#### الجمهورية الجزائرية الديمقراطية

#### République Algérienne Démocratique et Populaire وزارة التعليم العالي والبحث العلمي Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**N**°**Ref** :.....



#### Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé En vue de l'obtention du Diplôme de

Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Biotechnologie

Spécialité: Biotechnologie et Amélioration des plantes

Thème:

Effet de l'acide salicylique sur quelques composantes physico-biochimique chez deux variétés de tomate contaminées par Fusaruim oxysperium f. sp. Lycopersici et Botrytis cinerea.

Présenté par :

**BELGHORZE Nihad** 

**MEDJRAB** Warda

Devant le jury:

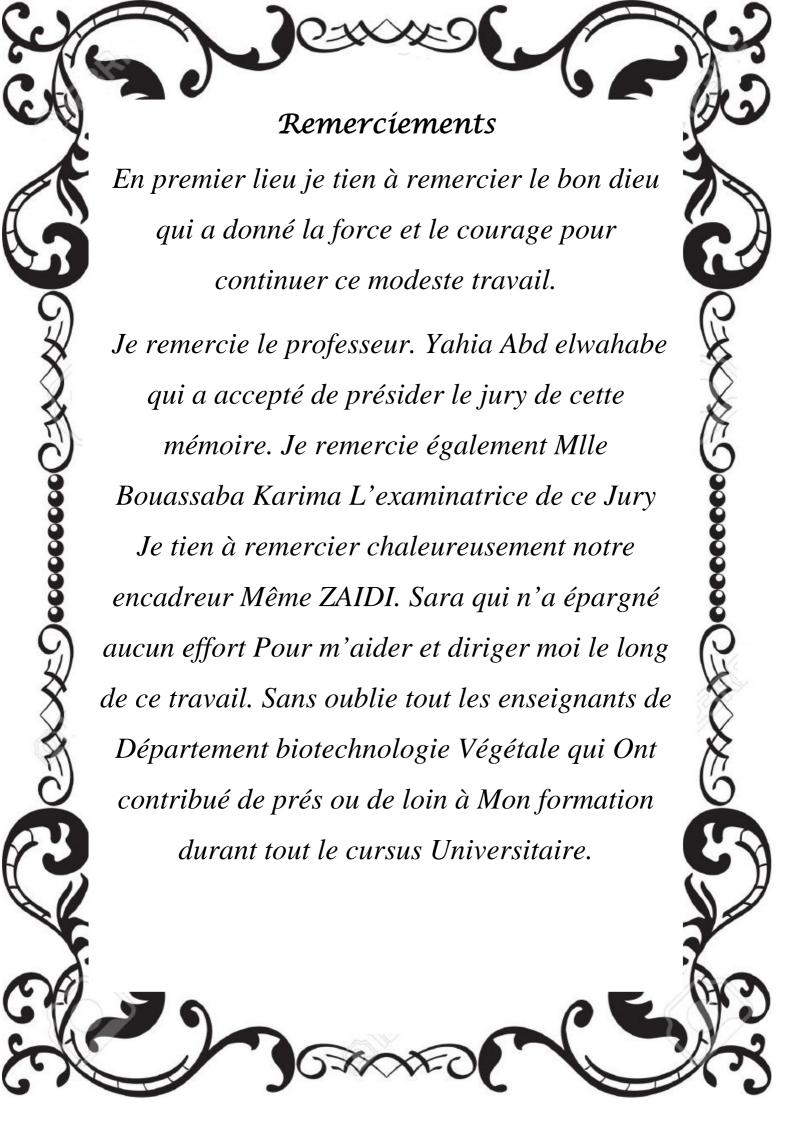
Président : M<sup>r</sup>. YAHIA Abdelouahab (Pr- Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila)

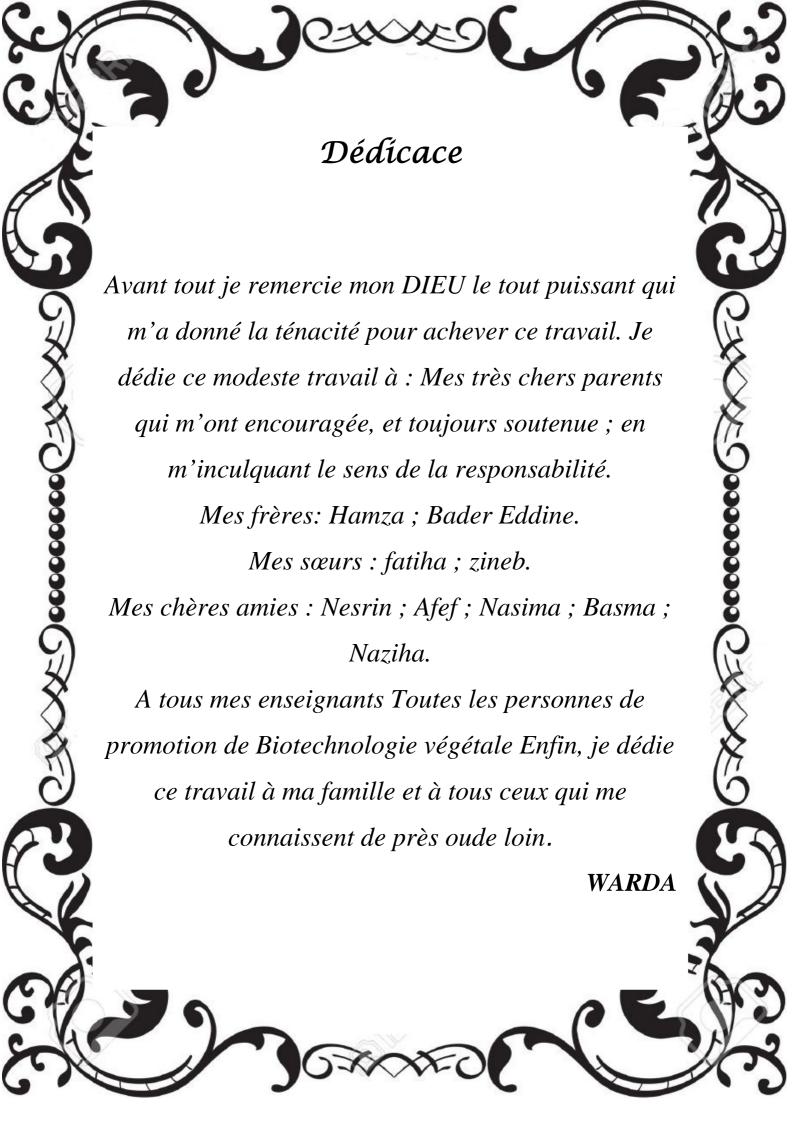
Examinatrice : M<sup>lle</sup>. BOUASSABA Karima (MAA- Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila)

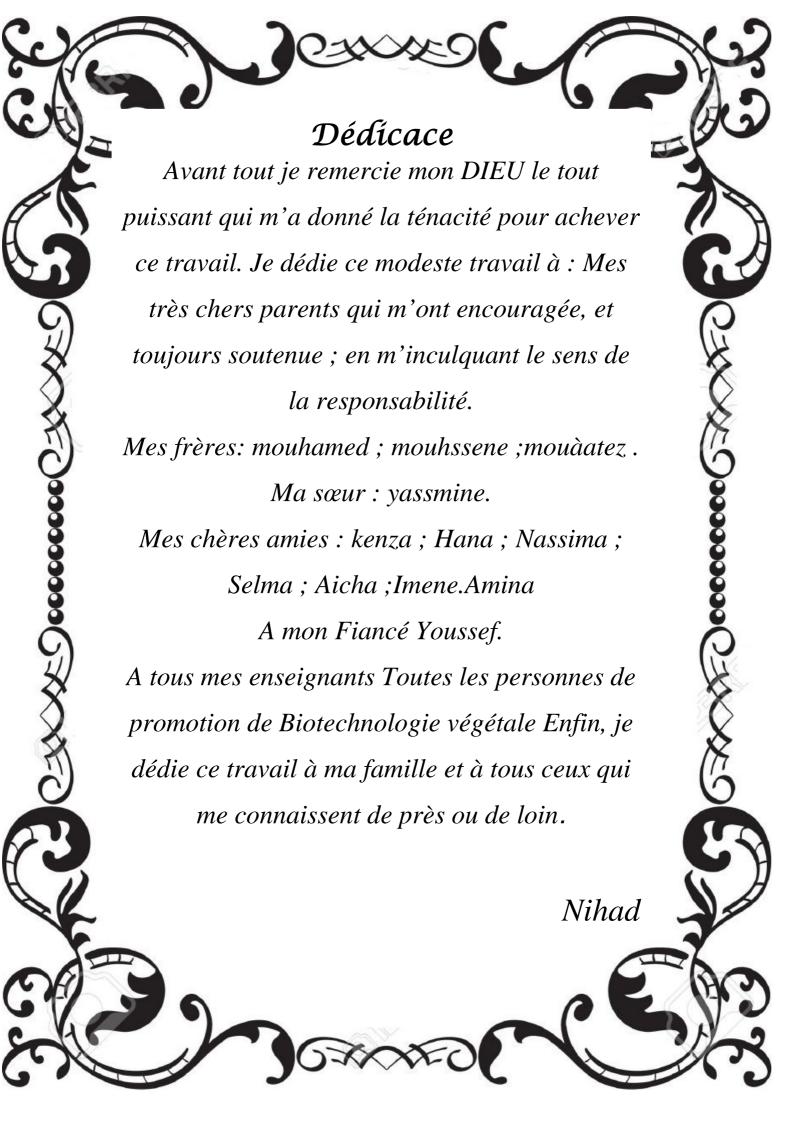
Promotrice : M<sup>me</sup>. ZAIDI Sara (MAA- Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila)

Année universitaire 2018/2019









L'objectif de cette expérience, vise à comprendre l'effet de l'interaction entre les différentes concentrations de l'acide salicylique (0 mg/l, 150 mg/l, 200 mg/l, 250 mg/l) sur les deux variétés de tomate *Lesto* et *Elgon* contaminées par deux agents phytopathogènes: *Fus.oxy.lyc.* responsable de flétrissement vasculaire et le *B. cinerea* responsable de pourriture gris.

Afin de déterminer leur tolérance aux stress biotique sous l'action de l'acide salicylique et pour élucider leur comportement physiologique nous avons analysé les paramètres physiologiques chlorophylle a, chlorophylle b et chlorophylle Total et les composants biochimiques (proline et les sucres soluble).

L'analyse de certains composés physiologique et biochimiques a montré une augmentation dans le taux de la chlorophylle, sucre et diminution le proline chez les plantes traitées par rapport aux plantes non traitées.

Les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence le rôle physiologique de l'acide salicylique dans l'amélioration de cescomposants en présence des champignons.

<u>Mots clés</u>: Tomate, Acide salicylique, *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, *Botrytis cinerea*. Chlorophylle, Proline, Sucressoluble.

The objective of this experiment is to understand the effect of the interaction between different concentrations of salicylic acid (0 mg/l, 150 mg/l, 200 mg/l, 250 mg/l) and the two varieties. of Lesto and Elgon tomato contaminated with two phytopathogenic agents: Fus.oxy.lyc. Responsible for vascular wilt and B. cinerea responsible for gray rot.

In order to determine their tolerance to biotic stress under the action of salicylic acid and to elucidate their physiological behavior we analyzed the physiological parameters chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll and biochemical components (proline and soluble sugars).

Analysis of some physiological and biochemical compounds showed an increase in the rate of chlorophyll, sugar and decrease proline in treated plants compared to untreated plants. In conclusion, the results obtained allowed us to highlight the physiological role of salicylic acid in the improvement of these components in the presence of fungi.

<u>Keywords</u>: Tomato, Salicylic acid, Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici, Botrytis cinerea. Chlorophyll, Proline, Soluble sugar.

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة مدى ثأثير تراكيزمختلفة من حمض الساليسيليك (0 ملغ / لتر ، 150 ملغ / لتر ، 200 ملغ / لتر ، 250 ملغ / لتر على نوعين من الطماطم 200 ملغ / لتر ، 250 ملغ / لتر  $B.\ cinerea$  الذي يسبب مرض الذبول الوعائي و  $B.\ cinerea$  الذي يسبب مرض التعفن الرمادي من أجل تحديد مدى تحملهم للإجهاد الحيوي تحت تأثير حمض الساليسيليك وتوضيح سلوكهم الفسيولوجي ، قمنا بتحليل المؤشرات الفسيولوجية (كلوروفيل أبب, والكلي ) والمؤشرات البيوكيميائية (البرولين والسكريات الدائبة) .

أظهر تحليل بعض المركبات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية زيادة في معدل الكلوروفيل والسكر وانخفاض البرولين في النباتات المعالجة مقارنة بالنباتات غير المعالجة.

سمحت لنا النتائج التي تم التحصل عليها بتسليط الضوء على الدور الفسيولوجي لحمض الساليسيليك في تحسين هذه المكونات في وجود الفطريات.

#### الكلمات المفتاحية:

الطماطم، حمض الساليسيليك الكلوروفيل البرولين السكر القابل للذوبان Botrytis cinerea. Fusarium oxysporum الطماطم f. sp. lycopersici

# Sommaire

11

Sommaire	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	
Partie I : Revue bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur la tomate	
I.1.Historique	01
I.2.Nomenclature et Classification de la tomate	02
a. Classification génétique	03
b. Classification variétale	03
I.3. Cycle biologique de la tomate	04
I.4.Description botanique de la tomate	04
I.4.1.Le système racinaire	04
I.4.2.Tige	05
I.4.3.Feuillage	05
I.4.4.Fleurs	05
I.4.5.Fruit	06
I.4.6.Graines	07
I.5.Exigences culturales de la tomate	07
a. Température	07
b. Lumière	07
c. Hygrométrie	07
d. Sol	07
e. Eau	08
f.Exigence en éléments fertilisant	08
I.6.Importance économique de la tomate	08
a. Dans le monde	08
b. En l'Algérie	09

I.7.Importance nutritionnelle.....

I.8.Principales maladies de la tomate	11
I.8.1.Les maladies cryptogamiques	12
I.8.2. Principaux bactéries attaquant les cultures des tomates	14
I.8.3.Les maladies virales	15
Chapitre II : Les agents pathogènes	
I. Botrytis cinerea	17
I.1.Présentation du modèle <i>Botrytis cinerea</i>	17
I.2.Description de la pourriture grise	17
I.3.Historique et taxonomie	18
I.4.Spectres d'hôte et l'importance économique	19
I.5.Cycle infectieux de <i>B. cinerea</i>	21
I.6.Les facteurs influençant le développement de <i>B. cinerea</i>	22
I.6.1. Facteurs abiotiques	22
I.6.2.Facteurs biotiques	24
II. Fusarium oxysporum agent du flétrissement vasculaire	24
II.1.Généralités sur le Fusarium oxysporum	24
II.2. Position taxonomique.	25
II.3. Position systématique.	25
II.4. Biologie de F. oxysporum	25
III. Moyennes de lutte contre les agents pathogènes	27
III.1.Lutte culturale	28
III.2.Lutte chimique	28
III.3.Lutte génétique	29
III.4.Lutte intégrée	29
III.5. Lutte biologique	29
Chapitre III : L'acide salicylique	
I. L'acide salicylique	32
I.1.Historique	32
II. Importance et rôle de l'acide salicylique chez les plantes	33
III. Biosynthèse de l'acide salicylique	33
IV. Structure de l'acide salicylique	35
V. L'acide salicylique et la résistance aux pathogènes	35
VI. Mode d'action d'AS	37

## Partie II : Etude expérimental

### Chapitre I : Matériel et Méthodes

I. Matériel utilisé	40
I.1.Matériel végétal	40
I.2. Agents phytopathogènes	41
I.3. le sol.	41
I.4.Condition d'expérimentation	41
I.5. Dispositif expérimental	42
I.6. Préparation de l'inoculum fongique	43
I.7. Préparation de la solution d'acide salicylique	44
I.8.Paramètres physiologiques	44
I.8.2.Dosage des pigments chlorophylliens	44
I.9.Paramètres biochimiques	45
I.9.1. Extraction et dosage de la proline	45
I.9.2.Extraction et dosage des sucres soluble	46
Chapitre II : Résultats et discussion	
I.1.Evolution des teneurs en proline (µg/100 mg MF)	49
a. Chez la variété <i>Lesto</i>	49
b. Chez la variété <i>Elgon</i>	50
I.2. Evolution des teneurs en sucre soluble ( $\mu g$ /100 mg MF)	51
a. Chez la variété <i>Lesto</i>	51
b. Chez la variété <i>Elgon</i>	52
I.3. Influence de l'acide salicylique sur le taux de la chlorophylle chez les deux	53
variétés contaminées par Fus.oxy.lyc.et B.cinerea	
A. chez la variété <i>Lesto</i>	53
B. chez la variété Elgon.	55
Discussion.	57
Conclusion	
Référence bibliographique	
Annexe	

# Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Carte diffusion de la tomate dans le monde.	2
2	Système racinaire de la tomate.	4
3	Tige de tomate.	5
4	Feuille de tomate.	5
5	fleur de tomate à l'anthèse.	6
6	Différentes formes de tomates utilisées pour décrire une variété	6
	(descripteur IPGRI).	
7	Répartition des exportations de la tomate par région (%) en 2010.	9
8	principales wilayas de production de tomate sous serre en Alger.	10
9	Observation sous microscope de conidiophores de <i>Botrytis cinerea</i> ,	18
	portant à leurs extrémités des conidies.	
10	symptômes de <i>B. cinerea</i> sur la tomate.	20
11	Cycle biologique de <i>B. cinerea</i> .	22
12	Morphologie du Fusarium oxysporum.	26
13	Cycle général de la maladie flétrissement vasculaire causée par	27
	F.oxysporum .f.sp. lycopersici chez la tomate	
14	Représentation simplifiée des voies de biosynthèse de l'acide salicylique	34
15	Structure moléculaire de l'acide salicylique et de ses analogues utilisés	35
	pour les études fonctionnelles	
16	Schémas présentant le rôle de l'AS dans l'induction	36
	systémique acquise.	
17	deux variétés de la tomate (Elgon, Lesto).	40
18	Aspect macroscopique (A) Fusarium oxysporum f.sp. lycopersiciet (B)	41
	Botrytis cinerea.	
19	dispositif expérimental.	43
20	différentes concentrations de l'acide salicylique.	44
21	Dosage de chlorophylle.	45

22	Dosage de proline.	46
23	Dosage de sucre soluble.	47
24	Traitement avec différentes concentrations de l''acide salicylique contre les agents phytopathogénes.	49
25	Évolution des teneurs en proline (µg/100 mg MF) chez la variété <i>Lesto</i> .	50
26	Évolution des teneurs en proline (µg/100 mg MF) chez la variété <i>Elgon</i> .	51
27	Evolution des teneurs en sucre soluble (µg/100 mg) MF chez la variété <i>Lesto</i> .	52
28	Evolution des teneurs en sucre soluble (µg/100 mg) MF chez la variété <i>Elgon</i> .	53
39	Effet de l'acide salicylique sur la tenure de la chlorophylle (a, b, et totale) Contaminé par <i>Fus.oxy.lyc</i> (A) et la <i>B.cinerea</i> (B) chez la variété <i>Lesto</i> .	54
30	Effet de l'acide salicylique sur la tenure de la chlorophylle (a, b et totale) contaminé par la <i>B.cinerea</i> (A) et <i>Fus.oxy.lyc</i> (B) chez la variété <i>Elgon</i> .	56

# Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	principales productions de tomate au niveau	8
	mondial en 2011	
2	Evaluation de la production de la tomate en Algérie pendant (2001-	9
	2011).	
3	Teneurs en caroténoïdes pour 100g de tomate	11
4	Composition de la tomate fraiche	11
5	principales maladies fongiques de la tomate	12
6	Principaux bactéries attaquant les cultures de tomate	14
7	Principaux virus attaquant les cultures de tomate	15
8	Caractéristiques des deux variétés de tomate utilisées	40

## Liste des abréviations

- > % : Pourcentage.
- ➤ °C : Degré Celsius.
- > AFNOR : Association Française de Normalisation
- ➤ **AS** : Acide salicylique.
- > Bot. : Botrytis cinerea.
- **Chl a** : Chlorophylle a.
- **Chl b** : Chlorophylle b.
- **Chl T** : Chlorophylle totale.
- **Cm**: Centimètre.
- **DO** : Densité Optique
- **FAO**: Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
- > Fus.oxy.lyc. :Fusarium oxysporum f. sp .lycopersici
- **g**: Gramme
- **g/l** : Gramme par litre.
- > INRA : Institut National de la Recherche Agronomique.
- **Kg**: Kilogramme
- ➤ 1: Litre
- ➤ **M** : Masse molaire
- > m : Mètre
- > MF : Matière Fraiche
- > mg : Milligramme
- > ml : Millilitre
- > mm : Millimètre
- > mM : Millimolaire
- ➤ **mM/l** : milli- molaire par litre.
- > mn : Minutes
- > Na Cl : Chlorure de sodium.
- > PAL: phénylalanine ammonia-lyase
- **PDA**: Potato Dextrose Agar
- > **pH** : Potentiel Hydrogène
- **PR**: Protéines : Pathogens related protéines.

