



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie, Option : Biotechnologie des Mycètes : Fermentation et production
de substances fongiques

Intitulé :

Etude de l'activité de *Trichoderma sp.* Contre l'Alternariose de la tomate.

Présenté et soutenu par : *BOUTOUMOU Hadjer*

Le : 23/06/2016

BOUMAZA Meriem

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme. YUCEF Ali Mounia Dr. Univ. Des Frères Mentouri Constantine.1

Encadreur : Mr. DEHIMAT Laid Pr. Univ. Des Frères Mentouri Constantine.1

Examinatrice : Mlle. CHARFIA Radia M.A.B. Univ. Des Frères Mentouri Constantine.1

Tutrice : Melle. MILET Asma Dr. Univ. Des Frères Mentouri Constantine.1

*Année universitaire
2015 - 2016*

REMERCIEMENTS



On commence d'abord par remercier le bon Dieu, ne pas remercier les gens c'est ne pas remercier Dieu, de nous avoir donné assez de volonté et de santé pour terminer cette thèse.



*Nous tient particulièrement à exprimer nos sincères remerciements à notre encadreur **Mr DEHIMAT LAID**. Professeurs à l'université des frères Mentouri « Constantine 1 ». Merci pour votre aide, patience, compréhension, soutien et précieux conseils.*



*Nos profondes gratitude et nos vifs remerciements à notre tutrice et encadreur **M^{me} MILET ASMA** pour tout ce qu'elle a fait pour nous, pour ses conseils, sa disponibilité et son aide et l'attention particulière, qui a été un vrai exemple de gentillesse.*



*Nos vifs remerciements à **M^{me} YUCEFALI MOUNIA** Docteur à l'université frères Mentouri Constantine.1 qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider ce travail.*



*Nos vifs remerciements s'adressent aussi à **M^{lle} CHARFIA RADIA** qui a accepté d'examiner notre travail avec bienveillances et nous en sommes très honoré.*



*Nous adressons nos plus chaleureux remerciements à **M^{me} GHORRI SANA** pour ses conseils, sa compétence, sa patience, son enthousiasme, et son aide qui à été un vrai exemple de gentillesse et de tendresse.*



*Un grand merci à toute l'équipe du laboratoire de Mycologie, Biotechnologie et de l'Activité Antimicrobienne (**LAMYBAM**): **Dr. Bataich insaf, Dr .Benserradj ouafa, Anissa, Ahlem** et bien sûr notre sœur **Amina**.*



Grand merci à ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.



Vraiment nous vous remercions énormément, et que Dieu de vous protège, bénisse, et nous prions Dieu de vous donner la santé et le bien-être.

DÉDICACES



Je dédie ce présent travail en premier lieu aux êtres, les plus chers au monde : mes parents « Abd El Kader » et « Ser El Houda ». Quoi que je fasse je ne pourrais leur rendre ce qu'ils ont fait pour moi, si je suis arrivée là c'est bien grâce à eux que Dieu les bénisse, protège et leur accorde longue vie.

A mes chères sœurs « SALIMA, FADILA et F. ZOHRRA »

A mes chers frères.

A mes nièces et mes neveux.

A mon cher époux « MESSAOUD »

A ma deuxième maman « tante FATIMA ZOHRRA »

A mes beaux frères et mes belles sœurs.

A ma belle mère et mon beau père, et que Dieu les guérisse.

Et bien sur je dédie ce travail à ma copine et ma sœur

« MERJEM »

A toute ma famille et tous mes amis.



Je dédie ce modeste travail :

*A mes chers parents qui ont fait de moi ce que je
suis,*

A ma sœur « ROKAIA »

A mon frère « KHALED »

A tous mes cousins et cousines que j'aime,

A tous les membres de ma famille,

A tous mes amis.

Et sans oublier mes copines

« HADJER et MAROUA »



Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

1-Introduction.....	1
2- Revue bibliographique.....	3
2.1- Historique et origine de la tomate.....	3
2.2- Nomenclature et classification.....	4
2.3- Description botanique de la tomate.....	5
2. 4- Principales exigences écologiques et climatiques de la plante.....	7
2. 5- Culture de la tomate et modes de production.....	9
2. 6- Types de croissance et variétés de tomate.....	9
2. 7- Production mondiale de la tomate.....	10
2. 8- Maladies et ravageurs de la tomate.....	12
2.9- Alternariose de la tomate.....	14
2.9.1- Définition et présentation de la maladie.....	14
2.9.2- Dégâts de la maladie.....	15
2.9.3- Etude symptomatologique.....	16
2.10- <i>Alternaria sp</i>	17
2.10.1- Généralités sur les <i>Alternaria</i>	17
2.10.2- Classification et biologie des <i>Alternaria</i>	19
2.10.3- Les <i>Alternaria</i> pathogènes des solanacées.....	20
2.11- La lutte biologique.....	23

2.12- <i>Trichoderma</i>	24
2.12.1- Historique de taxonomie.....	24
2.12.2- Ecologie.....	27
2.12.3- Morphologie.....	27
2.12.4- Interaction <i>Trichoderma sp.</i> - agent pathogène.....	28
3- Matériel et méthodes	31
3.1- Échantillonnage et recherche de l'agent phytopathogène.....	31
3.2- Isolement de l'agent phytopathogène.....	31
3.2.1- Isolement à partir du sol.....	31
3.2.2- Isolement à partir de la tomate.....	32
3.3- Échantillonnage et recherche de l'agent antagoniste.....	33
3.4- Isolement de l'agent antagoniste.....	33
3.5- Repiquage et purification.....	33
3.6- Identification des souches.....	34
3.6.1- Etude macroscopique.....	34
3.6.2- Etude microscopique.....	34
3.7- Conservation des moisissures.....	34
3.8- Etude de l'activité antagoniste.....	34
3.8.1- Confrontation par contact direct.....	35
3.8.2- Confrontation à distance.....	35
3.8.3- Pourcentage d'inhibition de la croissance des moisissures.....	36
3.9- Test de phytopathogénicité.....	36
3.9.1- Sévérité de la maladie.....	37
3.9.2- Ré-isolement du parasite.....	37
4- Résultats	38
4.1- Isolement de l'agent phytopathogène.....	38
4.2- Identification morphologique de l'agent phytopathogène.....	39
4.2.1- Etude macroscopique.....	39

4.2.2- Etude microscopique.....	40
4.3- Isolement de l'agent antagoniste.....	42
4.4- Sélection de l'agent antagoniste.....	42
4.5- Identification de l'agent antagoniste.....	42
4.5.1- Examen macroscopique.....	42
4.5.2- Examen microscopique.....	43
4.6- Etude de l'activité antagoniste.....	44
4.6.1- Confrontation par contact direct.....	44
4.6.2- Confrontation à distance.....	50
4.7- Test de phytopathogénicité (Pstula de koch).....	53
5- Discussion.....	56
6- Conclusion et perspectives.....	61
7- Résumé.....	62
8-Abstract.....	63
9- ملخص.....	64
10- Références bibliographiques.....	65

Liste des tableaux

Tableau 1 Classification taxonomique de la tomate selon Catalogue of life (25 mars 2016).....	5
Tableau 2 Températures requises pour les différentes phases de développement d'un pied de tomate.....	8
Tableau 3 Production mondiale annuelle de tomates exprimée en tonnes (FAOSTAT, 2012).....	11
Tableau 4 Premiers producteurs de tomates en 2008 – 2010	11
Tableau 5 : classification taxonomique de l' <i>Alternaria</i> sp. Selon catalogue of life (25 mars 2016).....	19
Tableau 6 : la position taxonomique actuelle des <i>Trichoderma</i> sp. Selon catalogue of life (25 mars 2016).....	26
Tableau 7 Aspect microscopique d' <i>Alternaria</i> sp. A: <i>G X 40</i> , B: <i>G X 100</i>	40
Tableau 8 Variabilité du pouvoir pathogène des <i>Alternaria</i> (Alt 1, Alt 2, Alt M et Alt X) sur les plantules de la tomate.....	55

