goffau M. D., Hilmi M. et Barbara V. D., 2005.** La culture de la tomate: production, transformation et commercialisation ». In . <https://www.semanticscholar.org/paper/La-culture-de-la-tomate:-production,-transformation-Naika-Jeude/45fcbe3d88c2b24efe4251d6407289f341a0d556>.
- Nasraoui B. et Lepoivre P. 2003.** Les champignons phytophagènes. In : De Boeck Université (eds.), *Phytopathologie :Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte.(pp.111-142)*. Bruxelles, Belgique
- Oumata S., Bouzid L., Sid-otmane T., Kahlaine K., Bouta M. et El Kolli Z., 2008.** La situation des cultures maraîchères en Algérie. *Recherche Agronomique* 12 (22): 48-58.
- Pesson P. et Louveaux J., 1984.** Pollinisation et productions végétales. Institut national de la recherche agronomique. ScienceDirect. s. d. Consulté le 13 juin 2024.
- Pitrat M. et Cootd F., 2003.** Histoire de légumes. La tomate. Paris : Inra, 2003.
- Pitt J. I., 1979.** The Genus *Penicillium* and Its Teleomorphic States *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press.

- Plaats-Niterink A. J., 1981.** Monograph of the Genus *Pythium*. Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Polese J. M., 2007.** La culture des tomates. Editions Artemis.
- Pongam P., Osborn T.C. et Williams P.H., 1999.** Assessment of genetic variation among *Leptosphaeria maculans* isolates using pathogenicity data and AFLP analysis. *Plant Dis.*, 83, 149-154.
- Raper K. B. et Dorothy I. F., 1965.** The Genus *Aspergillus*. Williams & Wilkins.
- Rey Y. et Costes C., 1965.** La physiologie de la tomate : Etude bibliographique. SEI, VERSAILLES: INRA.
- Samson R.A. 2000.** Introduction to Food- and Airborne Fungi. Centraalbureau voor Schimmel cultures.
- Schnieder F., Koch G., Jung C. et Verret J.A., 1998.** The application of molecular markers for genetic characterization of *Septoria tritici* population. *J. Plant Dis. Protect.*, 105 (5), 452-461.
- Shankar J., Bhanu P. S., Shailendra N. et Naveen A., 2006.** Recombinant Glutathione-S-Transferase a Major Allergen from *Alternaria Alternata* for Clinical Use in Allergy Patients ». *Molecular Immunology* 43 (12): 1927-32.
- Singh P.K., 2001.** Genetic studies on the resistance to tan spot of wheat and genetic similarity among isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*. PhD thesis, University of Saskatchewan, Canada.
- Singh P.K. et Hughes G.R., 2006.** Genetic similarity among isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat. *J. Phytopathol.*, 154, 178-184.
- Snoussi S. A., 2010.** Culture de tomate, production, transformation et commercialisation. 2010.
- Southern E.M., 1979.** Gel electrophoresis of restriction fragments. *Methods enzymol.*, 68, 152-76.
- Spichiger R.E., Vincent V. S. et Murielle F., 2004.** Systematic Botany of Flowering Plants: A New Phylogenetic Approach of the Angiosperms of the Temperate and Tropical Regions. Science Publishers.
- Vakalounakis D.J. et Fragkiadakis G.A., 1999.** Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber : Differentiation by pathogenicity vegetative compatibility, and RAPD fingerprinting. *Phytophology*, 89, 161-168.
- Verscheure M., Lognay G. et Marlier M., 2002.** Revue bibliographique : les méthodes chimiques d'identification et de classification des champignons. *B.A.S.E*, 6, 131-142.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. et Zabeau, M., 1995.** AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, 23, 4407-4414.
- Weiland J.J., SteVenson B.J., Cartwright R.D. et Webster R.K., 1999.** Identification of molecular genetic markers in *Pyrenophora teres* f. *teres* associated with low virulence on 'Harbin' barley. *Phytopathology*, 89, 176– 181.
- Weitz H.G., Köhler W. et Leonard K., 1993.** Isozyme variation within and among pathogenic races of *Cochliobolus carbonum* on Corn in North California. *Molecular Ecology. Phytophathology*, 84, 31-38.
- Williams J.G.K., Kubelki A.R., Livak K.J., Rafalski J.A. et Tingey S.V., 1990.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.*, 18, 6531-6533.
- Xu J., 2010.** Fundamentals of Fungal Molecular Population Genetic Analysis. *Curr. Issues Mol.*, 8, 75-90.

Xu J., Mitchell T.G., et Vilgalys R.J., 1999. PCR restriction fragment length polymorphism (RFLP) analyses reveal both extensive clonality and local genetic differences in *Candida albicans*. *Mol. Ecol.*, 8, 59-73.

Zidani S., 2009. Valorisation des pelures de tomates séchées en vue de leur incorporation dans la margarine ». Thesis.

Webographie

Web 1 : Stock Photos & Images, Vectors, Video & Audio - Dreamstime. s. d. Consulté le 20 Février juin 2024.

Web 2 : The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution | Nature . s. d. Consulté le 12 janvier 2024.

Web 3: Tomates cerises 2 couleurs en panier suspendu, 12 po ». s. d. Consulté le 10 janvier 2024

Web 4: Tomates: De la fleur aux graines (photos) - Au jardin, forum de jardinage . s. d. Consulté le 06 Décembre 2023.

Web 5: User Talk:Graibeard - Wikimedia Commons . s. d. Consulté le 03 Décembre 2023.

Milieux de cultures

PDA: Potato Dextrose Agar

Potato dextrose agar (Difco) 39g

Eau distillée 1000ml

Autoclavé à 121 C° pendant 20 minutes.

MEA: Malt Extract Agar

Malt extract (Oxoid CM0059) 50g

Eau distillée 1000ml

Autoclavé à 121 C° pendant 20 minutes.