➤ Qx/Ha: Quintaux / Hectare.

> SAR : Résistance systémique acquise.

> μg : migrogramme

> μl : microlitr

# Introduction

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

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

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

Les réponses de défense des plantes peuvent être induites par certaines composées chimiques, y compris l'acide salicylique (Klessing et Mallamy, 1993). L'acide salicylique a été trouvé dans les feuilles et les organes reproducteurs des 34 plantes cultivées les plus importantes. La teneur en acide salicylique a augmenté de façon significative chez les plantes infectées (Raskain, 1992). L'induction de la résistance systémique acquise par L'acide salicylique exogène est un phénomène connu (Gaffneyet al., 1993). L'acide salicylique ou ces analogues présent dans diverses plantes sont considérés actuellement parmi les molécules bio-contrôle ou des Stimulateur de Défense Naturel (SDN) (AFPP, 2013), (RMT Elicitra, 2013). Son application peut présenter plusieurs avantages en relation avec le développement des tomates, découlant de son mode d'action pour stimuler les mécanismes de défenses propres à la plante. L'acide salicylique est un composé phénolique qui est impliqué à la fois dans la mise en place d'une résistance locale et d'une résistance générale (RSA) chez les plantes.

Le présent travail consiste donc à évaluer la réponse de deux variétés de la tomate (*Lesto*, *Elgon*) contaminé par deux agents phytopathogènes *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*responsable de flétrissement vasculaire et *Botrytis cinerea* responsable de la pourriture gris est l'effet le traitement de l'acide salicylique à différentes concentrations (0 mg/l.150mg/l, 200mg/l et 250mg/l.)sur les composantes physiologiques (chlorophylle a, chlorophylle b et chlorophylle totale), et les composantes biochimique (proline, sucre soluble).

Notre travail est réparti en deux parties:

- La première partie concerne la étude bibliographique, elle contient trois chapitres : la plante hôte : Tomate (*lycopersicum esculentum* Mill.), les agents pathogènes, et l'acide salicylique
- La deuxième partie concerne l'étude expérimentale, contient deux chapitres, matériel et méthodes, et résultats et discussion.

Enfin on terminera par une conclusion.

# Partie I Revue bibliographique

# Chapitre I Généralité sur la tomate



La tomate Lycopersicon esculentum Mille a une place importante dans l'alimentation humaine puisqu'elle est consommée toute l'année, dans le monde entier. Elle se positionne au premier rang mondial des fruits cultivés avec une production d'environ 152 millions de tonnes en 2010 FAO, 2012. La tomate étant le produit le plus consommé et commercialisé au monde, elle représente également le premier produit agricole consommé au sein du Marché d'Intérêt National de Rungis. Si l'on se réfère à la définition d'un fruit : produit végétal qui succède à la fleur après fécondation et qui renferme les graines de la plante, la tomate serait donc bien un fruit (on voit les graines à l'intérieur). La tomate est donc biologiquement parlant un fruit mais un légume culinairement parlant. Aujourd'hui, la tomate est le premier fruit produit dans le monde et le deuxième légume le plus consommé, juste derrière la pomme de terre. (Chaux et Foury ,1994).

#### I.1. Historique

Les tomates sont originaires des régions andines côtières du nord-ouest de l'Amérique du sud (Colombien, Equateurs, Pérou). On retrouve ses premières traces de culture par les Aztèques vers 1400. Ils les avaient déjà améliorées par rapport aux formes sauvages. La tomate arrive en Europe par l'Italie, on trouve sa trace à partir de 1544. Longtemps considérée comme toxique, la tomate fait son apparition dans un livre de recette Parisien en 1750. Les premières variétés potagères apparaissent dans le catalogue Vilmorin de 1778. Aux USA, elle n'est réhabilitée qu'en février 1824 par un article du New York Times. Le premier hybride F1 est créé en 1946.(Chaux et Foury, 1994).

Le mot « Tomate » est une déformation du mot inca « Tomalt ».Découverte par Christophe Colomb en Amérique du Sud au XVe siècle alors qu'il pensait avoir trouvé la route des Indes, la tomate était cultivée par les Incas de la région andine et n'était alors pas plus grosse que notre tomate cerise.

La première domestication de la tomate à gros fruits est vraisemblablement intervenue dans le Mexique actuel, où l'ont trouvée les conquérants espagnols lors de la conquête de Mexico par Hernán Cortés en 1519(Chaux et Foury, 1994).

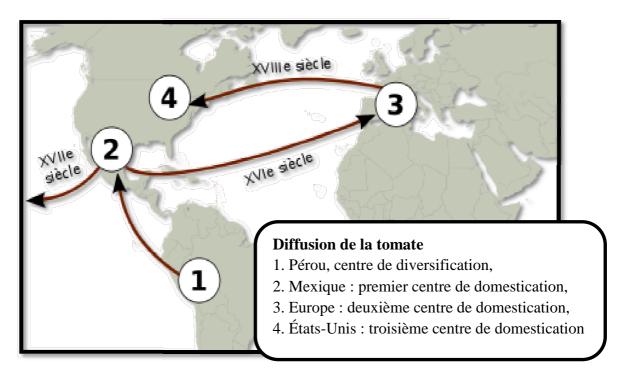


Fig 01. Carte diffusion de la tomate dans le monde(Blancard et al., 2009).

#### I.2. Nomenclature et Classification de la tomate

Les botanistes modifièrent à plusieurs reprises les noms de genre et d'espèce attribués à la tomate. Elle a été classée par Linné en 1753, comme *Solanum lycopersicon*, d'autre botanistes lui ont attribué différents noms : *Solanum lycopersicon*, *Solanum esculentum*, *Lycopersicon licopersicum*; c'est finalement *Lycopersicon esculentum* attribué par Philipe Mille en 1754, qui a été retenu. (**Munroe et Small,. 1997**).

Le nom de genre « *Lycopersicon* » est gréco-latin, il signifie « pêche de loup » et la partie « *esculentum* » complétant le nom de l'espèce vient du latin et qui signifie « comestible». Cette comestibilité ne concerne ni le feuillage, ni les jeunes fruits verts car ils contiennent des alcaloïdes toxiques (tomatine, solanine). Ces derniers disparaissent des fruits au cours du mûrissement (**Blancard** et *al.*, 2009).

Cronquist (1981) ; Gaussen *et al.* (1982) proposèrent la classification de la tomate qui est largement suivie :

• **Règne** :*Plantae*.

• Sous règne : Trachenobionta.

• Embranchement : Magnoliophyta.

• Classe : Magnoliopsida.

• **Sous-classe** : *Asteridae*.

• Ordre : Solanales.

• **Genre** : Solanum ou lycopersicon.

• **Espèce**: lycopersicon esculentum Mill.

#### c. Classification génétique

La tomate cultivée est une espèce diploïde avec 2n = 24 chromosomes, chez

Laquelle il existe de très nombreux mutants monogéniques dont certains sont très Importants pour la sélection. C'est une plante autogame mais on peut avoir une Proportion de fécondation croisée par laquelle la plante peut se comporter comme plante allogame (Bouharmont, 1994).

#### d. Classification variétale

Aujourd'hui, les variétés sont très nombreuses. L'identification des variétés de tomate est essentiellement basée sur les critères suivants :

- le type de croissance de la plante,
- le comportement de la plante à l'égard d'un ravageur ou d'une maladie donnés,
- le fruit pour lequel plusieurs caractéristiques sont prises en considération comme : l'absence ou la présence de collet vert, la forme, la couleur, le calibre, la capacité de conservation, la capacité du fruit à se maintenir sur l'inflorescence à maturité « tomate-grappe », la fermeté de l'épicarpe, la qualité gustative, etc....

#### > Variétés déterminées

Dans ce groupe, on trouve des variétés dont la tige émet un nombre donné de bouquets à fleurs. Mais cette tige principale est terminée par un bouquet à fleurs, comme d'ailleurs les rameaux anticipés, il en résulte que faute de bourgeon terminal la croissance de la tige s'arrête d'elle-même. Ce groupe est donc à retenir lorsque l'on souhaite disposer d'une récolte élevée en tonnage, mais dans un éventail de production peu étendu, de 6 à 7 semaines environ. Elles sont utilisées généralement lors de la culture en plein champs (Laumonnier, 1979).

En Algérie on trouve des variétés fixées (AICHA) et des variétés hybrides. Ces dernières sont les plus utilisées, elles contiennent essentiellement: FAROUNA, JUKER, LUXOR, SUPER RED, TOP 48, TOMALAND, SUZANA, et ZIGANA ZERALDA (Snoussi, 2010).

#### > Variétés indéterminées

Ces variétés présentent une tige principale poussant avec régularité et formant un bouquet à fleurs toutes les trois feuilles généralement. Il en résulte que la production des

fruits est prolongée. On peut l'arrêté par un pincement du bourgeon terminal à la hauteur souhaitée. Ce groupe se caractérise par un rendement important qui s'étale sur une longue période (Laumonnier, 1979).

En Algérie les variétés hybrides sont les plus utilisées citant quelques une : ACTANA, AGORA, BOND, NEDJMA, TAFNA, TAVIRA, TOUFAN, TYERNO et ZAHRA (Snoussi, 2010).

#### I.3. Cycle biologique de la tomate

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

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

- **a.** la « phase végétative » qui correspond à la production phrénologique exclusive d'organes végétatifs (feuilles et tiges) et comprise entre la levée et l'apparition de la première inflorescence
- **b.** la « phase reproductive » qui correspond à la période de production des fleurs et des fruits et qui démarre à la floraison pour s'achever en fin de culture
- **c.** la « phase de maturation » des fruits qui démarre sept à dix jours avant la récolte des premiers fruits et se termine à la récolte.

#### I.4.Description botanique de la tomate

#### I.4.1.Le système racinaire

Forte racine pivotante qui pousse jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus. La racine principale produit une haute densité de racines latérales et adventices (**Shankara**, **2005**).

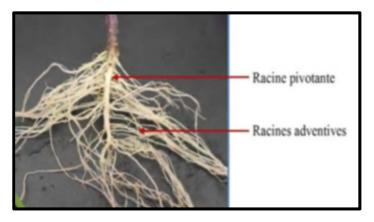


Figure 02. Système racinaire de la tomate (Naika et al., 2005).

#### **I.4.2.Tige**

Elles sont vertes, épaisses aux entre-nœuds. Elles disposent de deux types de poils blanchâtres : des poils simples et des poils glanduleux qui contiennent une huile essentielle, qui donne l'odeur de la tomate et la coloration verte. Elles portent les feuilles, les fleurs et les fruits. Une tige peut porter de nombreuses ramifications (appelées axillaires) et a une croissance indéterminée ou déterminée selon les variétés (Kolev, 1976).

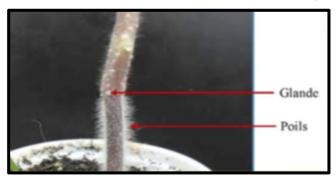


Figure 03. Tige de tomate (Naika et al, 2005).

#### I.4.3.Feuillage

Les feuilles sont composées de 5 à 7 folioles principales, longues de 10 à 25cm et d'un certain nombre de petites folioles intercalaires ovales, un peu dentés sur les bords, grisâtre à la face inférieure. Elles sont souvent repliées en forme de cuillères ou même à bords roulés en dessus. Ces feuilles sont alternées sur la tige (**Raemaekers**, **2001**).



Figure 04. Feuille de tomate (Naika et al, 2005).

#### I.4.4.Fleurs

Les fleurs de la tomate sont des organes bisexués. Elles sont hermaphrodites et autofécondes et regroupées sur le même pédoncule en bouquet lâche en inflorescence formant des grappes plus ou moins bifurquées de 3 à 8 fleurs chez les variétés fixées et au-delà chez les hybrides. Le tube du calice est court et velu, comporte 5 sépales, il est persistant après la fécondation et subsiste au sommet du fruit. Androcée comporte 5 étamines latérales, les anthères allongées forment un cône resserré autour du pistil ; celui-ci est

constitué de deux carpelles soudés formant un ovaire super biloculaire à 2 loges et à placenta central. En général la formule florale de la fleur est la suivante : 5 sépales + 5 pétales + 5 étamines + 2 carpelles (**Judd et al, 2002**).



Figure 05. fleur de tomate à l'anthèse(FAO, 2009)

#### **I.4.5.Fruit**

Le fruit est une baie plus ou moins grosse, avec épiderme lisse brillant de forme variable (sphérique, oblongue, allongée), et de couleurs variées (blanches, rose, rouge, jaune, orange, verte, noire) selon les variétés **Renaud, 2003**. La paroi de l'ovaire évolue en péricarpe charnu et délimite des loges. Le placenta constitue la partie centrale du fruit et est à l'origine des tissus parenchymateux. Le nombre de loges, l'épaisseur du péricarpe et l'importance du gel sont dépendants des variétés (**Grasselly et** *al*, **2000**).

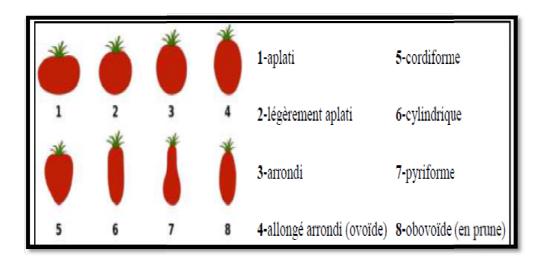


Fig 06. Différentes formes de tomates utilisées pour décrire une variété (descripteur IPGRI) (In Nicolas, 2010).

#### I.4.6.Graines

Nombreuses, en forme de rein ou de poire. Elles sont poilues, beiges, 3 à 5 mm de long et 2 à 4 mm de large. L'embryon est enroulé dans l'albumen.1000 graines pèsent approximativement 2,5 à 3,5 g (Shankara, 2005).

#### I.5. Exigences culturales de la tomate

Le *Lycopersicum esculentum* Mill a des exigences particulières: sensible au froid, craint beaucoup le gel, les vents chauds et très exigeants en température (**Polese, 2007**).

#### A. Température

La tomate est exigeante en ce qui concerne les températures dont l'optimum se situe entre 13 et 20 °C pendant la nuit et entre 20 et 27° C pendant la journée. Pour obtenir une bonne production, un écart de 6 à 7°C entre les températures diurnes et les températures nocturnes est nécessaire ou moment de la floraison (**Nyabyenda**, **2007**).

#### B. Lumière

La tomate aime les situations bien ensoleillées, mais elle ne présente pas des exigences photopériodiques très marquées. Pendant les quatre à six semaines qui suivent le semi, les fortes intensités lumineuses encouragent le raccourcissement de l'axe et l'induction de premier bouquet, surtout à des températures basses. Pendant la floraison, une forte intensité favorise la pollinisation et régularise la croissance du style. Par contre, l'intensité directe a un effet nocif sur la qualité du fruit (Chaux et Foury, 1994).

#### C. Hygrométrie

Les producteurs ont pour défi d'optimiser le taux de transpiration des plants tout en évitant la condensation sur le feuillage. Un taux d'humidité élevé peut causer des problèmes dans les serres car il favorise l'établissement de nombreux champignons et bactéries pathogènes. Cependant, un taux d'humidité trop faible à cause de l'arrivée d'air froid et sec dans la serre en hiver stressera encore plus les plants **Elmhirst**, **2006**. L'humidité atmosphérique doit être de 76% lors de la germination, 75-80% durant l'élevage des plantes, 70-80% lors du développement des fruits.

#### D. Sol

La tomate préfère des sols riches en matière organiques, meublent et profonds, à forte capacité de rétention en eau, mais bien aérés. Elle tolère modérément

l'acidité du sol ou son optimum est entre 5,5 et 6,8 (Chaux et Foury, 1994 ; Naika et al., 2005).

#### E. Eau

La tomate parait la culture la plus exigeante en eau en particulier après sa transplantation, pendant la floraison et enfin lors du développement des fruits (Naika et al., 2005).

#### F. Exigence en éléments fertilisant

Les besoins de la tomate en fumure diffèrent selon la nature de sol, le climat et la technique d'irrigation. En général la tomate réagit bien avec les engrais organiques combinés aux engrais minéraux. Trop d'engrais azotés retarde la maturité des fruits. De plus, il favorise le développement de plusieurs agents pathogènes fongiques (Naika et al., 2005).

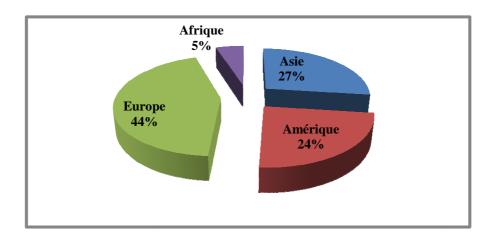
#### I.6.Importance économique de la tomate

#### a. Dans le monde

La tomate est l'une des principales productions légumières dans le monde, et Particulièrement dans les pays tropicaux et les pays du bassin méditerranéen, elle est cultivée dans plus de 130 pays sur une surface avoisinante 2,5 millions ha (**Blancard**, **2009**). La production mondiale est estimée à 159.03 millions de tonnes en 2011 cultivé sur une surface d'environ 4,73 millions Ha (**FAO**, **2011**).

**Tableau 01.** Les principales productions de tomate au niveau mondial en 2011 (**FAO.2011**).

Le	Le pays	Production	Le classement	Le pays	Production
classement					
1	Chine	48.57	8	Brésil	4.41
2	Inde	16.82	9	Espagne	3.82
3	Etats-Unis	12.62	10	Ouzbékistan	2.58
4	Turquie	11.00	11	Mexique	2.43
5	Egypte	8.10	12	Russie	2.20
6	Iran	6.82	13	Ukraine	2.11
7	Italie	5.95	14	Tunisie	1.28



**Figure 07.** Répartition des exportations de la tomate par région (%) en 2010.(**FAO**, **Avril 2012**)

#### b. En l'Algérie

La culture de la tomate en Algérie se place en seconde position après la pomme de terre. En effet les conditions climatiques des régions productrices de tomate sont très favorables pour l'obtention de bons rendements (**Zidani, 2005**).