Liste des figures

Figure.1 : Diffusion de la tomate dans le monde (GALLAIS et BANNEROT , 1992).....	4
Figure 2 Branche de tomate: (a) tige, (b) stipule, (c) feuille composée, (d) fleurs, (e) tomate (baie).....	6
Figure 3 Cycle infectieux de l'Alternariose.....	15
Figure 4 : Symptômes sur feuilles.....	16
Figure 5 : Symptômes sur tiges.....	17
Figure 6 : Symptômes sur fruits.....	17
Figure 7 : Cycle épidémique d' <i>Alternaria</i> sp sur la plante de tomate (Agrios, 2005).....	18
Figure 8 : Lésions sur fruits de tomates commercialisées par <i>Alternaria tomatophila</i> (A) et par <i>A.solani</i> (B), <i>A.arborescens</i> et <i>A.alternata</i> (C).....	20
Figure 9 : Conidies et conidiophores de la souche <i>A.tomatophila</i> représentative E.G.S. 42165 (Simmons, 2007) CBS fungal diversity, 203-205. Bar = 50µm.....	21
Figure 10 : Conidies et conidiophores de la souche <i>A.solani</i> représentative E.G.S. 44098 (Simmons, 2007) CBS fungal diversity, 185-187. Bar =50µm.....	22
Figure 11 : Représentation des différents stades de développement des spores et conidiophores d' <i>Alternaria alternata</i> (Simmons, 1999 ; Taralova <i>et al.</i> , 2011).....	22
Figure 12 : Les cinq sections systématiques de <i>Trichoderma</i> sp. Et quelques-unes des espèces y appartenant, selon BISSETT (1991a et b). *Les espèces agrégées de Rifai (1969).....	26
Figure 13 : Schéma de branchement de conidiophores de <i>Trichoderma</i>	28
Figure 14 : Méthode de dilution.....	32
Figure 15 Fruits de la tomate présentant les symptômes de l'Alternariose.....	32
Figure 16 Confrontation entre l'agent phytopathogène et l'agent antagoniste par contacte direct sur milieu PDA.....	35
Figure 17 Confrontation à distance entre l'agent phytopathogène et l'agent antagoniste sur milieu PDA.....	36

Figure 18 Aspects morphologiques des colonies <i>Alternaria sp.</i> (Alt 1, Alt 2, Alt M et Alt X) cultivées sur milieu PDA (A, C, E et G: Recto, B, D, F et H: Verso).....	39
Figure 19 Aspect morphologique de <i>Trichoderma sp.</i> Cultivé sur milieu PDA (C: Recto, D: Verso).....	43
Figure 20 Aspect microscopique de l'agent antagoniste <i>Trichoderma sp.</i> (TrichS).....	44
Figure 21 Effet de <i>T.longibrachiatum</i> sur la croissance du mycélium d' <i>A.solani</i> (Alt 1), après le troisième, le cinquième et septième jour d'incubation sur (PDA). (A) interaction entre <i>T.longibrachiatum</i> et <i>A.solani</i> (Recto, Verso), (B) témoin d' <i>A.solani</i> , (C) témoin de <i>T.longibrachiatum</i>	45
Figure 22 Effet de <i>T.longibrachiatum</i> sur la croissance du mycélium d' <i>A.tenuissima</i> (Alt 2), après le troisième, le cinquième et septième jour d'incubation sur (PDA). (A) interaction entre <i>T.longibrachiatum</i> et <i>A.solani</i> (Recto, Verso), (B) témoin d' <i>A.tenuissima</i> , (C) témoin de <i>T.longibrachiatum</i>	45
Figure 23 Effet de <i>T.longibrachiatum</i> sur la croissance du mycélium d' <i>A.solani</i> (Alt M), après le troisième, le cinquième et septième jour d'incubation sur (PDA). (A) interaction entre <i>T.longibrachiatum</i> et <i>A.solani</i> (Recto, Verso), (B) témoin d' <i>A.solani</i> , (C) témoin de <i>T.longibrachiatum</i>	46
Figure 24 Effet de <i>T.longibrachiatum</i> sur la croissance du mycélium d' <i>A.solani</i> (Alt X), Après le troisième, le cinquième et septième jour d'incubation sur (PDA). (A) interaction entre <i>T.longibrachiatum</i> et <i>A.solani</i> (Recto, Verso), (B) témoin d' <i>A.solani</i> , (C) témoin de <i>T.longibrachiatum</i>	46
Figure 25 Inhibition de la croissance d' <i>A. solani</i> (Alt 1) par <i>T. longibrachiatum</i> pendant 10 jours d'incubation.....	47
Figure 26 Inhibition de la croissance d' <i>A. solani</i> (Alt M) par <i>T. longibrachiatum</i> pendant 10 jours d'incubation.....	47
Figure 27 Inhibition de la croissance d' <i>A. tenuissima</i> (Alt 2) par <i>T. longibrachiatum</i> pendant 10 jours d'incubation	48
Figure 28 Inhibition de la croissance d' <i>A. solani</i> (Alt X) par <i>T. longibrachiatum</i> pendant 10 jours d'incubation.....	48
Figure 29 Estimation des pourcentages d'inhibition des souches pathogènes par les souches antagonistes isolées.....	49

Figure 30 Observation microscopique de la zone de contact entre l'agent pathogène et l'agent antagoniste. (Y) Mycélium de <i>T. longibrachiatum</i> , (X) Mycélium d' <i>Alternaria</i> , (E) Enroulement, (Z, S et Q) lyse de Mycélium, (W) spore déformé.....	49
Figure 31 L'effet de <i>T.longibrachiatum</i> vis-à-vis Les quatre souches d' <i>Alternaria</i> (6 ^{ème} jour).....	50
Figure 32 Cinétique de développement de la souche pathogène <i>A.solani</i> Alt 1 sur milieu PDA pendant 10 jours, cultivé seul et avec l'agent antagoniste par confrontation à distance.....	51
Figure 33 Cinétique de développement de la souche pathogène <i>A.tenuissima</i> Alt 2 sur milieu PDA pendant 10 jours, cultivé seul et avec l'agent antagoniste par confrontation à distance.....	51
Figure 34 Cinétique de développement de la souche pathogène <i>A.solani</i> Alt M sur milieu PDA pendant 10 jours, cultivé seul et avec l'agent antagoniste par confrontation à distance.....	52
Figure 35 Cinétique de développement de la souche pathogène <i>A.solani</i> Alt X sur milieu PDA pendant 10 jours, cultivé seul et avec l'agent antagoniste par confrontation à distance.....	52
Figure 36 Estimation des pourcentages d'inhibition des souches pathogènes par les souches antagonistes.....	53
Figure 37 Les symptômes de la brûlure précoce d'Alternariose causés par l'agent phytopathogène <i>Alternaria sp</i>	54
Figure 38 Les feuilles saines de la plante (tomate).....	54

Liste des abreviations

%	pourcentage.
µL	microlitre.
Alt 1	<i>Alternaria solani</i> .
Alt M	<i>Alternaria solani</i> .
Alt X	<i>Alternaria solani</i> .
Alt1 2	<i>Alternaria tenuissima</i> .
°C	Degré Celsius.
cm	centimètre.
g	gramme.
G	Grossissement.
H°	Humidité.
he	hectare.
J	jour.
mg	milligramme.
ml	millilitre.
mm	millimètre.
Mt	Million de tonnes.
NaCl	Chlorure de sodium.
PDA	Potatoes Dextrose Agar.
pH	Potentiel hydrogène
Qx	Quintaux.
sp	Espèce
T°	Température.
TrichoS	<i>Trichoderma longibrachiatum</i> .



INTRODUCTION

1-Introduction

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) fait partie de la grande famille des solanacées aux côtés de la pomme de terre, de l'aubergine, du poivron et du piment. Considérée comme premier légume après la pomme de terre et deuxième ressource alimentaire mondiale après les céréales. Elle est adaptée à des conditions de culture très variées et destinée à la consommation en frais ou à la transformation industrielle (Causse *et al.*, 2000).

La production mondiale de tomates est de 120 Mt, dont un tiers en Asie, un tiers en Europe et un tiers en Amérique du Nord. Actuellement, 12 074 variétés de tomates ont été recensées de par le monde. Elle progresse régulièrement passant de 64 millions de tonnes en 1988 à plus de 100 millions aujourd'hui, dont 30 millions sont destinés à la transformation (Boubidi, 2015). La plante est cultivée sous serre et en plein champ, sur une superficie d'environ 3 millions d'hectares, ce qui présente près de 1/3 des surfaces mondiales consacrées aux légumes. La tomate a donné lieu au développement d'une importante industrie de transformation, pour la production de concentrés, de sauces, de jus et de conserves. Compte tenu de son importance économique, elle est l'objet de nombreuses recherches scientifiques servant comme plante modèle en génétique. Elle a donné naissance à la première variété génétiquement transformée autorisée à la consommation commercialisée aux États-Unis dans les années 1990 (Anonyme1, 2010).