Le tableau suivant montre la variation de la production Algérienne de la tomate (FAO, 2011).

**Tableau 02.** Evaluation de la production de la tomate en Algérie pendant(2001-2011).(**FAO, 2011**)

Année	Rendement hg / Ha	Surface cultivée HA
2001	208.518.96	39.830.00
2002	191.705.72	42.510.00
2003	193.985.63	45.730.00
2004	233.695.63	46.729.00
2005	241.641.88	42.354.00
2006	256.784.39	31.005.00
2007	282.540.47	20.079.00
2008	284.532.69	19.655.00
2009	308.352.49	20.789.00
2010	336.412.18	21.350.00
2011	336.170.21	23.500.00

La tomate occupe une place privilégiée dans le secteur maraicher en Algérie. Elle est considérée comme une espèce prioritaire et classée en troisième lieu après la pomme de terre et l'oignon.

La production moyenne en 2011 est de 790 mille tonnes avec un rendement moyen de 336 Qx / ha (Snoussi, 2010 ; FAO, 2011).

La superficie totale réservée pour cette culture est de 23500 ha, dont la répartition géographique est tributaire des conditions climatiques d'une part et de la vocation des terres d'autre part. Les zones réservées pour la tomate sont concentrées au niveau :

- Des plaines du littoral à climat tempéré : Alger, Tipaza, Bejaia, Oran, Annaba, Skikda.
- Centre : Blida, Ain Djefla, Chlef.
- Le Sud à climat aride (Biskra) : Dans ces régions, les investissements sont très importants, du fait du climat qui permet d'avoir des récoltes entre Décembre et Avril avec des rendements qui peuvent atteindre jusqu'à 750 Qx / ha (Snoussi, 2010).
- Les tomates sont principalement cultivées au nord-est du pays : la région d'El Tarf,
   Annaba, Guelma, Skikda et Jijel représente 85% de la superficie totale consacrée à cette culture.

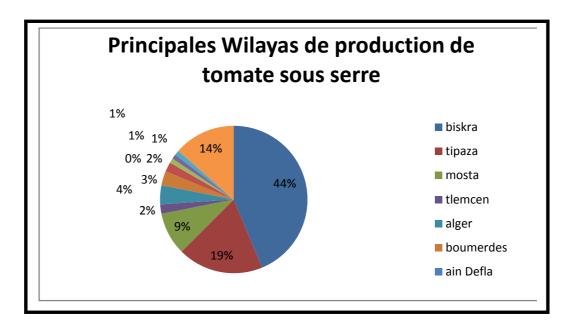


Figure 08.Les principales wilayas de production de tomate sous serre en Alger.

#### I.7.Importance nutritionnelle

La tomate est très prisée pour son intérêt alimentaire et sa valeur nutritive. Le fruit est très riche en vitamine C, en sucre et en acide organique. Ses teneurs en potassium, en vitamine A, en B carotène et sa richesse en pigment lycopène en font un légume à propriétés anticancéreuses notamment (Blancard et al., 2009).

**Tableau 03.**Teneurs en caroténoïdes pour 100g de tomate (**Canene-Adams** et *al.*, 2005).

β-carotène	449 μg
α-carotène	101 μg
Lycopène	25573 μg
Lutein _ zeaxanthin	123 μg
Phytoene	1860 μg
Phytofluene	830 μg

Tableau 04. Composition de la tomate fraiche (Cotte, 2000).

Eau (%)	Glucides	Substance azotées	Lipides	Cendres
	(%)	(%)	(%)	(%)
93	5	0,95	0,30	0,74

#### I.8. Principales maladies de la tomate

Un grand nombre des maladies et de ravageurs peuvent attaquer les cultures de tomates sous abri occasionnant parfois des pertes considérables, les plus importants sont :

## I.8.1.Les maladies cryptogamiques

**Tableau 05.** Les principales maladies fongiques de la tomate (**Causse, 2000**; **Naika** *et al*, 2005).

Maladies	Symptômes	Causées par
Pourriture grise de la tomate	Feutrage gris sur les feuilles et sur les fruits.	Botrytis cinerea
Alternariose	Tâches noires de taille variables sur les feuilles	Colletotrichum- coccodes
Oïdium	Feutrage blanc sur feuilles.	Leveillulataurica

	Grandes tâches brunes sur les feuilles et les tiges.	
Mildiou		Phytophthora infestans.
	Jaunissement en forme de V des feuilles de bas en	
	haut suivi d'un flétrissement avec un léger	
	brunissement des vaisseaux après une coupe.	
Verticilliose		Verticillium albo- atrum
	Il peut entrainer des lésions brun rougeâtre sur	
	toutes les parties de la graine germée. Il produit aussi des chancres situés au collet, et provoque la	
	ceinturer totalement les plantes (Blancard, 2009).	
Rhizoctone	commune totaloment les plantes (Blancara, 2007).	Rhizoctoniasolani.

#### I.8.2. Principaux bactéries attaquant les cultures des tomates

Les principales bactéries attaquant la culture de tomate sont présentées dans le tableau cidessous :

Tableau 06. Les principales maladies bactérienne de la tomate (Causse, 2000; Naika et al, 2005).

Maladies	Symptômes	Causées par
Chancre bactérien	un flétrissement et un jaunissement des folioles dans le tiers inférieurs, en particulier d'un seul coté du végétale.	Clavibactermichiganensissub. sp. Michiganensis
Moucheture bactérienne	petites taches nécrotiques qui se forment sur les fruits.	Pseudomonas syringaepv. Tomato
Moelle noire	Parfois observée en plein champs, mais elle affecte surtout les cultures sous serre (Blancard et al., 2009).	Pseudomonas corrugata
Gale bactérienne	Des petites taches apparaissent sur les feuilles et sur les fruits. En général, ces taches sont brunes et 15 arrondies Les feuilles jaunissent puis tombent et des lésions elliptiques apparaissent sur les tiges et les pétioles. (Naika. et al., 2005).	Xanthomonascampestrispv. Vesicatoria.

#### I.8.3.Les maladies virales

Les principales pathologies virales qui touchent la culture de tomate sont présentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 07 :** Principaux virus attaquant les cultures de tomate (**Andrés et** *al.*, **2007 ; Trottin-Caudal et** *al.*, **2011**).

Virus	Symptômes	Moyen de transmission
CMV (Cucumber Mosaic Virus)	Mosaïques, Nécroses, Fili formismes	Pucerons
TICV (Tomato Infections Chlorosis Virus)	Jaunisses	Aleurodes (T.vapararior-um)
TMV (Tobacco Mosaic Virus)	Mosaïque Verte ou Jaune	Machines ou la main d'œuvre
PepMV (Pepino Mosix Virus)	Mosaïques	Contact, opérations culturales, graines.
TYLCV (Tomato Yellow Leaf Curl Virus).	Jaunisses, Enroulement foliaire, Filiformismes	Aleurodes, (Bemisiataba-ci)

# Chapitre II Les agents pathogènes

# I. Botrytis cinerea

### I.1. Présentation du modèle Botrytis cinerea

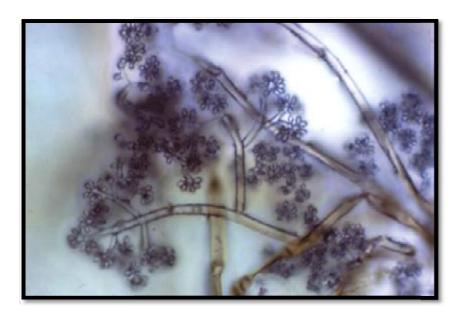
Botrytis cinerea est un pathogène cosmopolite et très polyphage qui provoque de grave perte dans les cultures de nombreux fruits, légumes et plantes ornementales **Schwinn**, **1992**, et qui peut être particulièrement plus sévère dans les cultures sous serres **Jarvis**, **1980**. c'est un phytopathogène aérien qui colonise les débris végétaux (parties de plantes sénescentes ou mortes), s'y développe vigoureusement, et à partir de cette base contamine les organes verts et sains (**lafon et** al., **1970**).

De ce fait, il est considéré comme un champignon necrotrophe martinez et al.,2005 et saprophyte du sol et des débris végétaux en décomposition melvin et al., 2006. L'étymologie de son nom fait référence directement à sa morphologie : « botrytis » signifie « en forme de grappe », indiquant ainsi la morphologie des conidiospores, et «cinerea» renvoie à la couleur gris cendrée de la sporulation (walker, 2013).

# I.2.Description de la pourriture grise

Le *Botrytis* de la tomate est provoqué par un champignon commun à de nombreuses cultures : *Botrytis cinerea*. Cette maladie est aussi appelée pourriture grise. Une moisissure grise s'observe alors sur les différents organes de la plante. Ce champignon est un parasite dit « de faiblesse » et « de blessure » qui s'installe très souvent quand la tomate est affaiblie ou à partir d'une blessure de la plante. Ainsi, les techniques de conduite provoquant des plaies, même superficielles, telles que le "couchage" des plantes, favorisent les attaques de botrytis.

La pourriture grise, causée par *Botrytis cinerea* est l'une des maladies la plus redoutable et les plus destructives de la tomate **Leroux et al.,1999**, ce pathogène, responsable de la maladie, est un champignon omniprésent dans l'environnement (**Elad et al., 2007**) et capable de s'attaquer à une très grandes variété de plantes hôtes, Il est capable de se développer aussi bien en saprophyte, sur des débris végétaux, qu'en parasite, aux dépends d'une plante vivante, (**Dubos, 2002**) et ainsi, causer la pourriture grise des feuilles, des pétioles, des tiges et des fruits (**Kalogiannis et al., 2006**), sous serre et en plein champ, mais elle est particulièrement sévère dans les conditions de lumière faible et d'humidité élevée des serres (**O'neill et al.,1997**).



**Figure 09.** Observation sous microscope de conidiophores de *Botrytis cinerea*, portant à leurs extrémités des conidies (**Bryon, 2011**).

### I.3. Historique et taxonomie

Le genre *Botrytis* a été reconnu pour la première fois en 1729 par Pier Antonio Micheli. Au début, il a été confondu avec *Sclerotiniaspp*. Des précisions ont été apportées par Smith en 1900 pour que la confusion se dissipe par Whetzel en 1945 **Hennebert1973.** 

Le genre a été redéfini, définitivement, en 1973 par Hennebert et comprend plus de 20 espèces dont la plupart ont un spectre d'hôtes restreint, comme par exemple *B. tulipae* (tulipes), *B. fabae* (légumineuses), *B. squamosa* (oignons) ; contrairement à *B. cinerea* qui est un champignon ubiquiste et très polyphage ( **Elad et** *al.*, **2007**).

La classification de ce champignon connaît une double classification (**Ibrahim-Ghaleb, 1990**) :

- ➤ Une forme parfaite (téléomorphe), *Botryotinia fuckeliana* (de Barry) Wetzel. C'est un Ascomycète, de la classe des Discomycètes, de l'ordre des Léotiales, famille des Sclerotiniaceae.
- ➤ Une forme imparfaite (anamorphe), *Botrytis cinerea*Pers. C'est un Deutéromycète de la Classe des Hyphomycètes, de l'ordre des Moniliales, famille des Moniliaceae. C'est de **Bary 1866**, qui a établi une relation génétique entre *Botrytis cinerea* Pers., organisme asexué, et *Botryotinia fuckeliana* appelé au départ *Peziza fuckeliana*, organisme sexué. *Botrytis cinerea*se classe comme suit :

Règne:Fungi

**Division**: Ascomycota

**Classe:** Leotiomycetes

Ordre: Helotiales

<u>Famille</u>: Sclerotiniaceae

**Genre**: Botrytis

Espèce: Botrytis cinerea (Hakim Alilou, 2012).

# I.4. Spectres d'hôte et l'importance économique

Botrytis cinerea est un champignon polyphage capable d'attaquer plus de 230 espèces de Plantes Jarvis, 1980. Il affecte de nombreuses productions végétales d'importance économique en culture sous serre ou en plein champ, comme par exemple: le raisin, la pomme, la poire, la cerise, la fraise et le kiwi en production fruitière, l'aubergine, la carotte, la laitue, le concombre, le poivron, la tomate, la courgette en production légumière ou des plantes ornementales comme la rose, le gerbera ou le cyclamen. Ce champignon est responsable de lourdes pertes économiques sur de nombreuses cultures (Gullino, 1992).

Ce champignon est considéré comme un problème phytosanitaire majeur en viticulture dans le monde. Les pertes mondiales sont estimées à 2 milliards par ans (**Elmer et Michailides**, 2004). En culture sous abris, les risques d'attaque par ce champignon pathogène est permanent sur tomates, poivron, laitue ou fraise (**Jarvis**, 1992).

#### I.4.1.Gamme d'hôte et symptômes

B. cinerea est un champignon qui a la particularité d'être polyphage et ainsi de s'attaquer à diverses plantes dès que les conditions climatiques lui sont favorables (Tudzynski et al., 2004). Il affecte de nombreuses productions végétales d'importance Economique en culture sous serre ou en plein champ et à n'importe quel stade de leur développement ainsi qu'en période de stockage (Elad et al., 1997). B. cinereapeut s'attaquer à une grande variété de plantes hôtes. On lui dénombre environ 586 espèces. Ce champignon est responsable de lourdes pertes économiques sur de nombreuses cultures (Dean et al., 2012).

Sur les cultures de tomate, *B. cinerea* affecte toute les parties de la plante, Les attaques de pourriture grise peuvent provoquer une diversité de symptômes (Williamson et *al.*, 2007), et touche toutes les parties de la plante comprenant les feuilles, tiges et les fruits, et souvent cause des dégâts très importants (Eden *et al.*, 1996) :

- Symptômes sur feuilles : Sur les feuilles, *B.cinerea* peut provoquer des nécroses et des lésions et laisse apparaître des tâches brunes à l'extrémité des folioles permettant ainsi

l'apparition d'un duvet grisâtre sur la feuille. Lors d'une épidémie grave, le feuillage entier va être détruit (**Elad et** *al.*,1995).

- Symptômes sur les fruits : l'infection commence à la pointe florale ou au bout du pédoncule. Une couche de champignon d'une couleur grise a tendance à se former rapidement lorsque les conditions d'humidité sont élevées. Dans ce cas une pourriture molle aqueuse va altérer le fruit (Elhadi, 2012),qui, dans ce cas tombe et sert de source d'inoculum dans la serre (Elad et al., 1995). Sur les tomates, le pathogène induit également un symptôme nommé «fantôme», ce type de symptôme est associé au système de défense successif de la plante caractérisé par de petites lésions nécrotiques, généralement entourées d'un halo lumineux. Les points fantômes peuvent être dispersées dans tout le fruit, affectant ainsi sa qualité (Elad et al., 2007).
- Symptômes sur tiges : lorsque la tige est envahit par *B.cinerea*, le plant meurt entièrement ce qui va engendrer des pertes de rendement (**Elad** *et al.*, **1995**). A ce niveau, l'infection aura lieu à la faveur d'une blessure, et commence généralement à la base des pétioles de la feuille (**Elhadi**, **2012**).
- Symptômes sur fleurs : lorsqu'une fleure est infectée elle avorte et ne produit pas de fruit, cette infection, dans certains cas, se développe pour atteindre également la tige (Elad et al., 1995).



Figure 10.les symptômes de *B. cinerea* sur la tomate (Agrios, 2005).

# I.5.Cycle infectieux de B. cinerea

Botrytis cinerea possède un cycle infectieux sexué et asexué. Il peut produire soit des spores asexuées (macroconidies) ou sexuées (microconidies), soit du mycélium ou des sclérotes (Ajouz, 2009). Durant l'hiver, B. cinerease conserve principalement sous forme de sclérotes dans les débris morts de l'hôte, la plupart du temps les feuilles tombées au sol.

Les sclérotes, 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 sclérotes germent et produisent un mycélium qui, grâce à ses appressoria, perforera la cuticule végétale. Il y aura par la suite, développement des conidiophores portant des macroconidies (spores asexuées) qui serviront d'inoculum primaire.

Les macroconidies libérées seront principalement propagées à l'aide du vent et de 14 la pluie, ce qui sera considéré d'inoculum secondaire. Le mycélium de *B. cinerea* peut aussi se conserver dans les débris de l'hôte durant l'hiver pour par la suite produire des conidies et servir d'inoculum primaire (**Williamson** *et al.*, **2007**).

Pour plusieurs fruits et légumes (ex. courgette, fraise, pomme), l'infection commence généralement sur les fleurs sénescentes puis se propage sur les fruits adjacents en développement (Williamson et al., 2007).

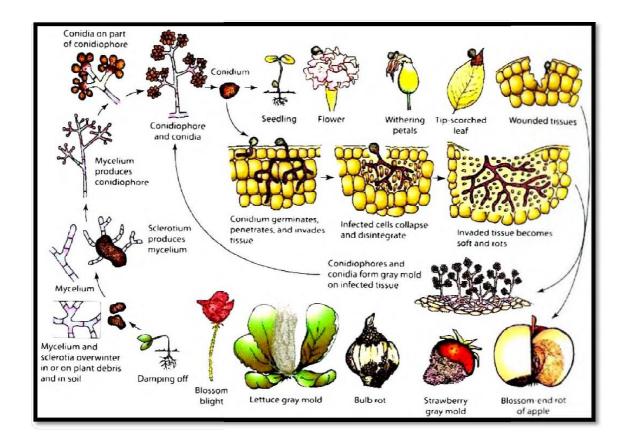


Figure 11. Cycle biologique de B. cinerea (Agrios, 2005).

# I.6.Les facteurs influençant le développement de B. cinerea

De nombreux facteurs dans les systèmes de production en serre peuvent influencer le développement de *B.cinerea*.

# I.6.1. Facteurs abiotiques

#### I.6.1.1. La température

B. cinerea peut prospérer dans une gamme de température allant de 12 à 30°C. La température joue, donc, un rôle très important sur le comportement de ce pathogène, surtout sur la vitesse de croissance du mycélium et la formation des sclérotes (**Dik et Wubben**, 2007). La vitesse de croissance augmente proportionnellement à la température. Pour un développement optimal du champignon, les températures doivent s'étendre de 20 à 30°C (**Shiraishi** et al.,1970; **Ajouz, 2009**). B. cinerea représente, donc, toujours une menace potentielle dans les cultures de serre à cause des conditions climatiques qui y règnent (**Dik**, 2007).

#### I.6.1.2.L'humidité

L'humidité relative (HR) est un facteur environnemental crucial pour *B. cinerea* (**Lafon et Bulit, 1970**). Le développement de ce pathogène est favorisé par un taux d'humidité élevé (Hygrométrie atmosphérique de 80 à 90%) (**Corbez, 1994**).

# I.6.1.3.La lumière et le pH

B. cinerea est accommodant, il semble être tolérant vis-à-vis des variations du pH, et peut se développer à des valeurs de pH neutres, légèrement acides à légèrement alcalins. Quant à la lumière, elle favorise la germination et pourrait contribuer à la pénétration du champignon dans l'hôte (Lafon et Bulit, 1970). La lumière, surtout UV augmente la sporulation de B. cinerea (Dik et Wubben, 2007), tandis que l'irradiation de la lumière bleu et violette inhibe la croissance de son mycélium (Nicot et al., 1996).

# I.6.1.4. Exigences nutritives

Pour mieux se développer, *B.cinerea* nécessite la présence d'une source exogène de nutriment, que ce soit pour la germination des spores, le développement du mycélium, ou la formation des appressoria (**Li et al., 2004**). La présence du carbone est nécessaire à la germination (**Blakeman, 1975**). Quant à l'azote, sa présence dans le sol avec un taux élevé stimule le développement des plants de tomate et réduit l'incidence de l'infection par B. cinerea (**Verhoeff, 1968**).

#### I.6.1.5.L'irrigation

Dans les cultures denses telle que celle de la tomate, l'incidence de la moisissure grise peut être plus élevée. Le système d'irrigation de la tomate a été démontré pour influencer l'apparition et le développement de la moisissure grise sur les tiges. Lorsque l'irrigation a été effectuée du lever au coucher du soleil l'incidence de la maladie était beaucoup plus élevée que dans un régime avec la même quantité d'irrigation appliqué de 1 à 2 heures après le lever du soleil jusqu'à 1 ou 2 heures avant le coucher du soleil (**Dik et Wubben, 2007**).

Des études ont montré que le type d'irrigation peut influer le développement de la pourriture grise. Dans la production de tomate sous serre, le système d'irrigation goutte à goutte peut remplacer le système traditionnel à la rigole ce qui permettra d'avoir un effet bénéfique dans le contrôle de *B. cinerea*(Aissat et *al.*,2008).

# I.6.2. Facteurs biotiques

# I.6.2.1.État physiologique de la plante hôte

L'infection par *B. cinerea* est favorisée par la présence d'une porte d'entrée, d'une blessure sur la plante hôte, ou encore la présence de tissus faibles tels que les pétales des fleurs (**Jarvis**, **1977**). Comme il se peut que le champignon pénètre dans la plante par le biais des ouvertures naturelles telles que les stomates (**Wei**, **1995**).

# II. Fusarium oxysporum agent du flétrissement vasculaire

La tomate (lycopersicum esculentum) est sujette à deux maladies fusariennes :

- La flétrissure fusarienne classique (*Fusarium* wilt) causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (**Snyder et Hans, 2003**).
- La pourriture des racines et du collet (*Fusarium* crown and root rot) causée par *Fusarium oxysporum f.sp.*radicis-lycopersici Jarvis et shoemaker (**katan etal.**, 1997).

# II.1.Généralités sur le Fusarium oxysporum

Le genre *Fusarium* a été découvert par **Link en 1809**. Les champignons du genre Fusarium regroupe un grand nombre d'espèces peuvent aussi être responsables des maladies connu sous le terme de fusariose telle que les flétrissements vasculaires et les pourritures des racines et/ou du collet (**Gordon, 1965**).

Le genre *Fusarium* est économiquement très important et doit être considéré comme un faisceau d'espèces très diversifiées du point de vue morphologique, chacune de ces espèces est représentée dans la nature par une majorité de souches saprophytes ou de parasites regroupant des formes plus ou moins spécialisées et douées d'une véritable virulence. Il regroupe de nombreuses espèces phytopathogène susceptibles d'attaquer un grand nombre de plantes (**Fravel et al., 2003**). Certaines espèces ont un nombre restreint d'hôtes tels que *F. graminearum* (**Goswami et Kistler 2004**) et d'autres tels que *F. oxysporum* et *F. moniliforme* en attaquent plusieurs (**Bezuidenhout et al. 1988**; **Nelson et al. 1983**).

Fusarium oxysporum (Schlecht). Snyder et Hansen (Snyder et Hansen, 1940) est l'espèce la plus répandue. Elle comporte des formes phytopathogènes les plus fréquentes et les plus importantes de la microflore fongique des sols cultivés (Baayen et al., 2000). F.oxysporum est un complexe d'espèces ubiquistes comprenant de nombreuses formes spéciales (f. sp.) Responsables de diverses maladies, la principale étant le flétrissement

vasculaire caractérisé par un flétrissement des plantes dû à l'envahissement des vaisseaux du xylème par le pathogène (**Dean et** *al.*, **2012**).

## II.2. Position taxonomique

Les nombreuses controverses dans les études taxonomiques du genre *Fusarium* ont peu concerné l'espèce *F.oxysporum*. En effet, (**Snyder et Hansen**, **1940**) ont montré que les différences morphologique décrits par (**Wollenweber et Reinking**, **1935**) pour distinguer plusieurs espèce dans la section Elegans n'étaient que des variations culturales d'une même espèce, appelée *F.oxysporum*. La plupart du système taxonomique proposé ultérieurement ont maintenu *F.oxysporum* comme espèce unique dans la section Elegans. La seule controverse qui subsiste concerne la position taxonomique de *F. redolens*, considérée comme une espèce (**Wollenweber et Reinking**, **1935**) ou comme une variété de *F.oxysporum* (**Booth**, **1971**). Cependant, des données Récentes tendent à définir *F. redolens* comme une espèce à part entière (**Baayen et al.**, **1997**).

# II.3. Position systématique

Le système Saccardo de classification des champignons imparfaits « fungi imperfecti » (Henni, 1998) classe *Fusarium* comme suit :

**Embranchement :** Thallophyte.

Classe: Deutéromycète.

Famille: Tuberculariacée.

Genre: Fusarium.

Espèce: oxysporum.

#### II.4. Biologie de *F. oxysporum*

Les *F. oxysporum* ont une origine tellurique, ce qui explique leur forte présence au niveau du sol, d'où près de 40-70% de la population fusarienne tellurique totale sont des *F. oxysporum*(**Smith, 1965**). Ces derniers, mènent une vie en saprophyte en absence de la plante hôte (**Blancard, 1997**). Il s'agit en effet de parasites des climats tempérés, présentant une croissance optimale à des températures comprises entre 25°C et 30°C (**Blancard, 1997**).

Ces champignons se trouvent le plus souvent dans le sol, sous forme de spores résistantes (Chlamydospores) 18 (Alabouvette etal., 1993) qui en contacte de l'hôte, s'adhèrent au niveau des racines de la plante et germent à l'extérieur, une partie du mycélium pénètre à l'intérieur des racines et se ramifie au niveau des cellules épidermiques. Ce pathogène a la capacité de franchir les barrières rigides de la plante hôte grâce aux

enzymes hydrolytiques qu'il possède (**Beckman et Roberts**, **1995**), ou par l'intermédiaire de blessures naturelles ou accidentelles.).

Le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylène (tissu conducteur) entraînant une coloration brune de la plante. Lorsque le champignon se développe, il produit trois types de spores asexuées qui assurent sa dissémination.

Les microconidies sont uni- ou bicellulaires , de petite taille (8-10 μm), ovoïdes et non septées, sont produites abondamment et regroupées en «fausse-tête» sur des phialides portées par le mycélium (**Agrios, 2005**; **Nelson et** *al.*, **1983**). Les macroconidies sont plus grosses (jusqu'à 45 μm), en forme de fuseau et multiseptées, en bouquets sur des phialides terminales portées par des conidiophores (**Agrios, 2005**; **Burgess, 1981**).

Les Chlamydospores sont des spores rondes d'une ou deux cellules, entourées d'une paroi épaisse plus ou moins pigmentée. Elles sont observées au milieu des hyphes ou en position terminale, souvent en forme de paires, quelques fois en triplets et rarement en forme rassemblée (Agrios, 2005; Nelson et *al.*, 1983). Ces caractéristiques permettent l'identification de *F. oxysporum* au microscope (Leslie et Summerell, 2006).

Les Chlamydospores restent dormantes et immobiles jusqu'à la stimulation de la germination par des substrats organiques ou exsudats racinaires. Suite à la germination, il y a formation d'un mycélium. Si les conditions sont favorables, le thalle produit des conidies (Beckman et Roberts, 1995; Agrios, 2005).

La pénétration directe dans les cellules épidermiques serait possible. Ce champignon produit de nombreuses micro- et macroconidies, voire des Chlamydospores sur et dans les tissus colonisés. Sa dissémination peut avoir lieu par les courants d'air les et le matériel agricole, ainsi que par les éclaboussures d'eau.

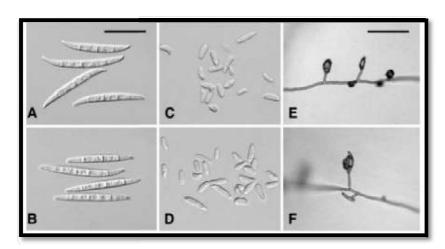
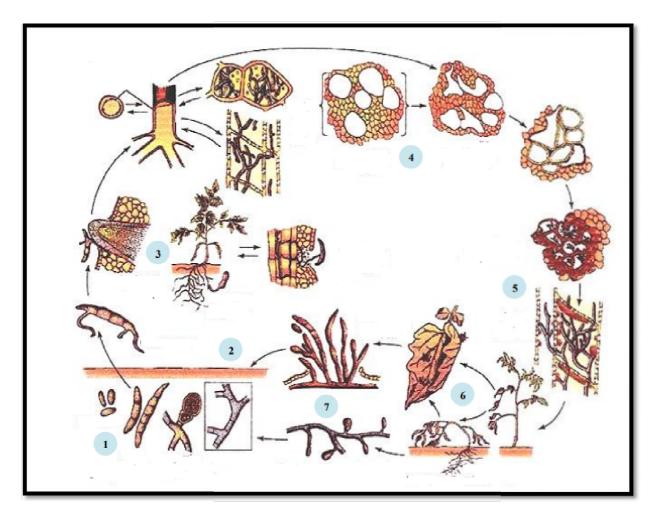


Figure 12. Morphologie du Fusarium oxysporum(Leslie et Summerell, 2006)

A-B: Macroconidies ; C-D: Microconidies ; E-F: Conidiophores et microconidies



**Figue 13.** Cycle général de la maladie flétrissement vasculaire causée par F. *oxysporum .f.sp. lycopersici* chez la tomate (**Agrios, 2005**).

1-conidies, Chlamydospores ou mycélium vivant dans le sol;

- 2-germination des spores;
- 3-pénétration du tube germinatif à l'intérieur des racines ;
- 4-invasion des vaisseaux par les conidies et /ou mycélium ;
- 5-production de gamme à l'intérieur des vaisseaux ;
- 6-flétrissement et mort de la plante ;
- 7-sporodochies ou mycélium produisant des conidies.

# III. Moyennes de lutte contre les agents pathogènes

Les méthodes de lutte appliquées pour le contrôle des fusarioses et pourriture grise sont généralement limitées. Comme c'est le cas pour l'ensemble des maladies parasitaires, il n'existe actuellement aucun moyen réellement efficace pour contrôler totalement ces maladies.les mesures de contrôle demeurent dans leur globalité d'ordre préventif (**Rouxel et al.,1979**).

#### III.1.Lutte culturale

Selon **Bernard et Bugaret** (2002) la prophylaxie en matière de protection des végétaux représente l'ensemble des mesures pouvant être conseillées afin de prévenir ou défavoriser l'installation d'un organisme nuisible et son développement dommageable sur un territoire déterminé.

# a) Pour lutter contre B. cinerea, certaines mesures sont préconisées :

- ➤ L'espacement des plantes, influence le micro climat dans la culture et l'étendue des contacts directe entre les plantes (Dik et wubben, 2007).
- ➤ L'effeuillage dans les cultures de légumes, peuvent réduire l'infection par B. cinerea dans les cultures sous serres, l'effeuillage au ras de la tige sans laisser de fragments de pétioles, diminue significativement l'incidence des chancres de la tige, même sous une pression élevée de la maladie.
- ➤ Une aération optimale des abris est essentielle, notamment en période de temps couvert et humide, afin de diminuer l'hygrométrie ainsi que la présence d'eau libre sur les plantes (Baptista etal.,2012).
- ➤ D'autre part, (Aissat etal., 2008), ont démontré que l'irrigation par goutte à goutte réduit considérablement le développement de pourriture sur tige de tomate.

#### b) Pour lutter contre Fusarium oxysporum, certaines mesures sont préconisées :

- Elle consiste à éviter les conditions qui favorisent la maladie : un sol léger et acide. Un manque d'azote et de calcium.des températures élevées supérieure à 28 °C (température optimale de développement du *Fusarium oxysporum*) et un manque de lumière (**Barna et al., 1983**).
- La méthode de prévention la plus courante est le chaulage afin de maintenir le pH entre 6.4 et 7 (Scott, 1923).
- ➤ Des chercheurs Taiwanais **Sun et Huang** (1985) ont mis au point un amendement organique et minéral qui permet de contrôler efficacement diverses espèces de *Fusarium*.

#### III.2.Lutte chimique

La lutte chimique se définie par l'utilisation de fongicides pour détruire, affaiblir ou réprimer le champignon. Actuellement, les fongicides restent des outils indispensables pour lutter contre *B. cinerea* en pré- et post-récolte et assurer une production suffisante (**Leroux**, 2007). Plusieurs fongicides appartenant à différentes classes chimiques sont actuellement

disponibles pour la gestion de la pourriture grise, principalement des benzimidazoles et des Dicarboximides et le triazole pour la fusariose (**Hamoir et** *al*, 2001).

On observe des résistances à la majorité des familles de fongicides utilisées contre *B. cinerea* (Couderchet, 2003; Leroux, 2004). L'apparition de résistance dans les populations de champignons (Hmouni etal., 2003), le coût élevé des fongicides, leurs effets sur l'environnement et leur incompatibilité avec l'agriculture durable ont fait que leur utilisation est devenue de plus en plus interdite et l'intérêt pour d'autres alternatives a ainsi augmenté (Mouria et al., 2013).

# III.3.Lutte génétique

Elle consiste à introduire des gènes de résistance au niveau des plantes appelées plantes transgénique. Ces sont responsables de la synthèse de protéines capables d'éliminer le parasite (Smahi, 2008).

Cependant, cette technique fut inefficace car elle a été à l'origine de l'apparition de races plus virulentes (**Henni**,1998).

#### III.4.Lutte intégrée

C'est la combinaison de toutes les techniques précédentes afin de lutter contre les phytopathogènes pour une longue durée. Ces méthodes ne sont efficaces que si l'on a une meilleure connaissance des mécanismes qui sont à l'origine des interactions entre la plante et l'agent pathogène (Corbaz, 1990).

# III.5. Lutte biologique

La lutte biologique peut être définie comme étant l'utilisation d'organismes vivants pour supprimer un ravageur pathogène sans avoir des effets néfastes pour la plante. Ces agents naturels sont réunis sous le concept de biopesticides (**Lepoivre**, **2003**).

Le principe de la lutte biologique est basée sur l'exploitation par l'homme et à son profit d'une relation naturelle entre deux êtres vivants :

- La cible (de la protection) est un organisme indésirable, pathogène ou ravageur d'une plante cultivée, mauvaise herbe, etc. (Hamrouche et Kabouche, 2014).
- L'agent de protection (ou auxiliaire dans le cas des ravageurs) est un organisme différent, le plus souvent un parasite (ou parasitoïde), un prédateur ou un agent pathogène du premier, qui le tue à plus ou moins brève échéance, éventuellement en s'en nourrissant, ou tout au moins qui limite son développement (Hamrouch et Kabouche, 2014).

De nombreux travaux se sont intéressés à l'étude des agents de lutte biologique pour surmonter les problèmes de résistance associés aux fongicides, un grande nombre de

bactéries et champignon antagonistes de *B.cinerea* ont ainsi été mis en évidence mais les résultats les plus établis ont été obtenus avec des *Trichoderma spp* (Caron etal.,2002; Bardin et al., 2008).

Parmi les microorganismes expérimentés avec succès, à l'égard des maladies d'origine tellurique, les *Pseudomonas spp fluorescents* et les *fusarium* non pathogène qui occupent une place de choix (**Armstrong**, 1981 ; **Rouxel** etal.,1979 ).

Aujourd'hui, il a été démontré que des souches de *F oxysporum* non pathogènes pour une espèce végétale peuvent entrer en compétition pour les nutriments ou la colonisation racinaire avec des souches de *F. oxysporum* pathogènes (**Alabouvette etal., 1998**). Ainsi, l'activité infectieuse des formes spéciales de *F. oxysporum* peut-être limitée par cette compétition.

# Chapitre III L'acide salicylique

#### I. L'acide salicylique

C'est un composé phénolique issu de la voie des phénylpropanoïdes, il est un constituant de l'aspirine (acide acétylsalicylique), en moindres quantités. Il est utilisé comme conservateur alimentaire et comme un antiseptique, s'il est ingéré en grandes quantités, il peut être toxique pour les êtres vivants, cette aspirine biologique interne à la plante déclencherait la production de protéines de défense capable de détruire les agresseurs. (Raskin et al.,1987). Il s'agit d'une sorte de réaction de défense «immunitaire» végétale. Les entreprises de l'agro-alimentaire cherchent à exploiter cette propriété en développant des produits à base d'acide salicylique capables de stimuler les défenses naturelles des plantes utilisées dans les exploitations agricoles (Hopkins, 2003). Selon le même auteur, l'acide salicylique est présent chez tous les végétaux mais ses plus fortes teneurs se rencontrent dans les tissus producteurs de chaleur et ceux qui sont l'objet d'attaques parasitaires. Il parait impliqué dans plusieurs processus physiologiques.

# I.1. Historique

L'acide salicylique est une molécule clé dans la signalisation des réactions de défense chez les plantes .Sa découverte en 1828 quand Johann Buchner a isolé, à partir de l'écorce de saule, le glucoside d'alcool salicylique. Le nom de l'acide salicylique (AS) a été donné par Raffaele Piria en 1838 et c'est en 1874 en Allemagne que la première production commerciale du AS synthétique a débutée, son dérivé l'acide acétylsalicylique a été introduit sous le nom commercial d'aspirine en 1898.

Depuis la découverte en 1990 de la production de l'acide salicylique lors de l'établissement de la résistance systémique chez le concombre et le tabac, beaucoup d'efforts ont été déployés pour élucider le rôle de cette molécule dans cette résistance (Métraux et al., 1990 ; Malamy et al., 1990 ; Raskin, 1992 ; Delaney et al., 1994). Chez le tabac, il a été montré que les mêmes gènes activés dans la réaction de défense contre le virus de la mosaïque de tabac (TMV) sont exprimés par application du AS (Ward et al., 1991). Par la suite, l'acide salicylique a été reconnu comme molécule de signalisation dans la défense des plantes contre divers agents pathogènes (Enyedi et al., 1992 ; Gaffney et al., 1993).

# II. Importance et rôle de l'acide salicylique chez les plantes

L'ASa été identifié dans 36 plantes qui appartiennent à des groupes taxonomiques différents. Chez le riz, le soja et l'orge le niveau d'acide salicylique est d'environ 1 mg/g de matière fraiche. L'AS exerce un rôle dans des phénomènes physiologiques comme la photosynthèse, la floraison, la perméabilité de la membrane, la production de chaleur, la croissance et

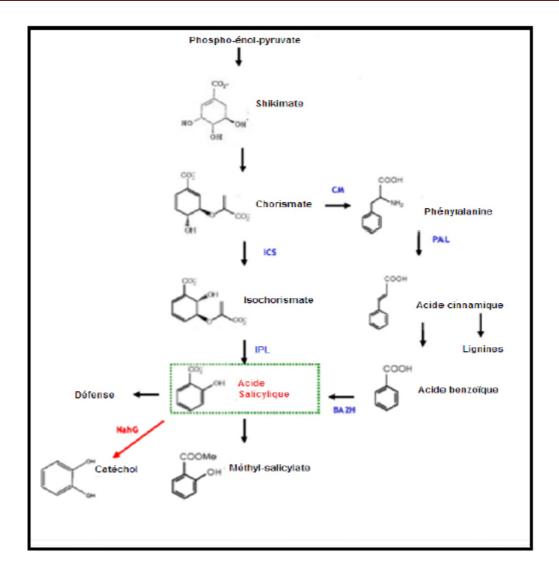
développement des plantes, et les interactions plantes – pathogènes (Hayat et al., 2007, Raskin, 1992).