La culture de la tomate occupe une place prépondérante dans l'économie agricole algérienne et près de 33 000 ha sont consacrés annuellement à sa culture (maraîchère et industrielle), donnant une production moyenne de 11 millions de quintaux et des rendements moyens d'environ 311 Qx/ha (Anonyme 2, 2009).

Le nombre d'agents pathogènes qui affectent la tomate est très élevé. Ce sont près de 200 maladies qui ont été décrites sur la tomate au niveau mondial. Pour ce qui est de la France et les pays des bassins méditerranéens, l'ouvrage de Blancard (1988) fait le point de la situation (Gallais et Bannerot, 1992).

L'*Alternariose* des *Solanacées* figure parmi les maladies fongiques les plus importantes de la tomate, au même rang que la *septoriose*. Ainsi, notre travail a été axé sur l'étude du champignon *Alternaria sp*, l'agent causal de cette maladie. Les plantes de la tomate sont sensibles à différentes espèces pathogènes d'*Alternaria* attaquant les feuilles, les tiges et les fruits (Simmons, 2000).

La lutte chimique utilisée actuellement est certes efficace sur un grand nombre de ce pathogène mais son utilisation répétitive et massive a induit notamment une pollution environnementale et l'apparition de souches pathogènes résistantes. Donc cette dernière a un effet néfaste pour l'homme et tous les êtres vivants.

La lutte biologique pourrait être une alternative à la lutte chimique. En plus d'être respectueuse de l'environnement, cette méthode a permis des pertes dues à plusieurs maladies foliaires. Elle consiste en l'utilisation d'organismes vivants pour limiter la pullulation et/ou la nocivité des divers ennemis des cultures (micro-organismes pathogènes des plantes, plantes adventices et envahissantes...ect). Certaines bactéries de la rhizosphère comme *Bacillus*, *Pseudomonase* et certains champignons comme *Trichoderma*, *Penicillium*,...etc. sont utilisé pour la lutte biologique.

De ce fait, l'objectif principal du présent travail consiste en la recherche de moisissures à partir du sol des régions arides et du sol de la rhizosphère des plantes et la sélection d'isolat de *Trichoderma* à effet antagoniste sur l'agent de l'Alternariose.

Pour ce faire, une synthèse des principales informations relatives à la tomate et à l'Alternariose, a été effectuée (revue bibliographique). La partie de l'étude expérimentale repose sur :

- ✓ L'isolement et la purification des moisissures phytopathgènes d'*Alternaria* et des moisissures antagonistes, puis la sélection des isolats de *Trichoderma* possédant une activité antifongique vis-à-vis *Alternaria*.
- ✓ L'identification des souches sélectionnées.
- ✓ Un test de pathogénicité des souches d'*Alternaria*.



REVUES
BIBLIOGRAPHIQUES

2- Revue bibliographique

2.1- Historique et origine de la tomate

La tomate du genre *Lycopersicon* est une plante cultivée dans le monde entier pour son fruit. Elle est originaire des régions Andines côtières du Nord-Ouest de l'Amérique du Sud, dans une zone allant du Sud de la Colombie au Nord du Chili et de la côte Pacifique, aux contreforts des Andes (Equateur, Pérou). C'est en effet seulement dans ces régions, qu'on a retrouvées des plantes spontanées de diverses espèces, de l'ancien genre *Lycopersicon*, notamment *Solanum lycopersicum ceraciforme* (la tomate cerise). Cette dernière est actuellement répandue dans toutes les régions tropicales du globe, mais il s'agit d'introduction récente.

Chaux et Foury (1994) à rappellent que le genre *Lycopersicon* comprend neuf espèces, dont une seule espèce *Lycopersicon esculentum* sous sa forme sauvage ceraciforme pourrait être directement à l'origine de nos variétés, a émigré vers le Sud de l'Amérique du Nord.

C'est au XVIème siècle au Mexique actuel que la tomate à gros fruits a été découverte et domestiquées (Figure 1). Les indigènes l'appelaient « Tomati », ce nom provient d'un nom Aztèque « Zitomate », où l'ont trouvé les Conquistadors Espagnols lors de la conquête de Tenochtitlan (Mexico) par Hernan Cortés en 1519 (Anonyme₁, 2011).

Elle fut introduite en Europe au XIV^{ème} siècle par les Espagnols avant même la pomme de terre et le tabac, où elle fut accueillie par les gens avec un engouement très gaulois, car ils pensaient qu'elle avait un pouvoir aphrodisiaque et l'appelèrent « Pomme d'Amour » (Anonyme, 2010).

Au début, les Européens l'exploitèrent pour un usage purement ornemental et évitèrent sa consommation, à cause des liens de parenté botanique très étroits avec certaines espèces végétales connues comme plantes vénéneuse, exemple *Hyocimus niger*, *Lycopersicum atropa* (Kolev, 1976). Selon Menard (2009), elle a été longtemps considérée comme une plante toxique, au même titre que sa cousine « la mortelle Belladone ». Ce n'est que vers les années 1920-1930 qu'elle commença à être largement commercialisée.

En Algérie, ce sont les cultivateurs du sud de l'Espagne (Tomateros), qui l'ont introduite étant donné les conditions qui lui sont propices. Sa consommation a commencée dans la région

d'Oran en 1905 puis, elle s'étendit vers le centre, notamment au littoral Algérois (Latigui, 1984).

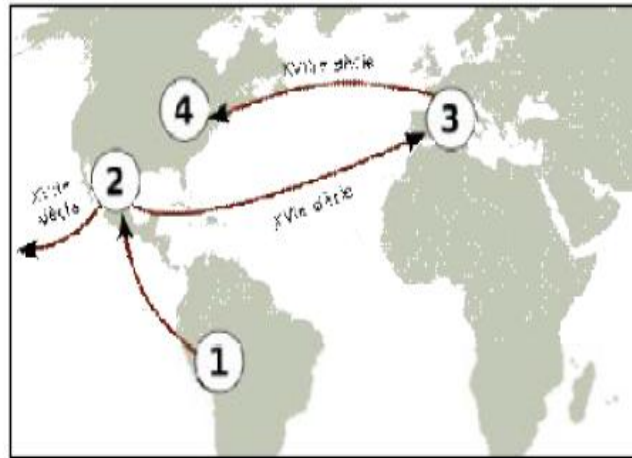


Figure1 Diffusion de la tomate dans le monde (Gallais et Bannerot, 1992).

- (1) Pérou : Centre de diversification.
- (2) Mexique : Premier centre de domestication.
- (3) Europe : Deuxième centre de domestication.
- (4) Etats Unis : Troisième centre de domestication.

2.2- Nomenclature et classification

En 1753, le botaniste Suédois Linnaeus l'a nommée *Solanum lycopersicum*, mais 15 ans plus tard Philippe Miller a remplacé le nom donné par Linnaeus, par *Lycopersicon esculentum* (Taylor, 1986). Bien les taxonomistes aient récemment réintroduits son nom original *Solanum lycopersicum* (Heiser et Anderson, 1999).

Le nom du genre *lycoperessicom* est un composite gréco-latin, il signifie «pêche de loup». Le nom *esculentum* vient du latin, il signifie «comestible». Cette comestible ne concerne ni le feuillage, ni les jeunes fruits verts, qui contiennent des alcaloïdes toxiques (tomatine, solanine). Ces alcaloïdes disparaissent des fruits au cours de leur développement (Pitrat et Foury, 2004). La classification scientifique de la tomate, Catalogue of life (25 mars 2016) est la suivante (Tableau1).

Tableau 1 Classification taxonomique de la tomate selon Catalogue of life (25 mars 2016).

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Tracheophyta</i>
Classe	<i>Mangoliopsida</i>
Ordre	<i>Solanales</i>
Famille	<i>Solanaceae</i>
Genre	<i>Solanum</i>
Espèce	<i>Solanum lycopersicum</i>

2.3- Description botanique de la tomate

La tomate est une plante herbacée annuelle, appartenant au groupe des légumes-fruits (Figure 2), est caractérisée par :

- **Racine**

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).

- **Tige**

Le port de croissance varie entre érigé et prostré. La tige pousse jusqu'à une longueur de 2 à 4 m. La tige est pleine, fortement poilue et glandulaire.

- **Feuillage**

Feuilles disposées en spirale, 15 à 50 cm de long et 10 à 30 cm de large. Les folioles sont ovées à oblongues, couvertes de poils glandulaires. L'inflorescence est une cyme formée de 6 à 12 fleurs. Le pétiole mesure entre 3 et 6 cm.