L'accumulation de L'AS en réponse au stress implique à la fois sa biosynthèse et sa libération à partir de composés conjugués. La diminution d'AS libre suite au pic d'augmentation peut être due à la formation de 2-O-β-D-glucoside, la formation d'esters glucosides, la formation de méthyle salicylate volatile et la dégradation d'AS(Vasyukova et Ozeretskovskaya 2007). L'AS appliqué de manière exogène semble être transporté depuis les sites de son application initiale vers d'autres tissus de la plante pour y induire une réponse à distance (Raskin, 1992).

# III.Biosynthèse de l'acide salicylique

Chimiquement, l'AS appartient à un groupe de composés phénoliques qui possèdent un anneau aromatique et un groupe hydroxyle. C'est une petite molécule de 138,1g de poids moléculaire, peu soluble dans l'eau, soluble dans des solvants organiques. Deux voies de biosynthèse du AS ont été décrites (figure14). La voie des shikimate-phénylpropanoïds (Shah, 2003).

Elle commence par la conversion de la phénylalanine en acide trans-cinnamique par la PAL (phényalanine ammonialyase). L'acide trans-cinnamique donne l'AS après une chaîne de réactions produisant l'acide benzoïque qui en subissant une hydroxylation au niveau du carbone 2 donne l'acide salicylique (Nicole et al., 1998). Cette dernière étape est catalysée par la cytochrome P450 monooxygénase appelée aussi l'acide benzoïque hydroxylase (BA2H) dont l'activité est induite par l'application de l'acide benzoïque ou par les agents pathogènes (Leon et al., 1995). L'étape limitant de la production du AS est celle entre l'acide trans-cinnamique et l'acide benzoïque (Nicole et al., 1998). Le mécanisme de production de l'acide benzoïque à partir de l'acide trans-cinnamique est inconnu. Il pourrait s'agir d'une hydroxylation rappelant la \( \beta \) oxydation des acides gras. Cette suggestion est soutenue par des études faites (ICS) et l'isochorismate pyruvate lyase (IPL) (Vasyukova et Ozeretskovskaya, 2007).



**Figure 14.** Représentation simplifiée des voies de biosynthèse de l'acide salicylique (Lee et *al.*, 1995).

Les enzymes responsables des transformations sont indiquées en bleu. Les plantes NahG expriment le salicylate hydroxylase qui dégrade l'AS en catéchol. **ICS**, Isochorismate synthéase; **PAL**, phénylalanine ammonia-lyase; **BA2H**, l'acide benzoïque 2-hydroxylase; **IPL**, Isochorismate pyruvate lyase.

La première enzyme catalyse la conversion du chorismate en isochorismate, et la deuxième la conversion de ce dernier en AS. L'expression des gènes bactériens ICS et IPL dans des plantes de tabac et d'Arabidopsis a engendré une accumulation de AS et une amélioration de la résistance contre les agents pathogènes (Clerivet et al.,1996). Cette voie s'est aussi avérée active chez la Tomate (Clerivet et al.,1996).

# IV. Structure de l'acide salicylique

Dans la plante, l'acide salicylique se retrouve principalement dans les espaces intercellulaires sous une forme libre ou liée à un sucre hydrolysable (Hennig et al., 1993).

Cependant, un mutant sid2 (AS induction déficient) a été identifié, il a été montré que la voie de l'isochorismate est une source majeure de SA lors de la SAR chez A. thaliana: SID2 code une isochorismate synthéase, indispensable à l'accumulation de AS en réponse à un agent pathogène (Hennig et *al.*, 1993).

**Figure15.** Structure moléculaire de l'acide salicylique et de ses analogues Utilisés pour les études fonctionnelles (**Hennig et** *al.*, **1993**).

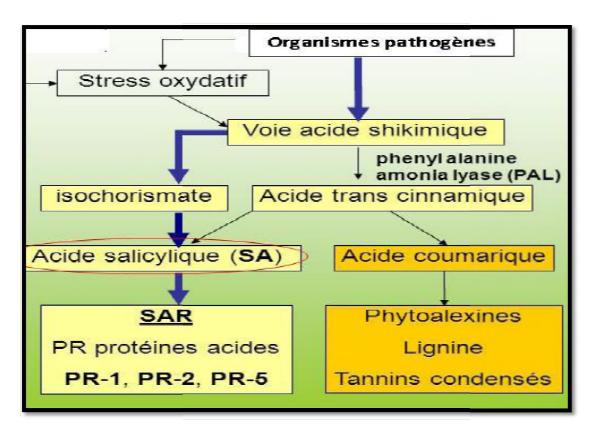
#### V. L'acide salicylique et la résistance aux pathogènes

Les interaction plante – agent pathogène, le AS peut être un activateur de défenses et ces concentrations endogènes peuvent augmenter considérablement (Yalpani et al.,1991; Malamy et al.,1990). Il permettant à la plante de résister aux bactéries, virus ou champignons microscopiques qui l'attaquent ; cette fonction a été mise en évidence chez la plante Voodoo (Arum lilies) (Raskin et al., 1987).

Le AS interviendrait aussi comme molécule de signalisation susceptible de migrer dans les vaisseaux de la plante, et conférer une immunité à distance aux tissus de la plante dans la SAR (Raskin, 1992, Chen et al., 1993), son niveau endogène augmente en réponse à une infection pathogène (50 à 70% prés du site d'infection, et 10 à 20% à distance du site d'infection (Métraux et al., 2002). Selon, (Mandal et al. 2009), le prétraitement racinaire ou foliaire avec l'AS chez la tomate avant l'inoculation avec F. oxysporum f.sp. lycopersici

(FOL) induisait les gènes codant la phénylalanine ammonia lyase et la peroxydase 5.9 et 4.7 fois plus que chez les plantes témoins. Il existe divers signaux systémiques qui vont donc déclencher la S.A.R, ces messagers sont *l'acide salicylique*, les *protéines PR*, *l'acide jasmonique*, Les *phytoalexines* et enfin *l'éthylène*.

En effet, ces molécules semblent jouer un rôle très important dans les processus de mise en place de la SAR, ce dernier entré s'exprimait au niveau de la plante. L'implication du AS dans l'immunité des plantes contre la pathogènècitè est liée à 3 fonctions (Vasyukova et Ozeretskovskaya, 2007): Le AS est impliqué dans la régulation de l'immunité induite de la plante. C'est une molécule mobile capable d'intervenir dans la chaine de perception, amplification et transmission de l'information quand une cellule de la plante est attaquée par un agent pathogène; ceci mène à l'expression de gènes de défense responsables de la protection structurale et fonctionnelle (Vasyukova et al., 1999).



**Figure16.**Schémas présentant le rôle de l'AS dans l'induction Systémique acquise (SAR).(Vasyukova et al., 1999).

L'AS est impliqué avec le peroxyde d'hydrogène, oxyde de nitrogène et d'autres composés dans la fonction de plusieurs systèmes signal, et les unifie vers un réseau d'interactions régulatrices. Les catalases, ascorbate peroxydases, aconitases et certaines MAP kinases (SIPK), sont considérés comme des récepteurs d'AS (Cao et al., 1994).

Il semble que le mécanisme d'action d'AS soit déterminé par sa capacité de lier des enzymes, ce qui mène à la formation de radicaux phénol impliqués dans la peroxydation des lipides. Les produits de la peroxydation de lipides pourraient activer l'expression de gènes de défense (Farmer *et al.*, 1998).

La capacité du AS d'inhiber l'activité de la catalase (enzyme qui détoxifie le peroxyde d'hydrogène) mène à une augmentation des taux de peroxyde d'hydrogène in vivo et induit un choc oxydatif aux sites de l'attaque par le pathogène ou du traitement avec un éliciter (**Chen et al., 1993**). Des similarités structurales entre SA et H2O2 sont à la base de la liaison et inhibition de la catalase par l'AS.

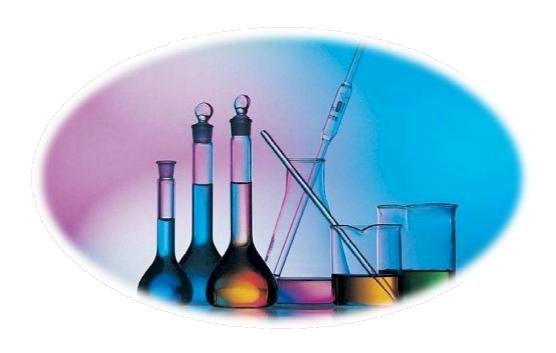
# VI. Mode d'action d'AS

Différents niveaux d'intervention d'AS ont été décrits (Vasyukova et Ozeretskovskaya, 2007) :

- L'AS active l'expression des gènes intervenant dans la défense des plantes (Vasyukova et al.,1999). Plusieurs PR protéines « pathogens related proteins » induites par le AS ont des activités antimicrobiennes, c'est le cas des chitinases et de la β 1-3 glucanase (Mauch et al.,1988). D'autres appartiennent à la famille des PR-1, elles ont une activité inhibitrice de la croissance mycélienne (Niderman et al., 1995).
- L'AS aussi la capacité de lier des enzymes comme les catalases, les ascorbates peroxydases et les aconitases (Cao et al, 1994).
- La capacité d'AS d'inhiber la catalase (enzyme qui détoxifie le peroxyde d'hydrogène) pourrait prolonger la demi vie de H2O2 et conduirait à l'amplification du stress oxydatif (burst oxydatif) à l'origine du déclenchement des réactions de la défense locale (**Chen et al., 1993**; **Levine et al., 1994**).
- L'AS interviendrait aussi comme molécule de signalisation susceptible de migrer dans les vaisseaux de la plante, et conférer une immunité à distance aux tissus de la plante dans la SAR (Raskin, 1992). Cependant, il a été rapporté que le AS ne serait pas le signal mobile de la SAR mais qu'il est nécessaire pour son établissement (Vernooij et al.,1994). D'autres molécules notamment l'acide jasmonique et l'éthylène interviendraient dans la signalisation aboutissant aux réactions de défense.

# Partie II Etude expérimental

# Chapitre I Matériel et Méthodes



#### I. Matériel utilisé

# I.1.Matériel végétal

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) est une espèce de plantes herbacées de la famille des Solanacées. Deux variétés de tomate industrielle sont utilisées dans notre expérimentation *Elgon* (hybride F1) et *Lesto* (hybride F1), dont quelques caractéristiques sont énumérées dans le tableau.

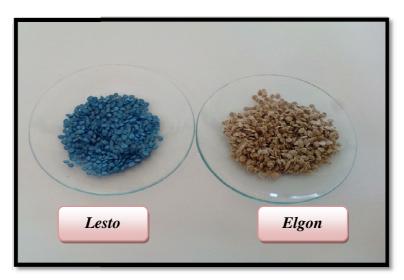


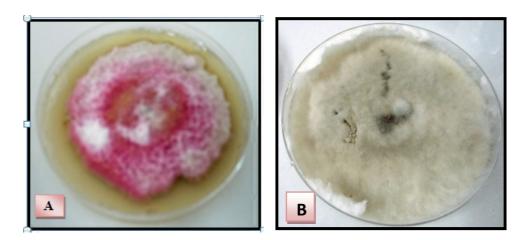
Figure 17. Les deux variétés de la tomate (Photo personnelle, 2019).

Tableau 08 . Caractéristiques des deux variétés de tomate utilisées

Cultivars	Caractéristiques
	Plante vigoureuse a croissance déterminée, Maturité précoce 70 jours,
Lesto	Très bonne fermeté, Très productive.
	Résistance: Verticillium, F1: Fusarium 1, F2: Fusarium 2, N:
	nématode.
Elgon	Variété rustique à croissance déterminé, graine sélectionnée et ligne
	Premium avec résistance au Fusarium, Verticillium et Stemphylium.

#### I.2. Agents phytopathogènes

Les isolats des champignons *Fusariumoxysporum.sp. lycopersici*et *Botrytis cinerea* utilisés dans cette étude ont été obtenus à partir des racines, des tiges, des feuilles et collet de tomate présentant des symptômes d'attaques qui était isolé au niveau de laboratoire de l'INRAA – Constantine 2018.



**Figure 18**. Aspect macroscopique (A) Fusarium oxysporumf.sp. lycopersici et (B) Botrytis cinerea.(Photo personnel, 2018).

#### I.3. le sol

Le sol utilisé dans notre expérimentation a été prélevé au niveau de centre universitaire Mila.

Le sol a subi un séchage et tamisage (5mm de diamètre) de façon à obtenir une granulométrie ni trop fine ni trop grosse.

#### I.4. Condition d'expérimentation

L'expérimentation a été réalisée au niveau de centre université de Mila durant l'année 2018/2019sous serre.

une désinfection de la semence a été réalisée selon la technique de Messiaen et al., (1991), elles sont désinfectées au préalable par un trempage dans l'alcool à 70% pendant 1min puis rincées abondamment à l'eau distillée stérile afin d'éliminer les restes de pesticides utilisés en traitement de semences (Benhamou et al., 1997), puis dans une solution de hypochlorite de sodium à 2% pendent 10 min, puis rincées quatre fois à l'eau distillée stérile et séchées par un papier filtre.

Elles sont déposées sur du papier filtre humide dans des boîtes de Pétri à raison de 8-10 graines/boîte. Ces dernières sont maintenues à l'étuve à la température de 25 °C pendant 7 jours car la germination.

Le semi a été réalisé dans les gobelets contenant de la tourbe désinfectée.

La transplantation des plantules est réalisée dans pots en plastique de 15.5 cm de hauteur et de 18 cm de diamètre et d'une contenance de 1.4 kg, et leur fond a été recouvert d'une couche de gravier de 1cm d'épaisseur, pour assurer un bon drainage. Ensuite les pots ont été remplis par le substrat (2/3

sol +1/3tourbe) et dans chaque pot on mettre une plantule avec un arrosage quotidien durant la période d'expérimentation.

# I.5. Dispositif expérimental

Le dispositif (Figure 19) de notre travail comprendra 72 plantes de deux variété de tomate infecté par deux maladies (*Fus.oxy.lyc* et *Bot.cinerea*) traité avec trois concentrations d'AS.

- > Trois concentrations déférentes phytohormone Acide salicylique (150, 200 et 250mg/l) avec trois répétitions.
- > Trois concentrations déférentes phytohormone Acide salicylique (150, 200 et 250mg/l) + deux agents phytopathogènes avec trois répétitions.
- > Trois répétitions deux agents phytopathogènes.
- > Trois répétitions de témoin.

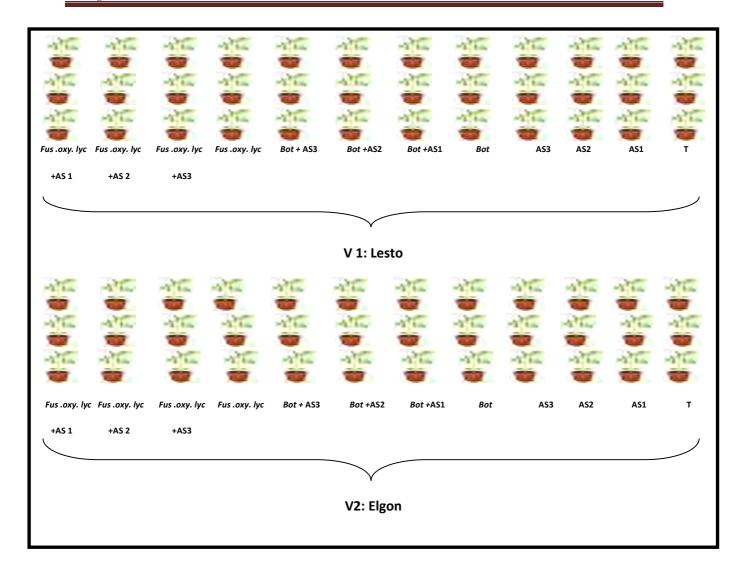


Figure 19. Le dispositif expérimental pour les deux variétés de tomate.

# I.6. Préparation de l'inoculum fongique

Inoculation technique utilisée par l'étude de l'effet de la maladie pour ce faire, on doit contaminer les plants de tomates utilisées à l'aide d'une solution contaminant de la maladie.

Après une culture monospore, *Fus.oxy.lyc*.et *B. cinerea* a été ensemencé sur un milieu PDA gélosé en boite de pétri et incubé à 25°C jusqu'au remplissage de la boite de Pétri (7 jours) les cultures obtenues sont raclées délicatement de manière aseptique en utilisant 5 ml de l'eau physiologique stérile.

Les suspensions de conidies ont été filtrées à travers une couche de papier filtre et ajustées par l'eau physiologique stérile, à une concentration de 2-3 x 10<sup>6</sup> spores / ml correspondant à une absorption de 0,15 à 0,17 lorsqu'un spectrophotomètre réglé à 530 nm était utilisé.une quantité de 20 ml a été appliquée dans chaque pot.

# I.7. Préparation de la solution d'acide salicylique

Nous avons préparé une solution standard d'acide salicylique à une concentration de 1g /l.En préparant la solution mère en dissolvant 1 g de poudre d'hormone végétale dans 1000 ml d'eau distillée En aussi peu que possible de NaOH et pris de lui certaines quantités 15,20 et 25 ml pour obtenir les concentrations suivantes 150 ,200 250 mg/l la concentration 0 mg/l utilisé comme témoin.



Figure 20.Les différentes concentrations de l'acide salicylique.

(Photo personnelle, 2019).

#### I.8. Paramètres physiologiques

# I.8.2.Dosage des pigments chlorophylliens

L'extraction et le dosage de chlorophylle ont été réalisés selon la méthode décrite par (Inskeep et Bloom,1985). Extraction des pigments chlorophylliens est effectuée dans l'acétone à 80%. 1g de matière fraîche, issue de chaque traitement, sont broyés dans 10 ml d'acétone 80%, avec une pincée de carbonate de magnésium et 5g de sulfate de sodium anhydre, Le broyat obtenu est ensuite filtré. Le dosage est effectué par 0,5 ml de filtrat avec 4,5 d'acétone 80%. Les mesures de DO sont faites au spectrophotomètre à longueurs d'ondes de l'ordre de 663nm pour la chlorophylle a et 645 nm pour la chlorophylle b.

La détermination des teneurs réalisée selon les formules :

Chl a (µg/g MF) = 12,7x DO (662) – 2,59x DO (645) x V/(1000x MF) .

Chl b  $(\mu g/g \text{ MF}) = 22, 9 \text{ x DO } (645) - 4, 68 \text{ x DO } (662) \text{ x V/ } (1000 \text{x MF}).$ 

Chl (a+b)  $(\mu g/g MF) = Chl a + Chl b$ .

44

MATERIAL SECTION AND ASSESSMENT OF THE PROPERTY OF THE PROPERT

V : volume solution extraite et MF la masse de matière fraîche de l'échantillon.

Figure 21 .dosage de chlorophylle (Photo personnelle, 2019).

# I.9.Paramètres biochimiques

# I.9.1. Extraction et dosage de la proline

L'extraction et le dosage de la proline ont été réalisés selon la méthode décrite par **Bates et** *al.* (1973). 100 mg d'échantillons foliaires et des racines issus de chaque traitement sont broyés dans 2 ml d'une solution de méthanol 40 % puis porter au bain marie 85 degré pendant une heure.

Le dosage de la proline est réalisé en ajoutant à 1 ml du d'extrait 1 ml d'acide acétique, 25mg ninhydride et 1ml de mélange (12ml d'eau distillé, 30ml d'acide acétique et 8 ml acide ortho phosphorique). Les tubes sont incubé pendant 30 min a 100 degré dans un bain-marie.4 ml de toluène sont ajoutés à chaque tube, puis la densité optique des tubes est lue à 528 nm.

La courbe d'étalonnage est obtenue grâce à un mélange (acide acétique, eau distillée, acide ortho phosphorique et ninhydrine), l'équation permettant l'obtention de la courbe d'étalonnage.

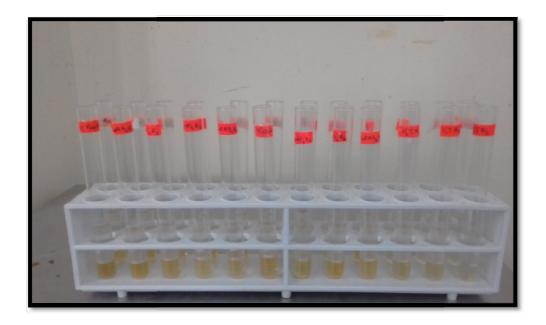


Figure 22. Dosage de proline (Photo personnelle, 2019).

#### I.9.2.Extraction et dosage des sucres soluble

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode de (**Dubois et al, 1956**).100mg de MF de tomate est mélangé à 3ml d'éthanol à 80%. On laisse le tout à une température ambiante pendant 48h, ensuite l'éthanol est évaporé à l'aide d'un bain marie à 60 °C, puis on ajoute 20ml d'eau distillée au résidu sec. Dans un tube à essai contenant 2 ml de l'extrait obtenu on met 4ml de réactif d'anthrone ensuite il est placé au bain marie à 62°C pendant 8min (la solution vire alors légèrement au bleu vert) après refroidissement dans un bain de glace le tube est mis au repos à l'obscurité pendant 30min, la lecture est faite au spectrophotomètre à 585 nm (**Mehdi et al, 2006**).

La quantification se fait d'après l'équation de la courbe d'étalonnage suivante : Y=ax+b (μg/g de MS). Qui fait du glucose un standard et les teneurs en sucres solubles sont exprimées finalement en g/100g MS. (Sassi et *al*, 2012).

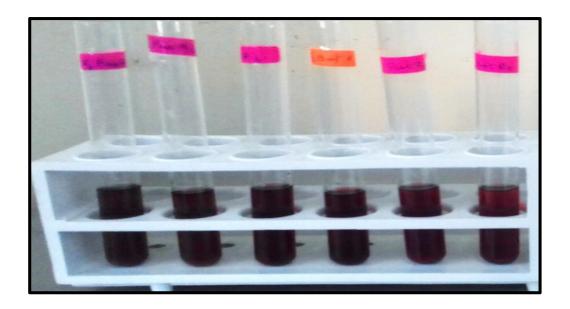


Figure 23. Dosage de sucre soluble (Photo personnelle, 2019).

# Chapitre II Résultats et discussion



Après sept jours de l'inoculation, les symptômes de la maladie sont apparus sur les feuilles des plantules inoculées (figure24).

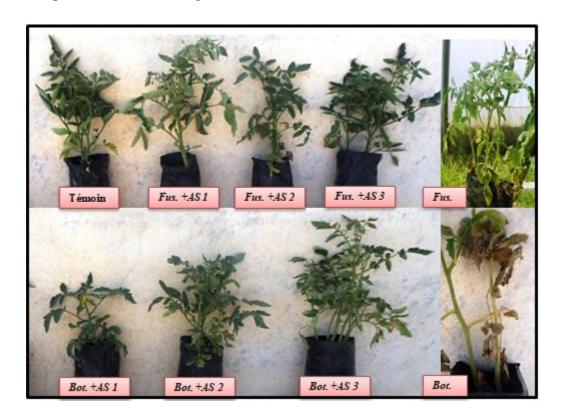


Figure 24 : Traitement avec différentes concentrations de l''acide salicylique contre les agents phytopathogénes(Photo personnelle, 2019).

Fus.: Fusarium.oxysporum .f.sp. lycopersici et Bot.: Botrytis Cinerea AS<sub>1</sub>: 150 mg/l, AS<sub>2</sub>: 200 mg/l et AS<sub>3</sub>: 250 mg/l).

Le comportement des deux variétés de tomate *Lesto* et *Elgon* vis-à-vis de l'infection par *Fus. oxy. lyc*, et *B. Cinerea*. Et traitée avec des différentes concentrations de AS (0 mg/l, 150 mg/l, 200 mg/l, 250 mg/l) est analysé par une étude physiologique (taux de chlorophylle, (a),(b) et total et biochimique (teneur en proline et sucres solubles). Ces paramètres ont été mesurés et quantifiés sur des feuilles saines et des feuilles infectées.

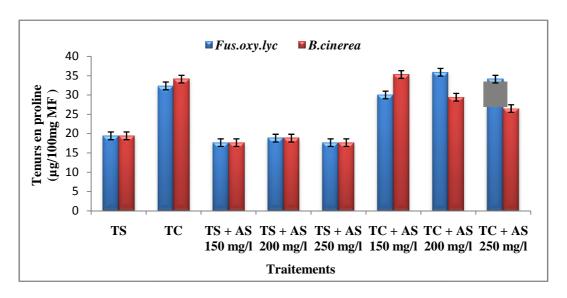
# I.1.Evolution des teneurs en proline (µg/100 mg MF)

# c. Chez la variété Lesto

Outre son rôle dans le métabolisme primaire en tant que constituant des protéines, la proline est l'un des solutés compatibles le plus fréquemment accumulé en réponse à des intensités au stress biotique et joue un rôle important dans la tolérance des plantes (Ben Rejeb et *al.*, 2012).

C'est pourquoi nous avons été amenés à doser les taux de proline chez les variétés de tomate à la suite de leur infection par la fusariose et pourriture gris et effet AS sur cette maladies. Les résultats de la figure (25) montrent que :

La forte accumulation de la tenure de proline influence de *Bot.Cinerea*.et*Fus .oxy. lyc*. (de 33.33 μg/100 mg MF chez le *Bot.cinerea*. Et de 29.33 μg/ 100 mg MF chez le *Fus .oxy. lyc* ) en comparaison avec les plante sain (22.66 μg/100 mg MF) ,néanmoins ces teneur ont été effectué variablement par conter une diminution sous l'effet des déférent concentration de l'acide salicylique (150 mg/l ,200 mg/l ,250 mg/l) sur les plantes non contaminé, tandis que en remarque la teneur de proline chez *Bot.cinerea*.(26.47 μg/150 mg) traité par l'acide au niveau de la concentration 250 mg /l est diminué par rapport à la plante contaminé non traité, au contraire chez le *Fus .oxy. lyc* de 30μg/100 mg/l MF au niveau AS = 150 mg/l.

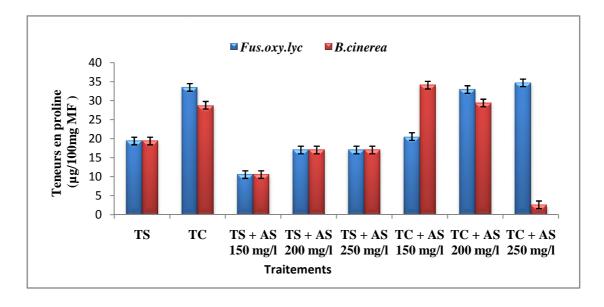


**Figure 25.** Évolution des teneurs en proline (μg/100 mg MF) chez la variété*Lesto* Contaminé par *Fus.oxy.lyc*et*B.cinerea*.

#### d. Chez la variété Elgon

Selon la figure(26). Chez les témoins le taux de proline était de 19.41  $\mu$ g / 100 mg de MF, mais il a augmenté chez les plantes non traitées et contaminés par le *Fus .oxy. lyc* à 33.52  $\mu$ g / 100 mg de MF et chez le *Bot.cinerea* de 28.82  $\mu$ g / 100 mg de MF. Le traitement à l'acide salicylique a entraîné une diminution de la proline chez les plantes non contaminées atteignent 10.58  $\mu$ g / 100 mg MF par rapport aux témoins.

Par ailleurs l'application des concentrations en acide salicylique et spécifiquement la concentration 250 mg/l chez les plantes contaminées par *Bot*. ont enregistrés une forte diminution la teneur en proline à 2.64  $\mu$ g /100 mg MF et 20.58  $\mu$ g /100 mg chez les plantes contaminées par le *Fus .oxy. lyc* au niveau de AS = 150 mg/l.



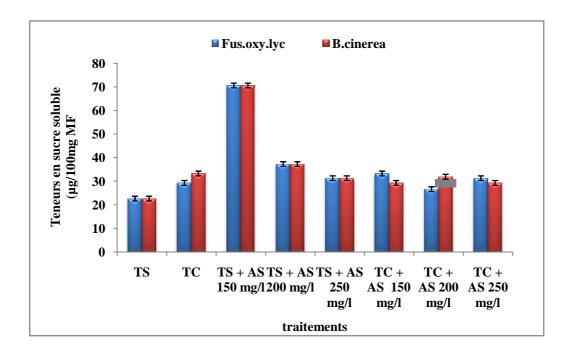
**Figure 26.** Evolution des teneurs en proline (μg/100 mg MF) chez la variété *Elgon* Contaminé par *Fus.oxy.lycetB.cinerea*.

# I.2. Evolution des teneurs en sucre soluble ( $\mu g / 100 \text{ mg MF}$ )

#### A. Chez la variété Lesto

Les résultats concernant l'effet de L'inoculation sur la teneur en sucres solubles des feuilles infectées et des feuilles saines sont exposés dans la figure (27). La figure montre II y a une accumulation considérable des sucres solubles chez les plantes saines traitées par l'AS = 150 mg /l estimé de  $70.66 \mu\text{g}$ / 100 mg MF.

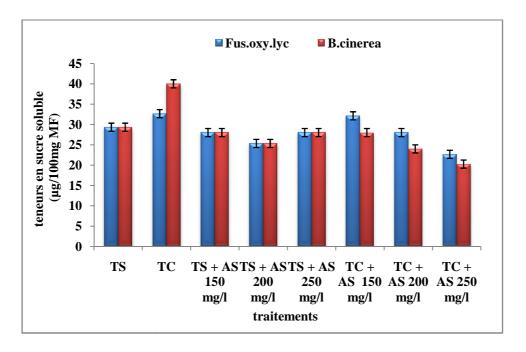
Les résultats indiquent également que la variété Lesto a réagi positivement à l'infection en accumulant les sucres solubles dans les plantes contaminées et traitées. Où la valeur de la proline atteint à 33.33µg /100 mg MF chez les plantes contaminées par Bot. et 29.33 µg /100 mg MF chez les plantes contaminées par Fus.oxy.lyc. Comparé au témoin de 22.66 µg /100 mg MF.



**Figure 27.** Evolution des teneurs en sucre soluble (μg/100 mg) MF chez la variété *Lesto* contaminée par *Fus.oxy. lyc et.B.cinerea*.

### e. Chez la variété Elgon

L'infection a provoqué pour les deux variétés une augmentation de la teneur en sucres solubles chez les plantes contaminées par *Bot.* cinerea de 40  $\mu$ g/100 mg MF et 32.66  $\mu$ g /100 mg MF chez les plantes contaminées par *Fus.oxy.lyc*. En comparaison avec les plantes saines considérées comme témoins (29.33  $\mu$ g /100 mg MF).Nous avons également enregistré une diminution légère de la valeur du proline chez les plante contaminées et les plante contaminées plus traitées à l'acide salicylique sauf les plantes contaminées par *Fus.oxy.lyc* et traitées à l'AS =150 mg /l nous avons enregistré une augmentation légère estimé de 32.13  $\mu$ g /100 mg MF.



**Figure28**. Evolution des teneurs en sucre soluble (μg/100 mg) MF chez la variété *Elgon* Contaminé par *Fus.oxy.lyc*et la *B.cinerea*.

## I.3. Influence de l'acide salicylique sur le taux de la chlorophylle chez les deux variétés contaminées par Fus.oxy.lyc.et B.cinerea

#### A. chez la variété Lesto

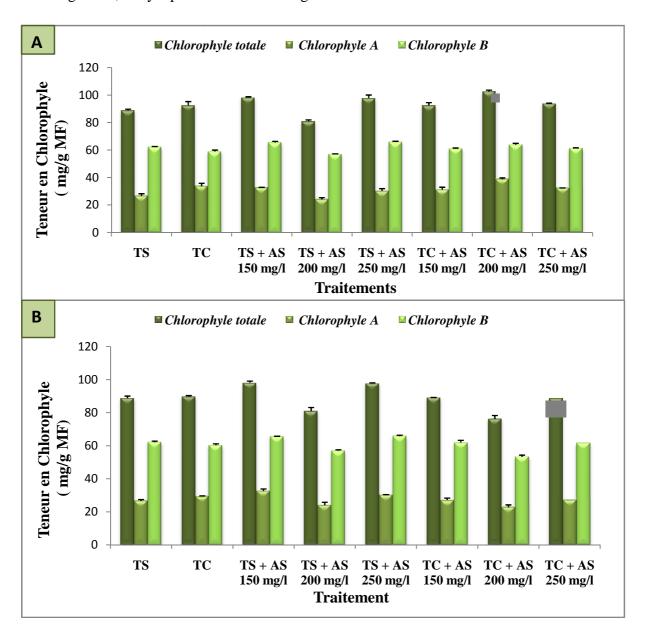
Les résultats obtenus (**Figure 29**) montrent qu'il y a une augmentation des niveaux de chlorophylle totale a été observée dans les plantes contaminés et traités avec acide salicylique où il a atteint la plus valeur estimé à 102,5 mg/g chez les plantes contaminés par de *Fus.oxy.lyc.* et traitement avec de l'acide salicylique = 200 mg/l par rapport les plantes contaminés de 83,83 mg/l. Tandis que les plantes saines traitées à l'acide salicylique = 150 mg/l atteint de 98,19 mg/l.

La valeur la plus élevée de chlorophylle a été trouvée chez des plantes saines traitées avec de l'acide salicylique = 150 mg / 1 de 98,19 mg / 1, suivie d'une concentration en AS = 250 mg / L de 97,868 mg / L par rapport aux plantes contaminées.

Les teneurs en CHlb sont plus élevées chez les plantes contaminées et traitées par l'acide salicylique surtout AS = 200 mg/l a atteint de 38,8mg/l par rapport le témoin de 26,713mg/l.

Tandis queles plantes contaminées par le *Bot*.cinerea la valeur la plus élevée de chlorophylle a été observée chez des plantes sains et traitées à l'acide salicylique = 150mg/l de 98,19 mg/l ensuit l'AS = 250mg/l de 97,868 mg/l comparativement avec les plantes contaminées de 89,78mg/l et le témoin de 88,838mg/l.

Mais en général, il n'y a pas de différences significatives entre les traitements.



**Figure 29.** Effet de l'acide salicylique sur la tenure de la chlorophylle (a, b,et totale) Contaminé par *Fus.oxy.lyc* (A) et*B.cinerea* (B) chez la variété *Lesto*.

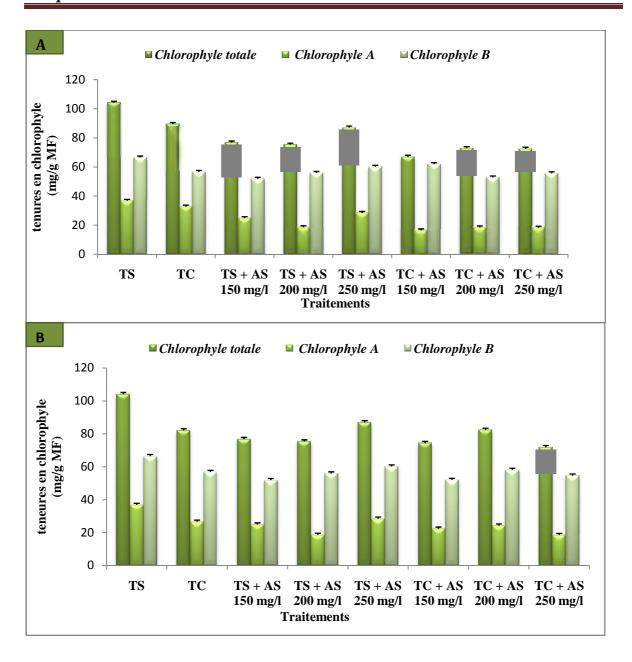
## G.chez la variété Elgon

Selon la figure(30) chez les plantes sain la tenure en chlorophylle totale atteint de 104.18 mg /g MF). Mais il diminué chez les plants sain traité et les plantes contaminé par *Bot. cinerea* et *Fus.oxy. lyc*, la valeur la plus diminuée est enregistré chez les plantes contaminé par *Bot* traité par l'AS = 150 mg/l (67.05 mg/g MF). Et chez les plants contaminés par *Fus.oxy. lyc* traité par l'AS = 250 mg/l est 71.92 mg/g MF.

Concernent la chlorophylle a la valeur la plus élevé été trouvé chez les plants sain estimé 36.86 mg/g MF est diminuent chez les plants contaminé par *Bot. cinerea* (32.85mg MF) et les plants contaminé par *Fus.oxy. lyc* (26.64 mg MF), La valeur la plus diminué chez les plants contaminé par *Bot* traité avec de l'AS = 150 mg/g de 16.52 mg MF. Comparativement avec les plantes contaminé par *Fus.oxy. lyc*traité à l'AS = 200 mg/l de 18.57 mg/g. et les plants sain traité avec de l'AS = 200 mg/l de 18.62 mg/g MF.

Pour la chlorophylle b chez les plants sain la valeur estimé 66.53 mg/g MF est diminuent chez les plants contaminé par *Bot. cinerea* (56.65 mg/g MF) et les plants contaminé par *Fus.oxy. lyc* (56.84 mg/g MF). la valeur la plus diminuent chez les plants sain traité par l'AS = 150 mg/l (51.92 mg/g MF). Tandis que chez les plants contaminé par *Bot. cinerea* le taux le plus diminué atteint de 52.85 mg/g MF à la concentration 200 mg de l'AS. Mais chez les plantes contaminée par *Fus.oxy. lyc* estimé 52.01 mg MF à la concentration 150 mg de l'AS.

Mais en général, il n'y a pas de différences significatives entre les traitements



**Figure 30.** Effet de l'acide salicylique sur la tenure de la chlorophylle (a, b et totale.) Contaminé par la *B.cinerea* (A) et *Fus.oxy.lyc* (B) la le chez la variété *Elgon*.

#### **Discussion**

Notre étude a été menée sur les deux variétés de la tomate *Lycopersicon esculentum* Mill (Elgon et *Lesto*) contaminé par *Fusarium oxysporum f.sp. Lycopersici* et *Botrytis cinerea* pendant 7 jours qui a été exposées à différents traitements de l'acide salicylique (0 mg/l .150 mg/l .200 mg/l .250 mg/l).

L'acide salicylique est considéré comme l'une des hormones végétales ( **Raskin**, **1992** ) qui jouent un rôle important dans la réduction des dommages causés par les pathogènes comme le champignon. De plus, l'AS est un facteur important provoquant la résistance acquise systémique (SAR) contre les différents agents pathogènes (**Nie**, **2006**).