- **Fleurs**

Bisexuées, régulières et entre 1,5 et 2 cm de diamètre. Elles poussent opposées aux - ou entre les feuilles. Le tube du calice est court et velu, les sépales sont persistants. En général il y a 6 pétales qui peuvent atteindre une longueur de 1 cm, qui sont jaunes et courbées lorsqu'elles sont mûres. Il y a 6 étamines et les anthères ont une couleur jaune vif et entourent le style qui a une extrémité stérile allongée. L'ovaire est supère avec entre 2 et 9 carpelles. En général la plante est autogame, mais la fécondation croisée peut avoir lieu. Les abeilles et les bourdons sont les principaux pollinisateurs (Shankara, 2005).

- **Fruits**

Baie charnue, de forme globulaire ou aplatie avec un diamètre de 2 à 15 cm. Lorsqu'il n'est pas encore mûr, le fruit est vert et poilu. La couleur des fruits mûrs varie du jaune au rouge en passant par l'orange. En général les fruits sont ronds et réguliers ou côtelés.

- **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 (Gallais et Bannerot, 1992).



Figure 2 Branche de tomate: (a) tige, (b) stipule, (c) feuille composée, (d) fleurs, (e) tomate (baie).

2.4- Principales exigences écologiques et climatiques de la plante

La plante de la tomate est nécessaire aux exigences écologiques et climatiques et se sont comme suit:

- **Sol**

La tomate pousse bien sur la plupart des sols minéraux qui ont une bonne capacité de rétention de l'eau, une bonne aération et qui sont libres de sels. Elle préfère les terres limoneuses profondes et bien drainées.

- **pH**

La tomate tolère modérément un large intervalle de valeurs du pH (niveau d'acidité, mais pousse le mieux dans des sols où la valeur du pH varie entre 5,5 et 6,8 et où l'approvisionnement stimule une bonne croissance (Shankara, 2005).

- **Eau et humidité**

La plante ne tolère pas les sols engorgés ni l'humidité élevée (plus de 80%). Ce sont les deux facteurs qui la rendent plus vulnérable aux maladies. Il est essentiel de prévoir un apport d'eau suffisant pendant la fructification (Munro et Small, 1998). Le stress causé par une carence en eau et les longues périodes arides fait tomber les bourgeons et les fleurs et provoque le fendillement des fruits.

- **La température et la lumière**

La température optimale pour la plupart des variétés se situe entre 21 et 24 °C. Les plantes peuvent surmonter un certain intervalle de températures, mais en-dessous de 10 °C et au-dessus de 38 °C, les tissus des plantes seront endommagés (Sankara, 2005).

La tomate réagit aux variations de température qui ont lieu pendant le cycle de croissance (Tableau 2). Pour donner quelques exemples, cela affecte la germination des graines, la croissance des semis, la floraison, la mise à fruits ainsi que la qualité des fruits. Lorsque des périodes de froid ou de chaleur perdurent pendant la floraison, la production de pollen sera réduite. Ceci affectera la formation des fruits. Le gel tue les pieds de tomate pour éviter des dommages de gel, il est prudent d'attendre la fin de l'hiver avant de semer.

Tableau 2 Températures requises pour les différentes phases de développement d'un pied de tomate.

Phases	Température
Optimum pour la germination	26°C (17 et 20°C)
Minimum pour la germination	10°C
Maximum pour la germination	35°C
Optimum pour la croissance	21-24°C 22°C
Minimum pour la croissance	12°C
Maximum pour la croissance	30°C
Les racines ne poussent pas	<16°C
Minimum pour le développement des fruits	16°C
Maximum pour le développement des fruits	30°C
Fruits rugueux	<16°C
Optimum pour la fructification le jour	23°C
Optimum pour la fructification la nuit	17°C
Aucune fécondation	<13°C

La tomate est peu sensible au photopériodisme, mais est exigeante en énergie lumineuse. Un faible rayonnement lumineux réduit le nombre de fleurs par bouquet et affecte la fécondation (Cirad et Gret, 2002). En outre, l'intensité de la lumière affecte la couleur des feuilles, la mise à fruits et couleur des fruits.

- **Les éléments minéraux**

Véhiculés dans l'eau absorbée, l'absorption variée tout au long de la plante, on a deux périodes d'absorption accélérée l'une suite à l'apparition des boutons floraux, l'autre se situe au moment de l'anthèse, par ailleurs l'absorption est fortement influencée par un certain nombre de facteur du sol et du milieu (Anonyme, 1995; Hachemi, 1999).

2.5- Culture de la tomate et modes de production

Les deux principaux systèmes de culture sont:

- **La culture de plein champ**

Ce système de culture est le plus répandu. Si l'irrigation est disponible, les plantations peuvent être faites en saison sèche. Le mécanisme est souvent réduit à la préparation du sol (Cirad et Gret, 2002).

- **La culture sous abris**

Ce système de culture vise à produire les tomates tous au long de l'année. Il permet de développer des productions hydroponiques, supprimant ainsi certaines contraintes liées au sol (Cirad et Gret, 2002). La culture sous abri fournit aujourd'hui une part essentielle du marché de frais pour les légumes-fruits tels que la tomate (Jeannequin *et al.*, 2005). En ce qui concerne le mode de production, nous avons :

- la culture sous serre Tunnel (primeur)
- la culture sous serre multi chapelle (primeur)
- la culture de plein champ (saison)
- la culture de plein champ (arrière saison)

2.6- Types de croissance et variétés de tomate

Les variétés de tomate sont très nombreuses. A cet effet, ces dernières peuvent être classées selon leur croissance qui peut être du type indéterminé ou du type déterminé. Les variétés de tomate utilisées pour la production en frais sont principalement de type indéterminé. La plante ne cesse de croître en hauteur jusqu'à épuisement de toutes les réserves. L'intervention de l'agronome est parfois nécessaire pour limiter le nombre de bouquets floraux et ce dans le but de l'obtention de fruits de gros calibres. Il est recommandé de laisser deux feuilles au dessus du bouquet choisi et de pratiquer un étêtage afin de limiter la croissance des plantes. Parmi ce type de croissance, il existe: Les variétés fixées dont les caractéristiques génotypiques et phénotypiques se transmettent pour les générations descendantes où on peut citer les variétés les plus utilisées en Algérie telles que la Marmande et la Saint Pierre.

Les Hybrides qui du fait de l'effet hétérosis, présentent la faculté de réunir plusieurs caractères d'intérêt (bonne précocité, bonne qualité de résistance aux maladies et aux

attaques parasitaires et donc bon rendement). Ces hybrides ne peuvent être multipliés vu qu'ils perdent leurs caractéristiques dans les descendance. On peut citer 23 hybrides homologués qui sont: ACTANA, AGORA, AKRAM, ASSALA, BERBARINA, BOND, BOUCHRA, BOUDOUR, CARMELLO, CHOUROUK, DONJOSE, DOUCEN, KHALIDA, MONDIA, MORDJANE, NEDJMA, NISSMA, TAFNA, TAVIRA, TOUFAN, TYERNO, VERNON, ZAHRA.

Mais il est à noter que les hybrides suivants sont les plus utilisés en Algérie ACTANA, AGORA, BOND, NEDJMA, TAFNA, TAVIRA, TOUFAN, TYERNO et ZAHRA, dans le cas des variétés déterminées, il n'y a que deux feuilles entre les inflorescences. La croissance de la tige s'arrête avec l'apparition de l'inflorescence terminale et ce après avoir formé un certain nombre de bouquets variable selon les variétés (04 à 06 bouquets).

Pour ce type de croissance l'intervention de l'agronome reste sans intérêt puisque la croissance des plantes s'arrête toute seule après avoir formé une inflorescence au sommet de la tige. Pour ce type de croissance également, on retrouve des variétés fixées et des Hybrides.

Nous avons comme variété fixée: la variété AICHA. Tandis que les hybrides homologués, ils se résument comme suit: AMELY, ASSILA, BAHEYIA, CHENOUA, DOUKKALIA, EL KHAMAR, FAROUNA, GS12, HECTOR, HYMAR (SAHARA), JOKER, KARIMA, LAMANTINE, LUXOR, NOEMY, OUENZA, RED PRINCESS, SANTIAGO, SUPER RED, TOMALAND, TOP 48 , TOVER, SUZANA, ZIGANA, ZERALDA.