Plusieurs études ont démontré que l'AS peut stimuler les résistances chez des plantes telles que pois chiche (Bassa et al., 2016) où ils ont montré que le traitement différent de (AS) était efficace dans la résistance *Fusarium oxysporum* et de réduire l'incidence de la maladie. Aussi chez l'Arabidopsis (Malamy et Klessing, 1992) et ceci parce que l'AS pourrait stimuler un groupe de gènes responsables des mécanismes de résistance chez les plantes (Staskawicz et al., 1995).

La synthèse de la chlorophylle diminue ou sa dégradation accélère, en causant la dégénérescence des chloroplastes en présence des agents pathogènes (**Huang**, 2005).

Nos résultats confirment ceux **El Tayb** (2005), **Yildirim et al** (2008), **Huang** (2005), ils ont signalé que l'application de forte doses de l'AS contribuent à l'augmentation de la photosynthèse et du taux de chlorophylle.

L'acide salicylique c'est le composants principale qui responsable de l'augmentation de la valeur de chlorophylle ne le laisse pas diminué même c'est la plantes stressé.

Le taux des sucres augmente considérablement chez les plantes soumises aux différents types de stress, cela a été vérifié par (Chungvang., 2001).

Nos résultats de la présente étude étaient une augmentation dans la teneur en sucres solubles chez les deux variétés de tomate en fonction de la concentration de l'AS.

Donc Les sucres solubles ont un double rôle chez les plantes, ils participent aux événements métaboliques et agissent comme signaux moléculaires pour la régulation des différents gènes, en particulier ceux qui sont impliqués dans la photosynthèse, le métabolisme du saccharose et de la synthèse d'osmolyte (**Rosa** *et al.*, **2009**).

D'après Waldren *et al.* (1974) ont montré que la proline ne s'accumule, de manière significative, que lorsque les plantes sont sévèrement stressées (**Ouinten**, 1989). Il est établi que la proline est certainement un des osmolyte son accumulation chez les plantes stressées a une fonction de protection (**Verbruggen**, **Hermans**, 2008).

Les résultats que nous avons obtenus montrent que les concentrations de l'AS provoquent une diminution des teneurs en proline chez la tomate.

Donc On peut dire que la variété *Lesto* est plus résistant aux maladies que la variété Elgon.

## Conclusion

La tomate est exposée aux attaques de plusieurs bioagresseurs qui peuvent diminuer la qualité et le rendement de cette culture. Les champignons constituent les principaux agents parmi ceux-ci *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* et *Botrytis cinerea*.

L'acide salicylique est un régulateur de croissance endogène. Lorsqu'il est appliqué à des plants de tomate en concentration similaire à celle utilisée dans le cas d'hormones exogènes, il provoque des effets protecteurs contre les maladies fongiques une ou plusieurs réactions biochimiques modifiant le métabolisme, les constituants et le comportement des plantes ou stimulent leur croissance.

Notre modeste travail portant sur l'étude la réponse de deux variétés de tomate contaminée par deux agents phytopathogène *Fus.oxy.lyc*. Responsable de flétrissement vasculaire et *Bot.cinerea* responsable de pourriture gris et déterminer l'effet les déférentes concentrations de l'acide salicylique (0 mg/l, 150 mg/l, 200 mg/l, 250 mg/l) sur les quelques paramètres physiologiques à savoir (chlorophylle a, b et total) et quelques paramètres biochimique (proline, sucres soluble).

Les paramètres étudiés (chlorophylles, proline et sucres soluble) ont montré une fluctuation des données.

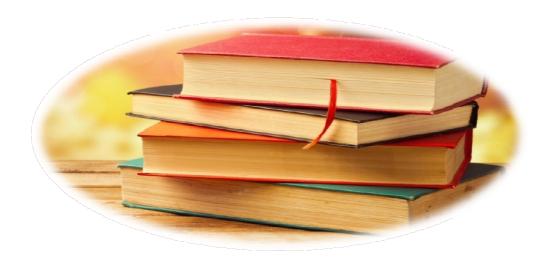
Teneurs en chlorophylles variable sous l'effet des maladies ; tolérance chez les plantes contaminées combinée à l'acide salicylique.

Les paramètres biochimiques mesurés traduisent également une tolérance au niveau des traitements:

\*La synthèse de la proline est améliorée sous les traitements associés à l'AS par rapport aux plantes de témoins et contaminées, et d'autre part, l'accumulation baisse en comparaison avec les plantes contaminées par les agents phytopathogénes.

\*L'accumulation des sucres solubles au niveau des feuilles de la plante semble agir à l'addition de l'acide salicylique dans le milieu de culture.

# Référence bibliographique



## A

- AFNOR (Association Française de Normalisation)., (1982). Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de Fruits, Ed, AFNOR, , 325-333p.
- **AFPP** − 3<sub>eme</sub> conférence sur l'entretien des espaces verts, jardins, gazons, forêts, zones aquatiques et autres zones non agricoles Toulouse − 15, 16 et 17 octobre 2013.
- Agrios, G.N., (2005). Plant pathology. Elsevier Academic Press, Oxford, UK. 922. p
- Aissat K, Nicot PC, Abdelhadi G, Bardin M et Chibane M., (2008). Grey mould developmental greenhouse tomatoes under drip and furrow irrigation. Agron. Sustain. Dev 28. 403-409p.
- Alabouvetee, c,Lemanceau,p.Steinberg,C.,(1993).la lutte biologique contre les maladies d'origine tellurique.phytoma ,paris.452.p.36-40p.
- Alabouvette c., Schippers b., Lemanceau p. & Bakker a. h. M., (1998). Biological control of fusarium wilts towards development of commercial products., in: BOLAND G. J., KUYKENDALL L. D. (Eds), Plant-Microbe interactions and biological control 15-36p.
- Alexander, L.J. and Tucker, C.M., (1945). Physiologic specialization in the tomato wilts fungus *Fusarium oxysporum f. Sp. Lycopersic*i. J. Agric. Res. 70:303-313pp.
- Andrés G. S., Accotto G. P., Navas-Castillo J., et Moriones E., (2007). Founder effect, plant host, and recombination shape the emergent population of begomoviruses that cause the tomato yellow leaf curl disease in the Mediterranean basin. *Virology*, 359: 302 312p.
- Armstrong G.M., Armstrong J.K.,(1981). Formae speciales and races of fusarium oxysporum causing wilt disease. In: Fusarium: diseases, Biology and Taxonomy. Pennsylvania State University Press, university Park, pennsylvania. 392.399p.

#### B

- Baayen R.P., Dreven F., Krijger M.C. and Waalwijk C.,(1997). Genetic diversity in *Fusarium oxysporum f.sp.dianthi* and *Fusarium redolens* f.*sp.dianthi*. European Journal of Plant Pathology 103, 395-408pp.

- Baptista F.J., Bailey B.J., Meneses J.F., (2012). Effect of nocturnal ventilation on the occurrence of *B. cinerea* in Mediterranean unheated tomato greenhouses. Cro Pro. 32:144-149p.
- Bardin, M., Fargues, J., and Nicot, P.C., (2008). Compatibility between biopesticides used to control grey mould, powdery mildew and whitefly on tomato. Biological Control 46:476-483pp.
- Barna B., Sarhan A.R.T. and Kiraly Z.,(1983). The influence of nitro gennutrition on the sensitivity of tomato plants to culture filtrates of Fusarium and to fusaric acid. Physiological Plant Pathology, 23.257263p.
- Bates LS, Waldren RP, Teare JD.,(1973). Rapid determination of proline for water stress studies. Plant Soil 39:205–207p.
- Benhamou N., Rey P., Cherif M., Hockenhull J. and Tirilly Y., (1997). Treatment with the mycoparasite Pythium oligandrum triggers induction of defence-related reactions in tomato roots when challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicislycopersici*. *Phytopathology*87:108–121p.
- Bezuidenhout, G.C.; Gelderblom, W.C.A.; GorstAllman, C.P.; Horak, R.M.;
   Marasas, W.F.O.; Spiteller, G. &Vlegaar, R.,(1988), Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from Fusarium moniliforme. J. Chem. Soc. Chem. Commum., com.1476:743-745p.
- **Blakeman, J.P.,(1975).** Germination of *Botrytis cinerea* conidia *in vitro* in relation to nutrient conditions on leaf surfaces. Transactions of the British Mycological Society 65: 239-247p.
- Blancard D.,(2009). Les maladies de la tomate : identifier, connaître, maîtriser. Versailles: Éditions Quae. 679 p.
- **Blancard, D., (1997).** Les maladies de la tomate. Edition INRA, Paris.212p.
- **Booth, C., (1971)**. The Genus fusarium Commonwealth Mycological .Institute Kew Surrey , England.237p.
- **Bost, S.C.,(2001)**. Frist report of *Fusarium oxysporum f. Sp. Lycopersic*i race 3 on tomato in Tennessee. Plant Dis. 85:802p.

- Bouharmont J.,(1994). Création variétale et amélioration des plantes. In Agronomie moderne: Bases physiologiques et agronomiques de la production végétale, AFESR, Hâtier. 119 152pp.
- **Bryon Florian.**,(2011). Caractérisation des populations de Botrytis cinerea issues de cultures de laitues et de tomates sous abris. 4p.
- Burgess LW.,(1981). General ecology of the Fusaria. In: Fusarium: disease, biology, and taxonomy (Nelson PE, Toussoun TA, Cook RJ, eds). Penn Univ Press. University Park, PA, USA. 225-235pp.

## C

- Canene-Adams, K., Campbell, J.K., Zaripheh, S., Jeffery, E.H., Erdman, J.W., (2005). The tomato as a functional food. Journal of Nutrition .135:1226–1230pp.
- Cao H., Bowling S.A., Gordon A.S. and Dong X.,(1994). Characterization of an Arabidopsis mutant that is nonresponsive to inducers of systemic acquired resistance. The PlantCell6. 1583-1592pp.
- Caron J., Laverdiere L., Pierre O., Thibodeau et Richard R.B.,(2002). Utilisation d'une souche indigène de *Trichoderma harzianum* contre cinq agents pathogènes chez le concombre et la tomate de serre au Québec. Phytoprotection.83 (2): 73-87p.
- Chaib G.,(1997). Teneur en proline des différents organes de blé dur . Essai d'explication de conditions d'accumulation sous manque d'eau. Mémoire en vue d'obtention du diplôme inter-universitaire en Biotechnologie végétales. Univ Constantine. 30 p.
- Chaux C.L. and Foury C.L. (1994). Cultures légumières et maraichères. Tome III légumineuses potagères. légumes fruit . Tec et Doc Lavoisier. Paris. 563p.
- Chellimi, D.O., Dankers, H.A. and Crosiser, B.,(1992). First report of *Fusarium oxysporum f. Sp. Lycopersic*i. race 3 on tomato in northwest Florida and Georgia. *Plant Dis*.76:861p.
- Cirad., (2002). Mémento de l'agronome. (ed). Quae. 1045-1046p.
- Clerivet A, Alami 1, Breton F, Garcia D et Sanier C.,(1996). Phenolic compounds and plant resistance to pathogenic microorganisms. Acta Bot. Gd. 143(6): 53-538p.
- Corbez R.,(1990). Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies de des plantes. Edition Presses polytechniques et universitaires romandes. Paris. 298 p.

- Cotte .,(2000). Etude de la valeur alimentaire des pulpes de tomate. Thèse Med .Vet.,lyon I,PP40-46 :64-67pp.
- Couderchet, M.,(2003). Benefits and problems of fungicide control of *Botrytis cinerea* in vineyards of Champagne. Vitis .42: 165-171pp.

### D

- Davis, R. M., Kimble, K.A., and Farrar, J.J., (1988). A third race of Fusarium oxysporum f. Sp. Lycopersici. identified in California. Plant Dis. 72:453p.
- Dean, L. G., Kendal, R. L., Schapiro, S. J., Thierry, B. & Laland, K. N., (2012). Identification of the social and cognitive processes underlying human cumulative culture. Science 335:1114–1118p.
- Delaney T.P., Uknes S.J., Vernooij B., Friedrich L., Weymann K., Negrotto D., Gaffney T., Gut R.M., Kessmann H., Ward E. and Ryals J., (1994). A central role of salicylic acid in plant disease resistance .1247-1250. 266pp.
- Dempsey, I., & Carruthers, A.,(1997). How family-centered are early intervention services:
   Staff and parent perceptions? Journal for Australian Research in Early Childhood Education.1:
   105–114p.
- **Dik A. J and Wubben J. P.,(2007)**. Epidemiology of *Botrytis cinerea* diseases in greenhouses.
- **Dore C. Varoquaux F.,(2006).** Histoire et amélioration de 50 plantes cultivées.Ed.Inra .711-727p.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Resers., smith F.,(1956).trimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical chemistry, volume 28 (3).350 356p.
- **Duhoux É., Nicole M. and Selosse M.A.,(2004).** Biologie végétale: associations et interactions chez les plantes premier cycle prépas. CAPES.

### $\mathbf{E}$

- Elad Y., Shtienberg D.,(1995).Botrytis cinerea in greenhouse vegetables: Chemical, cultural, physiological and biological controls and their integration, Integrated Pest Management Reviews 1:15-29p.
- Elad Y., Williamson B., Tudzynski P., Nafiz D., (2007). Botrytis: Biology, pathology and control. (Eds) Springer Science & Business Media. France. 428p.

- Elad, Y.,(1997). Effect of filtration of solar light on the production of conidia by field isolates of *Botrytis cinerea* and on several diseases of greenhouse-grown vegetables.
   Crop Protection.
- **Elmer, P.A.G., and Michailides, T.J.,(2004).** Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine cropsin *Botrytis* biology pathology and control. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Enyedi A.J., Yalpani N., Silverman P., Raskin I.,(1992).localization conjugation and function of salicylic acid in tobacco during the hypersensitive reaction to tobacco mosaic virus. Proc Natl Acad Sci.USA. 89: 2480–2484pp.
- **Esposito, E. et silva, M.,(1998).** Systematics and environmental application of genus *Trichoderma*. 1998. Crit. Rev. Microbiol. 24(2): 89-98pp.

F

- F.A.O., (2008). L'actualité agricole en Méditerranée. Ed. Ciheam. 33 p.
- **FAO.,(1988).**Culture protégées en climat méditerranéen .Etude FAO production végétale et protection des plantes. Edition FAO .318p.
- FAO. (2011). FAO Stat Database.
- Farmer, E.E., Weber, H., Vollenweider, S., (1998). Fatty acid signaling in Arabidopsis. *Planta*. 206: 167–174 pp.

G

- Gaffney T., Friedrich L., Vernooij B., Negrotto D., Nye G., Uknes S., Ward E., Kessmann H., et Ryals J.,(1993). Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. Science 261: 754-756p.
- Grasselly DB and Letard M., (2000). Tomate pour un produit de qualité EDCTIL. 222p.
- Grattideg, R., and O'Brien, R. G., (1982). Occurrence of a third race of Fusarium Wilt of tomatoes in Queensland. *Plant Dis.* 66:165-166pp.
- Gullino, M.L., (1992). Chemical control of *Botrytis* spp. in Recent advances in *Botrytis* research. K. Verhoeff, N. E. Malathrakis and B. Williamson, eds. Pudoc Scientific Publishers Wageningen, The Netherlands. 217-222pp.

H

- Hakim alilou.,(2012). Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : Asteriscus graveolens subsp. odorus (Schousb). Greuter et Asteriscus imbricatus (Cav). Thèse de doctorat es Sciences Biologiques de Université Ibn Zohr d'Agadir. 215p.
- Hamoir, J., GORET.M., and Gustin, P., (2001). Actualité sur les antifongiques enregistrés en Belgique dans le cadre du traitement des dermatophtoses. Med. Vet. 145:226-232p.
- Hamrouche A. and Kabouche M.B., (2014). Evaluation de l'effet de *Trichoderma sp* vis-à-vis de quelques pathogènes des Lentilles (*Lens culinaris*). Thèse de Master. Université Mentouri Constantine. Algérie.
- Hayat S., Ali B., Aiman Hasan S. and Ahmad A., (2007). Brassinosteroid enhanced the level of antioxidants under cadmium stress in *Brassica juncea*. Environ. Exp. Bot.60:33-41p.
- Heller r., Esnault.r., Lance., (1998). Physiologie Végétale. Tome 1 Nutrition. Paris. 323p.
- **Henni, J.E., (1998).** Morphologie, pouvoir pathogéne et deversité génétique chez fusarium *oxysporum f. sp. lycopersici*. thése de doctorat d'etat. université d'Oran. 171 p.
- Hmouni A., Oihabi L., Badoc A. and Douira A., (2003). Etude de la résistance de B. cinerea aux benzimidazoles, dicarboximides et dithiocarbamates dans les cultures abritées de tomatede la région du Gharb (Maroc). Bulletin Société de pharmacie de bordeaux. 142: 79-100pp.
- **Hopkin W.G.,(2003).**Physiologie végétale Traduction de la 2ed.americane par serge rambour révision scientifique de Charles.Marie Evradr Boeck.univ Bruxelles .445-460pp.
- **Ibrahim Ghaleb A. M.,(1990).s** Le cycle sexué de *Botrytinia fuckeliana* (De Bary) formeparfaite de *Botrytis cinerea* (Pers.). These de Doctorat de Biologie et Physiologie Végétale.Université de Lille1. Sciences et Technologies. France.239p.
- INRA, Avignon, France INRA .,(2010). Caractéristiques et importance de la tomate. 2-8p.
- **Inskeep, W.P., Bloom, P.R.,(1985).**Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N,N-dimethylformamide and 80% acetone. Plant Physiol. 77:483–485p.

J

- Jarvis W. R.,(1992).Managing Diseases in Greenhouse Crops.(Eds)
  AmericanPhytopathological Society. St Paul, MN, 288p.
- **Jarvis, W.R.,(1980)**. Epidemiology.inThe biology of *Botrytis*. J. R. Coley-Smith, K. Verhoeff and W. R. Jarvis, eds. Academic Press, London UK.219-50p.
- Jeannequin B. Dosba F. and Amiot-carlin M.J., (2005). Fruits et légumes caractéristiques et principaux enjeux. Collection « un point sur les filière ». INRA. Paris.
- Jones, J.P., Stall, R.E., and Zitter, T.A., (1991). Compendium of tomato diseases.

  American Psychopathological Society, St Paul. MN.15p.
- **Judd** *et al.*,(2002). Botanique Systématique Une Perspective Phylogénétique De Boeck Université.

## K

- Kalogiannis S., Tjamos S. E., Stergiou A., Antoniou P. P., Ziogas B. N., and Tjamos E. C., (2006). Selection and evaluation of phyllosphere yeasts as biocontrol agents against greymould of Tomato. European Journal of Plant Pathology.116. n° 1: 69–76pp.
- Katan T., Shlevin E. and Katan J., (1997). Sporulation of Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici on stem surface of tomato plants and aerial dissemination of inoculum. Phytopathology. 712–719pp.
- Kolev N., (1976). Les cultures maraichères en Algérie . Tome I . Légumes fruits . Ed.
   Ministre de l'Agriculture et des Reformes Agricoles. 52p.

### L

- Lafon R. et Bullit J.,(1970). Quelques aspects de la biologie du *Botrytis cinerea* Pers., agent de la pourriture grise des raisins. Connaissance de la Vigne et du Vin, vol 2.159-174pp.
- Laumonnier R., (1979). Culture légumière et maraîchère. Tome III. Ed. Bailliere et fils.
   Paris. 305p.
- Lee H.I., León J. and Raskin, I.,(1995). Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. Proceedings of the national academy of sciences, 92(10). 4076-4079pp.