2.7- Production mondiale de la tomate

La production mondiale de tomates est de 120 Mt, dont un tiers en Asie, un tiers en Europe et un tiers en Amérique du Nord. Actuellement, 12 074 variétés de tomates ont été recensées de par le monde. Elle progresse régulièrement passant de 64 millions de tonnes en 1988 à plus de 100 millions aujourd'hui, dont 30 millions sont destinés à la transformation. Elle a augmenté de 35 % au cours des dix dernières années. Elle se répartit comme suit : l'Asie 45 %, l'Europe 22 %, l'Afrique 12 %, l'Amérique du Nord 11 %, l'Amérique du Sud et Centrale 8%. Le tableau (3) montre la progression régulière de cette culture.

Tableau 3 Production mondiale annuelle de tomates exprimée en tonnes (FAOSTAT, 2012)

Année	Production
2000	110,192,365
2001	107,977,756
2002	116,189,258
2003	119,082,962
2004	127,621,164
2005	127,979,138
2006	130,066,090
2007	137,153,333
2008	141,119,873
2009	153,833,368
2010	145,751,507

La grande productivité provient des perfectionnements techniques culturales employées. Les dix principaux pays producteurs de ce fruit en 2008 et 2009 sont indiqués dans le tableau (4). La quantité est évaluée en tonnes métriques.

Tableau 4 Premiers producteurs de tomates en 2008 – 2010

Pays	2008	2009	2010
Chine	39,938,708	45,365,543	41,879,684 (*)
Etats-Unis	12,735,100	14,181,300	12,902,000
Turquie	10,985,400	10,745,600	10,052,000
Inde	10,303,000	11,148,800	11,979,700
Egypte	9,204,100	10,278,500	8,544,990
Italie	5,976,910	6,878,160	6,024,800
République islamique d'Iran	4,826,400	5,887,710	5,256,110
Espagne	4,079,750	4,603,600	4,312,700
Brésil	3,867,660	4,310,480	3,691,320
Mexique	2,936,770	2,591,400	2,997,640

(*) Estimation, Source : FAOSTAT. (2012).

- **Situation économique de la production et du rendement de la tomate en Algérie**

La tomate en Algérie est en pleine expansion, à la faveur de nombreux programmes mis-en-place par le Ministère de l'Agriculture et le Développement Rural. Pour son développement de nouvelles techniques de production sont introduites ces dernières années permettant plus de rendement à l'hectare. En 2009, le rendement a été de 6,5 millions de quintaux de tomate. Les statistiques de l'année 2009 établie par le Ministre de l'Agriculture et le développement rural font état d'une superficie globale de tomate maraichère cultivée de 21 320 ha, dont 18 620 ha pour la tomate maraichère en plein champ et seulement 2 699 ha pour la tomate maraichère sous serre. Ce rendement de 6 459 904 quintaux, dont 4 460 371 quintaux pour la tomate maraichère cultivée en plein champ et 1 999 533 quintaux pour la production de tomate sous serre. Les wilayas potentielles pour la production de tomate sont Annaba, Skikda, El-Taref et Guelma.

2.8- Maladies et ravageurs de la tomate

Dés la levée et pratiquement jusqu'à récolte, les cultures de tomate sont sujet à des maladies ayant pour cause divers agents pathogènes et sont classée en cinq catégories (Moulay, 1986) :

- 1- Les attaques des ravageurs.
- 2- Les maladies bactériennes.
- 3- Les maladies virales.
- 4- Les maladies cryptogamiques.
- 5- Les maladies physiologiques.

Parmi ces maladies, on distingue qui sont parasites obligatoires et qui sont parasites facultatifs (Anonyme A, 1995).

Les champignons et les bactéries qui se développent dans les tissus de la plante attaquées sont les parasites, ceci signifie qu'ils se nourrissent et se multiplient aux dépend de la substance de leur hôte, d'ailleurs la plus part sont capables de se développer également sur matière organique.

Certains, au contraire sont des parasites obligatoires qu'il n'a pas encore été possible de cultiver sur des milieux non vivants (Anonyme A, 1995).

Ces plantes atteintes par un parasite présentent des troubles dans ces phénomènes vitaux (Anonyme A, 1995), ils sont désignés sous le nom de symptômes, ces derniers sont spécifiques d'une maladie comme il dépend de l'espèce ou de la plante hôte attaquée (Moulay, 1986).

Il faut qu'un certain nombre de facteurs soient favorables pour le développement de ces maladies (Anonyme A, 1995).

- 1- La plante doit être réceptive.
- 2- L'agent pathogène doit être virulent.
- 3- Un environnement favorable, T°, H°,... etc.

- **Les ravageurs**

Dans cette catégorie, on distingue plusieurs espèces qui attaquent la tomate, parmi les quelles: les noctuelles, les acariens, les nématodes, les pucerons.

- **Les virus**

La tomate peut souffrir d'attaques de grand nombre de virus qui ont été décrits dans le monde avec un ordre de sensibilité différent suivant les climats, les conditions de culture, les cultures sous serre seront les plus sensibles au virus transmis par insectes (Messiaen *et al.*, 1991).

➤ Les champignons de la tomate

Les études concernant les moisissures sont moins nombreuses, plus récentes, et se focalisent plus spécifiquement sur les moisissures responsable d'altération. De ce fait, l'objectif de notre travail consiste en l'étude de l'Alternariose pathogène de la tomate.

2.9- Alternariose de la tomate

2.9.1- Définition et présentation de la maladie

Parmi les maladies aériennes des *Solanacées*, l'Alternariose est certainement l'une des plus fréquentes et des plus répandues dans le monde (Rotem, 1994; Pryor *et al.*, 2000; Song *et al.*, 2011), elle est retrouvée sur tous les continents, partout où ces plantes sont cultivées. La présence de rosées dans les régions semi-arides permet son développement. Elle affecte surtout les cultures de plein champ, et parfois les abris froids. Elle est aussi très présente dans de nombreux jardins d'amateurs. Ses dégâts peuvent être conséquents si des conditions climatiques humides persistent et/ou si aucune méthode de protection n'est envisagée. Elle entraîne parfois des défoliations importantes à l'origine d'une réduction des rendements, mais aussi nombreuses lésions sur fruit liées aux effets du soleil sur ces derniers qui sont moins protégés par le feuillage (Blancard *et al.*, 2012). Sur les cultures de *Solanacées*, ces champignons provoquent une perte de rendement, des dommages aux fruits et légumes et par conséquent une perte économique pour l'agriculture (Snoussi, 2009). L'Alternariose est une maladie très présente en Algérie; elle affecte toutes les productions de plein champ et sous les tunnels plastique (serre), les conséquences de la défoliation sont graves, elles contribuent au ralentissement et à la diminution de la production voir même la perte de fruit (ITCMI, 2010).

Le terme précoce dans la brûlure précoce a été utilisé pour distinguer la brûlure tardive causée par *Phytophthora infestans* (Sherf et MacNab, 1986). La brûlure précoce est une maladie bien connue de la tomate et de la pomme de terre, elle apparaît plus tôt que la brûlure tardive aux Etats-Unis d'où le nom de la brûlure précoce. Toutefois, le nom induit en erreur, car la maladie attaque rarement les jeunes plantes en croissance et affecte souvent les plantes mûres et âgées montrant une perte de vigueur. La brûlure précoce peut affecter le feuillage, les tiges et dans des cas plus sévères, les fruits. C'est une maladie fongique qui affecte les cultures des *Solanacées* dans le monde entier (Batista *et al.*, 2006).

2.9.2- Dégâts de la maladie

Les pertes de rendement en hausse de 79% en raison des dégâts de la brûlure précoce ont été annoncées au Canada, Inde, Etats-Unis et au Nigeria (Basu, 1974b; Datar et Mayee, 1981; Sherf et MacNab, 1986; Gwary et Nahunnaro, 1998).

La brûlure précoce réduit les régions photosynthétiques et qui dans des cas graves peut défolier les plantes. Cette maladie débute sur les feuilles de la base et suivant les conditions de l'été, progresse rapidement vers le sommet (Bovey, 1972). Le rendement est réduit lorsque les plantes ne parviennent pas à fructifier (Glasscock, 1944). La figure (3) représente les étapes du cycle infectieux d'Alternariose.

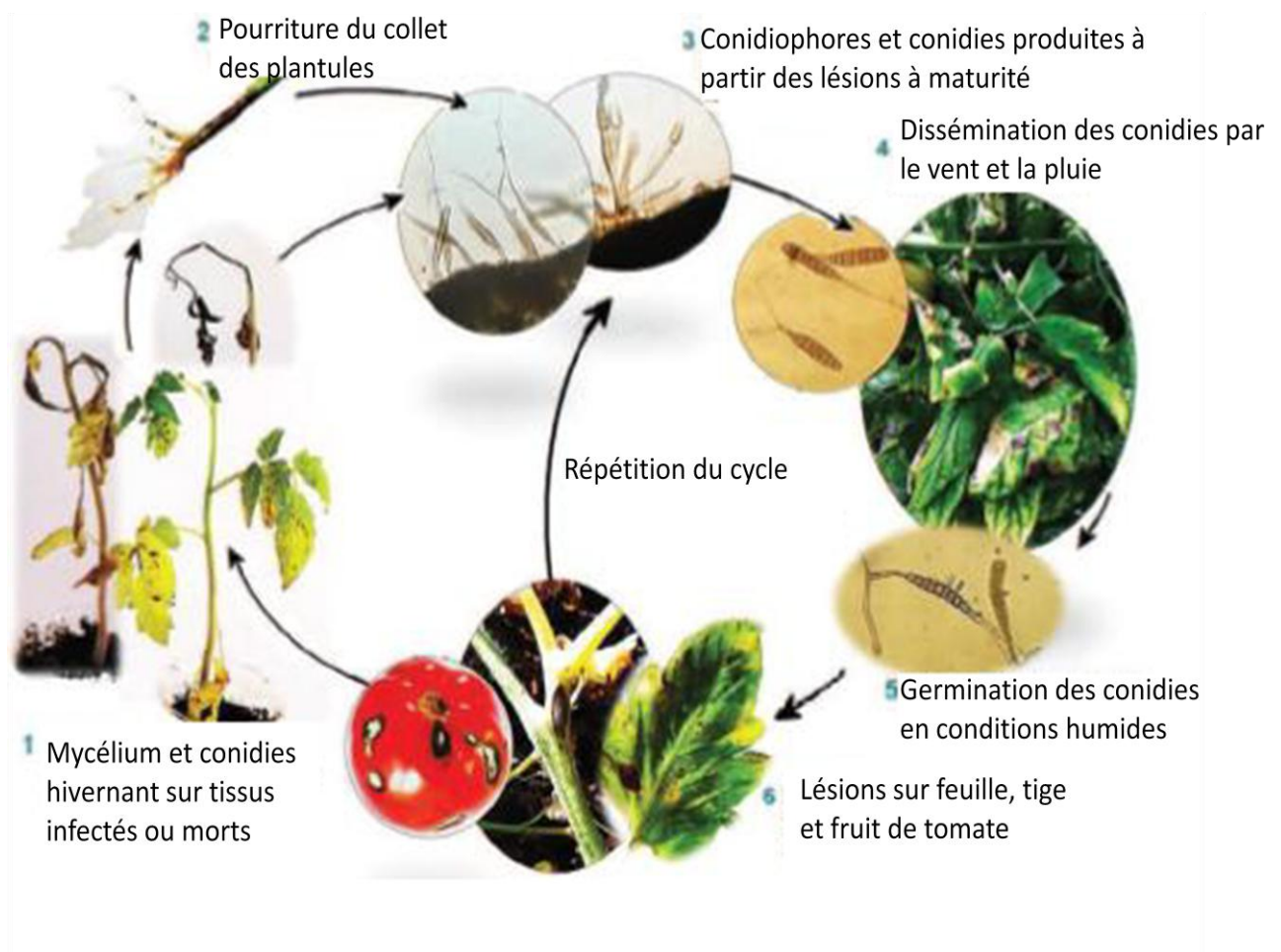


Figure 3 Cycle infectieux de l'Alternariose.

2.9.3- Etude symptomatologique

L'Alternariose s'attaque tous les organes aériens de la tomate et à tous les stades de croissances de la plante (Blancard, 2009).

• Symptômes sur feuilles

Les premiers symptômes de la brûlure précoce sont des lésions nécrotiques sombres et petites qui apparaissent généralement sur les feuilles les plus âgées et étendent vers le haut, et par conséquent les plantes deviennent vieilles (Figure 4) (Sherf et MacNab, 1986). Les feuilles sur les plantes infectées développent des taches marron foncé avec des anneaux concentriques.

Une zone jaune entoure les taches et les feuilles avec de nombreuses taches deviennent complètement jaunes. Les taches agrandissent rapidement et, finalement, la feuille entière meurt.

Les taches nécrotique marron foncé ont des anneaux concentriques dans lesquels de nouvelles spores sont produites et ces anneaux sont entourés d'un halo chlorotique cause par les toxines secrètes. Généralement, l'infection commence par les feuilles inférieures, qui deviennent jaunes ou brunes et penchent ensuite ou tombent. Si le climat est favorable, la maladie se développe rapidement, les taches se diffusent sur les feuilles et la plante devient défoliée (Watterson, 1986).



Figure 4 Symptômes sur feuilles.

• Symptômes sur tiges et branches

Sur la tige principale et les branches latérales des plantes adultes, le champignon cause de petites zones, sombres, qui agrandissent pour former des taches allongées marron foncé

(Figure 5), qui parfois montrent des anneaux concentriques comme ceux sur les feuilles. Ces taches sont dispersées le long de la tige et les branches (Walker, 1952).

Dans les anciens ouvrages, la pourriture du collet et la lésion sur la tige sont parfois mentionnées comme chancre de tige (Barksdale et Stoner, 1977), un terme qui est actuellement réservé à la maladie causée par *Alternaria alternata* (Sherf et MacNab, 1986).



Figure 5 Symptômes sur tiges.

• Symptômes sur fruits

Les taches sur le fruit se produisent d'abord à son forme de zones creuses avec des anneaux concentriques (Figure 6). De cette zone, le champignon se propage et éventuellement, la pourriture couvrir la moitié supérieure du fruit. La surface des tissus infectés du fruit est noir et couverte de spore d'*Alternaria solani*. L'infection du fruit se produit lorsque le fruit est vert ou mur (Glasscock, 1944; Jones *et al.*, 1997).



Figure 6 Symptômes sur fruits.

2.10- *Alternaria* sp.

2.10.1- Généralités sur les *Alternaria*

Les *Alternaria* sont des champignons fréquents dans notre environnement. Ils appartiennent aux moisissures atmosphériques. Ils peuvent être isolés de végétaux très divers. *Alternaria*

comprend près de 275 espèces (Simmons, 2007) avec des modes de vie saprophytes et phytopathogènes qui peuvent affecter les cultures sur champ ou produits végétaux pendant la récolte et post-récolte (Logrieco *et al.*, 2009). Autant que parasites de faiblesse, les *Alternaria* sont capable de mener une existence saprophytique pendant des périodes plus ou moins longues. Certains, tel qu'*A.chartarum*, *A.consortale*, *A.teruis*, etc., ont un habitat le plus souvent saprophytique et se rencontrent couramment sur des débris organiques ou les végétaux morts. Quelques espèces, comme *A.solani*, *A.dauci* et ses formes, *A.linicola*, *A.zinniae*, etc., vivent au contraire à l'état de parasites sur des plantes encore apparemment vigoureuses (Messiaen *et al.*, 1991). Ce sont des champignons mésophiles, leurs activités prédominantes disparaissent lorsque la température s'élève (Botton *et al.*, 1990).

Le stockage des graines contaminées peut favoriser l'accumulation de toxines surtout étudiées pour l'espèce *A.alternata*. Les *Alternaria* sont donc des champignons très communs et cosmopolites. Ils peuvent se retrouver sur des substrats très variés : plantes, sols, textiles, graines (Linás *et al.*, 1999) (Figure 7).