- Lepoivre, P.,(2003). Phytopathologie bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. De Boeck Université. Bruxelles,. Belgium. 432p.
- Leroux, P.,(2004). Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides in *Botrytis* biology pathology and control. Y. Elad, B. Williamson, P.Tudzynski and N Delen, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht the Netherlands 195-222 P.
- **Leroux, P.,(2007).** Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides.in: *Botrytis*biology and control. Elad Y., Williamsson B., Tudzynski P. and Delen N. Ed. Springer Dordrecht the Netherlands, 402 p.
- Leroux, P., Chapeland, F., Desbrosses, D., and Gredt, M.,(1999). Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from french vineyards. Crop Protection.18: 687-697pp.
- **Leslie JF,Summerell BA.,(2006).**The *Fusarium* Laboratory manuel. Edition Blackwell lowa.388p.

## $\mathbf{M}$

- MADR.,(2009).Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.Direction des Statistiques.62p.
- Malamy J. and Klessing F.,(1992). Salicylic and plant disease resistance plant J.2:643-654pp.
- Mandal, S., Mallick, N., Mitra, A., (2009). Salicylic acid-induced resistance to Fusarium oxysporum f. sp.lycopersici in tomato. Plant Physiology and Biochemistry. 47:642p.
- Marlatt. M.L., Correll. J.C., Kaufmann. P., and Cooper. P. E.,(1996). Two genetically distinct populations of Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici races 2 and 3 of Lycopersicon pennellii. Aust. J. Agric. Res. 38:729-733pp.
- Martinez, F., Dubos, B., and Fermaud, M., (2005). The role of saprotrophy and virulence in the population dynamics of *Botrytis cinerea* in vineyards. Phytopathology .95: 692-700pp.
- Mauch F., Hadwiger L.A. and Boller T.,(1988). Antifungal hydrolases in pea tissue: I. Purification and characterization of two chitinases and two  $\beta$ -1, 3-glucanases

- differentially regulated during development and in response to fungal infection. *Plant Physiology*.87(2):325-333pp.
- Mc Grath D.J., Gillespie G. and Vawdrey L.,(1987). Inheritance of resistance to Fusarium oxysporum f. Sp. Lycopersici. race 2 and 3 of Lycopersicon pennellii. Aust. J.Agric. Res. 38:729-733pp.
- Melvin D. B., Bart P. H., Thomma J. and Berlin D. N.,(2006). Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. Molecular Plant Pathology Journal. vol 7, n° 1. 1-16pp.
- Messiaen C.M., Blancard D. and Rouxel F., (1991). Les maladies des plantes maraîchères, 3e
   éd. Editions Quae.
- Métraux JP, Signer H, Ryals J, Ward E, Wyss-Benz M, Gaudin J.,(1990). Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. Science. 250:1004-1006pp.
- Mouria B. Ouazzani-Touhami A. et Douira A.,(2013). Effet du compost de *Trichoderma harzianum* sur la suppression de la verticilliose de la tomate. Journal of Applied Biosciences, 70: 5531–5543pp.
- Munro B., Smmal E., (1997). Les légumes du Canada. Ed Val Morin, Québec.
- Miller N.Paganga G.,(1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science 2(4): 152-159pp.

### N

- Naika S., DE Jeude J.V.L., DE Goffau M., Hilmi m., Van dam B., (2005). La culture de la tomate production. transformation et commercialisation. 5ème édition. Fondation Agromisa et CTA, Wageningen. 105 p.
- Nelson PE, Tousson TA, Marasas WFO.,(1983). Fusarium species an illustrated manual for identification. Penn State Univ Press. University Park.PA.USA. 193 p.
- Nicole.M; Daniel.J.F; Bresson.E; Martinez.C; Elbachir.O; Lopez.F; AssigbEtsé.K; Fernandez.D; Montillet.J.L et Geiger.JP.,(1998). The hypersensitive reaction of cotton to *Xanthomonas campestris pv.malvacearum*. Recent Research Developments in Microbiology, 2: 641-654pp.
- Niderman T, Genetet I, Bruyère T, Gees R, Stinzi A, Legrand M, Fritig B, Mösinger E.,(1995).Pathogenesis-related PR-1 of proteins are antifungal.Isolation and

characterization of three 14 kilodalton proteins of tomato and of a basic PR-1 of tabacco with inhibitory activity against *Phytophthora infestans*. Plant Physiol. 108:17–27pp.

Nyabyenda P.,(2007). Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique Culture industrielles et d'exportation, culture fruitières.culture maraichères. Edition Presses Agronomique de Gembloux. Wageningen. Pays-Bas. 241p.

## 0

- O'Neill T. M., Shtienberg D. and Elad Y.,(1997). Effect of some host and microclimate factors on infection of tomato stems by *Botrytis cinerea*. Plant Disease. vol. 81, n° 1:36–40 pp.

## P

- Polese J.M.,(2007). La culture de la tomate. Ed Artémis .95p.
- **Prota**, acronyme de *Plant Resources of tropical Africa* (Ressources végétales de l'Afrique tropicale).

## R

- Raemaekers R.,(2001). Agriculture en Afrique tropicale. Direction Générale de la Coopération Internationale (D-2001/02/0218/1).
- Raskin I, Ehmann A, Melander WR, Meeuse BJD.,(1987). Salicylic acid a natural inducer of heat production in arum lilies. Science 237: 1601–1602pp.
- Raskin.,(1992).salicylate a new plant hormone .plant physiology .99:799-803pp.
- Renaud V., (2003). Les tomates qui ont du goût, Eugen Ulmer. Paris. Rice-Evans C.
- RMTE Licitra.,(2013).Projet de Réseau Mixte Technologique .Comprendre, développer et promouvoir au sein des filières végétales les stratégies de stimulation de défense des plantes. Affiliation au réseau ACTA .p1
- Rouxel F., Alabouvette C. and Louvet J., (1979). Recherches sur la résistance des sols aux maladies. mise en evidence du role des Fusarium autochthones dans la résistance d'un sol à la fusariose vasculaire du melon. Ann. Phtopathol. 70:412-417pp.

- **Schwinn F. J.**,(1992). Biological control of Botrytis-incited diseases and powdery mildewsin. Pestic. Outlook Journal, vol3. 18-28pp.
- Scott, T.,(1923). The influence of hydrogene ion concentration on the growth of fusarium lycopersici and tomate wilt. Missouri Agriculturai Experiment Sation Research. Bulletin. 64p.
- **Shah J.,(2003).** The salicylic acid loop in plant defense. Curr Opin Plant Biol, 6: 365-371pp.
- Shankara N., Van lidt de jeud J., de Goffau M., Hilmi M., Van Dam B. et Florijin. A., (2005). La culture de la tomate production transformation et commercialisation. 5 eme (ed). foundation agromisa et CTA.
- Smahi .,Asma.,(2008)Contrôle biologique de la fusariose vasculaire de la tomate causée par fusarium oxysporum f.sp.lycopersici,Université d'Oran département de biologie.1,17,28-30pp.
- Snoussi S. A.,(2010). Etude de base sur la tomate en Algérie. Rapport de mission Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche Orient. Rome. 52 p.
- **Snyder W.C and Hans H.N.**,(2003). Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici Prepared by Mui-Yun Wong. Soilborne Plant Pathogen Class Project Spring728p.
- Snyder W.C. and H.N. Hansen., (1940). The species concept in *fusarium*. *American Journal of Botany* 27: 64-67pp.
- **Stall R.E.,(1961).**Development of *Fusaruim wilt*. on resistant varieties of tomato caused by a strain different from race 1 isolates of *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici*. *Plant Dis. Rep.* 45:12-15pp.

## T

- Trottin-Caudal Y., Baffert V. Monnet Y. et Vileneuve F., (2011). Maitrise de la protection intégrée. Tomate sous serre et abris Edition Ctifl. Paris. 281p.

## $\mathbf{V}$

- Valenzuela-Ureta, J.C., Lawn, D.A., Heisey. R. F., and Zamudio-Guzman.V.,(1996).
  First report of Fusarium Wilt race 3 caused by Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici of tomato in Mexico. Plant Dis. 80:105p.
- Vasyukova N.I., Gerasimova N.G. and Ozeretskovskaya O.L.,(1999). The Role of Salicylic Acid in Plant Resistance to Diseases(Review). Applied biochemistry and microbiology.35(5):495-501pp.
- Vasyukova, N.I., Ozeretskovskaya, O.L., (2007). Induced Plant Resistance and Salicylic Acid A Revie w. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 43: 367–373pp.
- Vernooij B, Uknes S, Ward E, Ryals J.,(1994). Salicylic acid as a signal molecule in plant pathogen interactions. Curr Opinions Cell Biol .6:275–279pp.
- Verolet J-F., Raffin R., Jagu L. et Berry D.,(2001). Tomate sous grand tunnel froid. Fiche technique. 9p.
- Volin, R.B., and Jones, Jones, J.P., (1982). A new race of Fusarium wilt of tomato in Florida and source-s of resistance. Proc. Flo. State Hortic. Soc. 95:268-270pp.

### $\mathbf{W}$

- Walker A. S., (2013). Diversité et adaptation aux fongicides des populations de *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Parissud, Doctorale Sciences du vegetal. France. 170p.
- Walker. J.C.,(1971). Fusarium wilt of tomato. Monogr. 6. American phytopathological Society. St. Paul.MN.
- Ward, E.R., Uknes, S.J., Williams, S.C., Dincher, S.S., Wiederhold D.L., Alexer, D.C., Ahl-Goy, P., Métraux, J.P., Ryals, J.A., (1991). Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell.* 3:1085-1094p.
- Williamson B., Tudzynski B., Tudzynski P. et Van Kan JAL.,(2007). *Botrytis cinerea*. the cause of grey mould disease. Molecular Plant Pathology. 8: 561–580pp.
- Wolleneber H.W. and Reinking O.A.(1935). Die *Fusarium* ihre Beschreibung . Schadwirkun und Bekampfung. Berlin: Paul Parey.

## $\mathbf{Y}$

- Yalpani, N., Silverman, P., Wilson, T.M.A., Kleier, D.A., Raskin, I., (1991). Salicylic acid is a systemic signaland an inducer of pathogenesis-related proteins in virus-infected tobacco. *Plant Cell*, 3: 809-818pp.

## Z

 Zidani S.,(2009). Valorisation des pelures de la tomate séchée en vue de leur incorporation dans la margarine. Mémoire de Magister. Université M'hamedBougaraBoumerdes, Faculté des sciences de l'ingénieur.114p.

## Annexe

## Annexe I

Les compositions de milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) pH 5,6  $\pm$  0,2. Autoclavage120°C / 20min.

Composants	Quantités
Pomme de terre	200 g
D-Glucose	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

Annexe II : Les matériels utilisés

## \* Appareillages



L'étuve.

Agitateur magnétique



Bain - Marie



Spectrophotomètre.

#### Verrerie

- -Fioles, tubes à essais, entonnoirs, pipettes pasteur, bécher, spatule.
- -Burette graduée.
- -Boites de pétri.
- -Verres à montre.
- -Erlenmeyer.

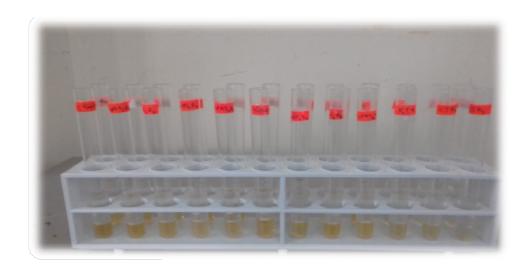
## Annexe III : les solvants utilisés

- -Ethanol.
- -Méthanol.
- -Acide sulfurique.
- -Phénol.
- -Acétone.
- -Méthanol.
- Acide acétique.

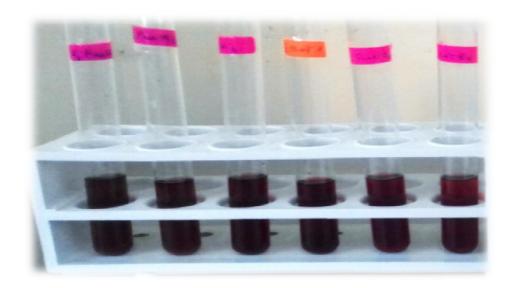
## **L**es paramètres physiologiques et biochimiques mesuré :



Dosage de chlorophylle (photo personnelle 2019)



Dosage de proline (photo personnelle 2019).



Dosage de sucre soluble (photo personnelle 2019)

## $\succ$ Evolution des teneurs en proline ( $\mu g/100$ mg MF) chez la varitié lesto

	Fus.oxy.lyc	B.cinerea
TS	0,33	0,33
TC	0,55	0,58
TS + AS 100 mg/l	0,3	0,3
TS + AS 150 mg/l	0,32	0,32
TS + AS 200 mg/l	0,3	0,3
TC + AS 100 mg/l	0,51	0,6
TC + AS 150 mg/l	0,61	0,5
TC + AS 200 mg/l	0,58	0,45

## $\succ$ Evolution des teneurs en proline ( $\mu g/100~mg$ MF) chez la varitié Elgon

	Fus.oxy.lyc	B.cinerea	
TS	19,41	19,41	
TC	33,52	28,82	
TS + AS 150 mg/l	10,58	10,58	
TS + AS 200 mg/l	17,05	17,05	
TS + AS 250 mg/l	17,05	17,05	
TC + AS 150 mg/l	20,58	34,11	
TC + AS 200 mg/l	32,94	29,41	
TC + AS 250 mg/l	34,7	2,64	

## $\succ$ Evolution des teneurs en sucre soluble ( $\mu g/100$ mg MF) chez la varitié Elgon

	Fus.oxy.lyc	B.cinerea
TS	29,33	29,33
TC	32,66	40
TS + AS 150 mg/l	28	28
TS + AS 200 mg/l	25,33	25,33
TS + AS 250 mg/l	28	28
TC + AS 150 mg/l	32,13	28
TC + AS 200 mg/l	28	24
TC + AS 250 mg/l	22,66	20,26

## > Evolution des teneurs en sucre soluble (μg/100 mg MF) chez la varitié Elgon

	Fus.oxy.lyc	B.cinerea
TS	29,33	29,33
TC	32,66	40
TS + AS 150 mg/l	28	28
TS + AS 200 mg/l	25,33	25,33
TS + AS 250 mg/l	28	28
TC + AS 150 mg/l	32,13	28
TC + AS 200 mg/l	28	24
TC + AS 250 mg/l	22,66	20,26

## > Effet de l'acide salicylique sur la Fus.oxy.lyc sur le taux de la chlorophylle chez la variété Lesto

	Chlorophylle totale	Chlorophylle A	Chlorophylle B
TS	88,838	26,713	62,21
TC	92,56	33,76	58,992
TS + AS 150  mg/l	98,19	32,67	65,58
TS + AS 200  mg/l	81,007	24,124	57,039
TS + AS 250  mg/l	97,868	30,24	65,89
TC + AS 150  mg/l	92,542	31,25	61,196
TC + AS 200 mg/l	102,606	38,8	63,911
TC + AS 250 mg/l	93,68	32,368	61,318

## > Effet de l'acide salicylique sur la B.cinerea sur le taux de la chlorophylle chez la variété Lesto

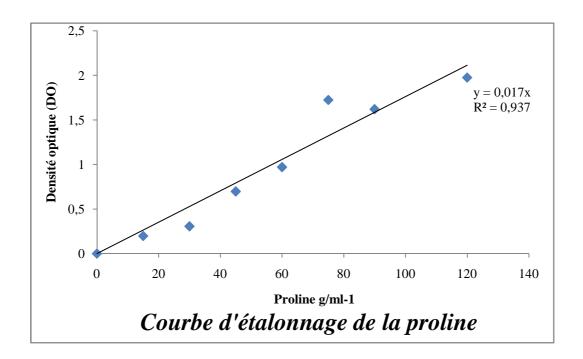
	Chlorophylle totale	Chlorophylle A	Chlorophylle B
TS	88,838	26,713	62,21
TC	89,7873333	29,417	60,37
TS + AS 150 mg/l	98,19	32,67	65,58
TS + AS 200 mg/l	81,007	24,124	57,039
TS + AS 250  mg/l	97,868	30,24	65,89
TC + AS 150 mg/l	89,139	27,172	61,967
TC + AS 200 mg/l	76,2596667	22,88	53,37
TC + AS 250 mg/l	88,769	27,13	61,63

## Annexe IV: Courbe d'étalonnage

#### 1. Courbe d'étalonnage de la proline

La courbe d'étalonnage est préparée par pesée 0,12g de proline ajusté à 100 ml de méthanol à 80%. Dans des tubes à essais préparer une gamme d'étalonnage allant de 15 à 120 µg.ml-1.

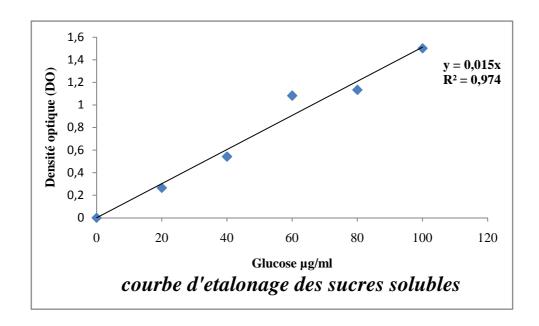
Tube	1	2	3	4	5	6	7	8
Concentration	0	15	30	45	60	75	90	120
μg.ml-1	0	0.197	0.306	0.698	0.971	1.725	1.621	1.976
Densité optique								



### 2. Courbe d'étalonnage des sucres soluble

La courbe d'étalonnage est préparée par pesée 0,01 g de glucose ajuster à 100 ml d'éthanol à 80%. Dans des tubes à essais préparer une gamme d'étalonnage allant de 20 à 100 µg.ml-1.

Tube	1	2	3	4	5	6
Concentration µg.ml-1	0	20	40	60	80	100
Densité optique	0	0,265	0,542	1,082	1,133	1,501



Année universitaire : 2018/2019 Présenté par : BELGHORZE Nihad

**MEDJRAB** Warda

Effet de l'acide salicylique sur quelques composantes physico-biochimique chez deux variétés de tomate contaminées par Fusaruim oxysperium f. sp. lycopersici et Botrytis cinerea.

#### Résumé

L'objectif de cette expérience, vise à comprendre l'effet de l'interaction entre les différentes concentrations de l'acide salicylique (0 mg/l, 150 mg/l, 200 mg/l, 250 mg/l) sous les deux variétés de tomate *Lesto* et *Elgon* contaminées par deux agents phytopathogènes : *Fus.oxy.lyc*. Responsable de flétrissement vasculaire et le *B. cinerea* responsable de pourriture gris.

Afin de déterminer leur tolérance aux stress biotique sous l'action de l'acide salicylique et pour élucider leur comportement physiologique nous avons analysé les paramètres physiologiques chlorophylle a, chlorophylle b et chlorophylle Total et les composants biochimiques (proline et les sucres soluble).

L'analyse de certains composés physiologique et biochimiques a montré une augmentation dans le taux de la chlorophylle, sucre et diminution le proline chez les plantes traitées par rapport aux plantes non traitées.

les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence le rôle physiologique de l'acide salicylique dans l'amélioration de ces composants en présence des champignons.

<u>Mots clés:</u> Tomate, Acide salicylique, Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici, Botrytis cinerea. Chlorophylle, Proline, Sucre soluble.

#### Jury d'évaluation:

Présidente : Mr. Yahia Abdelouahab (Professeur- Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila)

Examinateur : Mlle Bouassaba Karima (MAA- Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila)

Rapporteur: Mme Zaidi sara (MAA- Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila)

### Date de soutenance :

14/07/2019