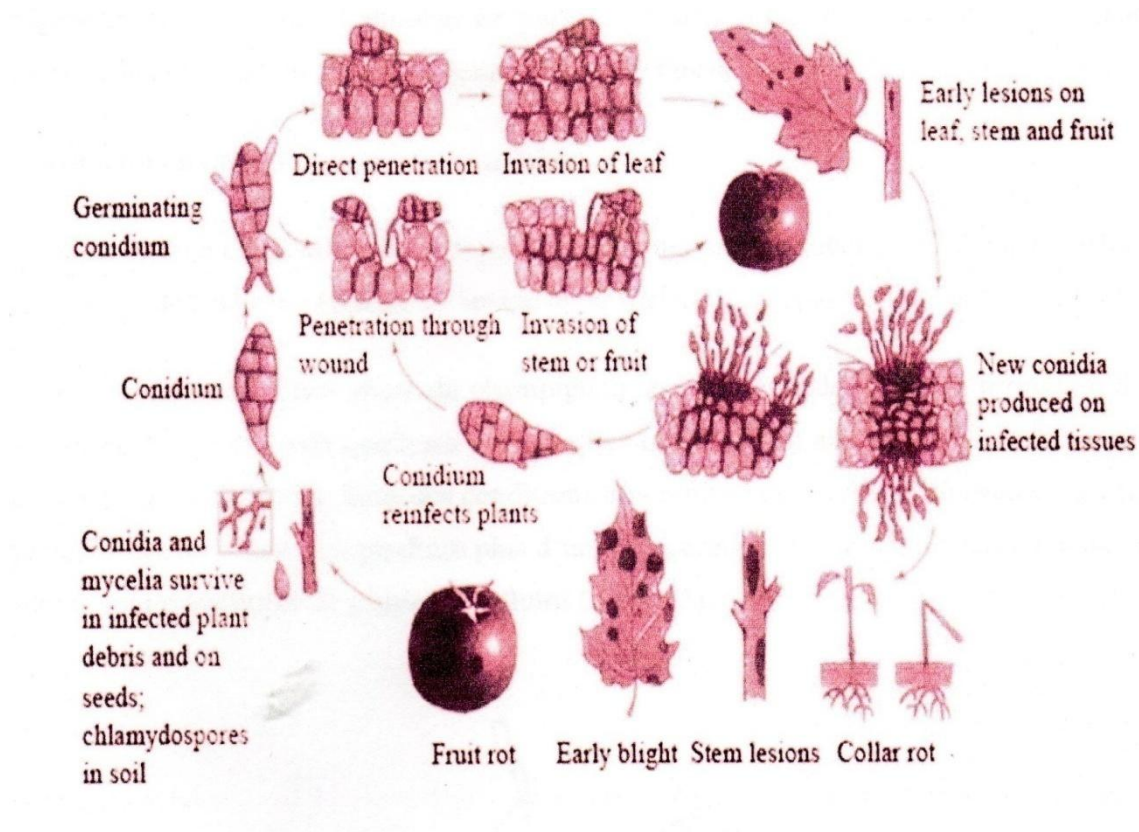


Figure 7 Cycle épidémique d'*Alternaria* sp sur la plante de tomate (Agrios, 2005).

2.10.2- Classification et biologie des *Alternaria*

Les membres du genre *Alternaria* possèdent des conidies septées avec cloisons transversales et longitudinales, les cellules sont multi nucléées (pluricellulaires) de couleur foncée généralement piriformes de tailles variable selon les espèces (Rotem, 1994), elles possèdent un pigment de type mélanine qui leur servent de protection contre des conditions environnementales défavorables, y compris la résistance aux microbes et enzymes hydrolytique (Rotem, 1994). Les champignons du genre *Alternaria* sont des *Deuteromycètes* (syn. *Adélomycètes, fungi imperfecti*). Cette classe renferme tous les champignons à mycélium cloisonné dont la forme de reproduction est généralement inconnue mais possèdent un mode de multiplication asexuée, par conidies. Certaines espèce d'*Alternaria* ont une reproduction sexuée et leur forme parfaite appartient aux *Loculoascomycètes* (genre *Pleospora* ou *Lewia*) (Ellis, 1971; Simmons, 1986; Erikson et Hawksworth, 1991). Tous les téléomorphes connus des taxons d'*Alternaria* sont membres du genre d'*Ascomycètes Lewia*. *Lewia* est une ségrégation d'un groupe hétérogène d'espèces à ascoma <<ou ascocarpe>> relativement restreint historiquement accumulée dans *Pleospora*.(Wehmeyer, 1961). La relation des taxons d'*Alternaria* du groupe d'espèces *A. infectoria* avec ceux des espèces *Lewia* est maintenant mieux établie à travers les nombreuses études sur les ascospores à conidies et les conidies à ascoma en culture axéniques (Simmons, 2007). Les *Alternaria* sont classés dans l'ordre des *hyphales* (Syn. *Moniliales*), ayant des conidiophores peu différenciés, libres, disséminés sur le substrat et à croissance sympodiale et des conidies qui se forment hors d'un concept spécial. La coloration foncée de leur mycélium et de leurs conidies les classent dans la famille des *Dematiaceae* (Agrios, 2005). Le tableau (5) représente la classification d'*Altarnaria sp.* selon catalogue of life (2016).

Tableau 5 classification taxonomique de *l'Alternaria sp.* Selon catalogue of life (25 mars 2016).

Règne	<i>Fungi</i>
Embranchement	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Dothideomycetes</i>
Ordre	<i>Pleosporale</i>
Famille	<i>Pleosporaceae</i>
Genre	<i>Alternaria</i>

2.10.3- Les *Alternaria* pathogènes des *solanacées*

Alternaria solani est signalé depuis plusieurs décennies comme pathogène des *Solanacées* et a longtemps été décrit comme affectant la tomate, l'aubergine, la pomme de terre, ainsi que plusieurs membres de cette famille botanique (Blancard *et al.*, 2012). Depuis la première description par Ellis et Martin en 1882 (Sherf et MacNab, 1986), *A. solani*, précédemment connu sous le nom d'*A. porri* f.sp. *solani* (Neergaard, 1945) qui a fait l'objet de nombreuses études (Strandberg, 1992; Rotem, 1994). Un champignon ascomycète, *Pleospora solani*, a été revendiquée par Esquivel (1984) comme le stade téléomorphe d'*A. solani*, mais cela n'a pas été confirmé par d'autre.

En fait, la situation des *Alternaria* sp. sur ces plantes est beaucoup plus complexe. Ainsi, plusieurs espèces d'*Alternaria* seraient inféodées à plus d'une soixantaine de *Solanacées*. De plus, il apparaît que sur la tomate sévirait plutôt une autre espèce, morphologiquement assez comparable à *A. solani* dénommée <<*Alternaria tomatophila*>>. En effet, deux phénotypes existeraient au sein de cette espèce, différenciables par l'aspect de leur colonies en boîtes de Pétri: un phénotype claire, plus agressif sur tomate, et un autre foncé (Frazer, 2002).

IL est à notre qu'*A. subcylindrica* a été ponctuellement observé sur feuilles de tomate cerise tout comme *A. certica* (Simmons et Roberts, 2000). D'autres *Alternaria* s'attaquent aussi à la tomate comme *A.alternata* f. sp. *Lycopersici*, *A.alternata* et *A. tomatophila* (Jones, 1997) .

En conclusion, les études présentées vont dans le sens de l'existence de plusieurs taxons responsables de la brûlure foliaire chez les *Solanacées* comme *A. tomatophila*, *A. solani*, *A. alternata*, *A.arborescens* et *A. tenuissima*.



Figure 8 Lésions sur fruits de tomates commercialisées par (A): *A. tomatophila*,

(B) : *A. solani*, *A. arborescens* et (C) : *A. alternata*.

- *Alternaria tomatophila*

Alternaria tomatophila tout comme *A. solani*, appartient aux espèces à grosse spores (section *porri*). Elle dispose d'un mycélium cloisonné se mélanisant progressivement avec l'âge, elle produit de courts conidiophores bruns sur lesquels ne se forme souvent qu'une seule conidie. (Simmons, 2000). Les conidies sont brunes, pluricellulaires et très allongées. Elles possèdent un long appendice hyalin (bec) (Figure 9), parfois bifurqué et plus long que le corps de la spore, qui mesure entre 120 et 300 µm de long.

Depuis de nombreuses années la taxonomie des espèces d'*Alternaria* associés aux maladies de la tomate et de la pomme de terre n'ont pas réussi à faire la distinction entre *A. solani* sur pomme de terre et *A. tomatophila* sur tomate. En particulier Rotem (1994) et d'autres auteurs anciens (Ellis, 1971) ont publié beaucoup de travaux sur la sporulation d'*A. solani* en culture.

A. tomatophila est le pathogène le plus commun lié à la brûlure foliaire de la tomate. A l'inverse, entre le nombre des isolats d'*Alternaria* à grosses spores examinés sur lésions de tomates, aucune n'est identifiable comme l'agent lié à la brûlure foliaire des pommes de terre.

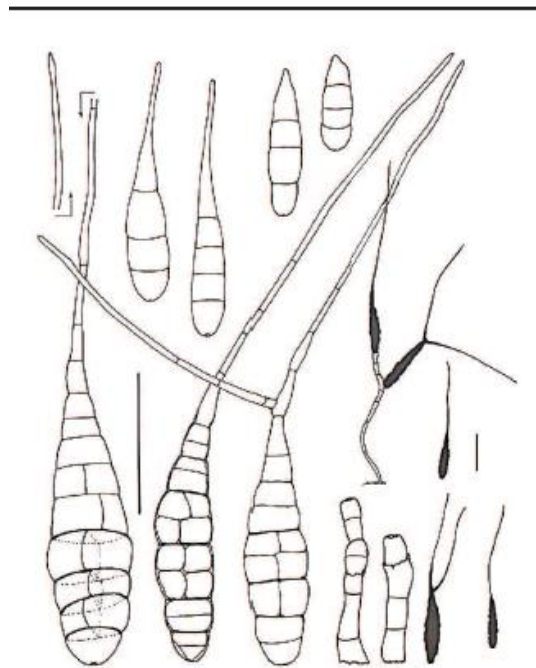


Figure 9 Conidies et conidiophores de la souche *A. tomatophila* représentative E.G.S. 42165 (Simmons, 2007) CBS fungal diversity, 203-205. Bar = 50µm.

- *Alternaria solani*

Alternaria solani appartient au groupe d'espèces à grosses spores (section porri) au sein du genre *Alternaria*, caractérisé par les conidies solitaires (Figure 10), supportées individuellement ou rarement en chaîne de deux sur des conidiophores simples et séptés (Neergaard, 1945; Ellis et Gibson, 1975), elles mesurent entre 150 et 200 μm de long (de la base à l'extrémité du bec) cette espèce est en général identifiable comme l'agent pathogène lié à la brûlure foliaire de pommes de terre (Simmons, 2007).

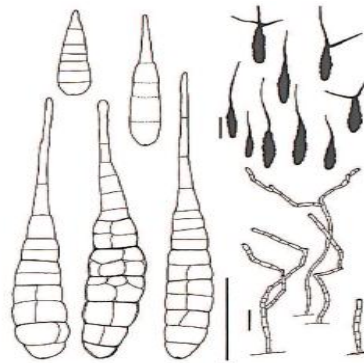


Figure 10 Conidies et conidiophores de la souche *A. solani* représentative E.G.S. 44098

(Simmons, 2007) CBS fungal diversity, 185-187. Bar = 50 μm .

- *Alternaria alternata*

Alternaria alternata est un champignon filamenteux cosmopolite ubiquiste (Figure 11). Communément isolé à partir de plantes, des sols, de nourriture corrompue ainsi que de l'air ambiant des habitations (Criquet *et al.*, 2008). *Alternaria* est un Pathogène de végétaux, se comporte surtout comme un parasite de faiblesse et se développe sur des plantes sénescents, sur des légumes, sur des débris organiques divers, sur le sol, sur des produits alimentaires, sur le papier etc. (Anonyme 4 ; 2006).

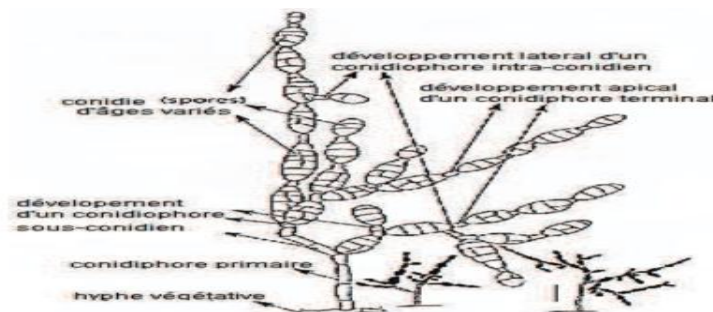


Figure 11 Représentation des différents stades de développement des spores et conidiophores

D'*A. alternata* (Simmons, 1999 ; Taralova *et al.*, 2011).

2.11- La lutte biologique

La lutte biologique pourrait être une alternative à la lutte chimique. En plus d'être respectueuse de l'environnement, cette méthode a permis des pertes dues à plusieurs maladies foliaires. Elle consiste en l'utilisation d'organismes vivants pour limiter la pullulation et/ou la nocivité des divers ennemis des cultures (rongeurs, insectes et acariens, nématodes, micro-organismes pathogènes des plantes, plantes adventices et envahissantes).

Remplacer, en totalité ou en partie, les pesticides chimiques utilisés en agriculture et en foresterie. La lutte biologique n'est donc pas l'agriculture biologique qui demande une production complètement exempte d'intrants chimiques (engrais, pesticides, antibiotiques). La lutte biologique peut devenir une composante importante de systèmes de production intégrée ou biologique.

2.12-*Trichoderma*

2.12.1- Historique de taxonomie

La division du genre *Trichoderma* en espèces a fait l'objet de nombreuses études et de beaucoup de polémiques. Dans le règne vivant les limites de «l'espèce» reposent sur la possibilité de croisement entre individus. Or, les champignons anamorphes du genre *Trichoderma*, en tant que tels, n'ont pas de reproduction sexuée connue, et ce caractère ne peut donc être utilisé pour leur systématique. On se base alors sur les aspects cultureux et la morphologie des appareils sporogènes (Roquebert, 1996) ainsi que sur le matériel génétique en s'appuyant sur des techniques de biologie moléculaires (Gams et Bissett, 1998). Si on répertorie succinctement les dates les plus importantes qui ont marqué la systématique des *Trichoderma sp.*, on se rend vite compte que leur positionnement taxonomique n'a pas été chose facile.

En 1794, Persoon décrit le premier *Trichoderma sp.* Et établit 4 espèces.

En 1821, Fries classa les *Trichoderma sp.* parmi les *Gastéromycètes*.

En 1860, débutent les controverses sur cette systématique, Tulasne contredit Fries puisqu'il ne trouve pas de forme téléomorphes (sexuées) à ce genre.

En 1871, devant le nombre croissant d'espèces rencontrées, Harz insiste sur l'importance des caractères morphologiques sous microscopie optique (surtout les phialides).

En 1916, Waksman décrit ce qu'il trouve être 6 nouvelles souches de *Trichoderma sp.* En utilisant des critères macroscopiques, différents de ceux préconisés par Harz.

En 1926, Abbot identifie 4 espèces de *Trichoderma* selon des critères une fois de plus différents des précédents. Jusqu'à 1939 le raisonnement d'Abbot reste en vigueur, mais aussi à côté d'identifications totalement indépendantes.

En 1939, Bisby tente de mettre de l'ordre dans ces systèmes en proposant une unique espèce *Trichoderma viridae*. Durant 24 ans, toute espèce fongique à spores vertes était considérée comme étant un *Trichoderma sp.*

En 1963, les travaux de Gutter et Monbasher mettent fin au système précédant, en démontrant la variabilité des espèces de *Trichoderma* en fonction des conditions environnementales.

En 1969, conscient de toute cette polémique, Rifai propose une classification «utilisable avec le concept «d'espèces agrégées», basé sur les caractères microscopiques. «Une espèce agrégée est une entité composée de groupement d'espèces très similaires, difficiles à séparer». Neuf espèces agrégées sont créées (*T. aureoviridae* Rifai, *T. hamatum* Bain, *T. harzianum* Rifai, *T. koningii* Oudemans, *T. longibrachiatum* Rifai, *T. piluliferum* Webster et Rifai, *T. polysporum*

Rifai, *T pseudokoningii* Rifai et *T. viridae* Gray), tout en tolérant une certaine variabilité au sein de chaque espèce agrégée (Rifai, 1969).

En comparaison avec les nombreux précédents, ce système semble le plus facilement utilisable pour la communauté scientifique, d'autant plus qu'il a été amélioré récemment par Bissett (1984, 1991a et b).

En 1991, Bissett propose la notion de « section » pour faire face au nombre croissant d'espèces nouvelles de *Trichoderma sp.* sans rapport avec les espèces agrégées.

Se basant sur la morphologie des conidiophores et des phialides, il regroupe les espèces agrégées dans 5 sections (Figure 12) (*Trichoderma*, *Pachybasium*, *Hypocreanum*, *Longibrachiatum* et *Saturnisporum*) (Leuchtman, 1996). Le système taxonomique de Bissett est aussi appuyé, entre autres, par des approches de biologie moléculaire (PCR), pour répondre au positionnement de nouvelles espèces de *Trichoderma* identifiées (dont les formes téléomorphes¹ sont souvent non identifiées) et reste le plus fiable actuellement (Lillard-Roberts, 2004).

Les espèces de *Trichoderma* ainsi que leurs rares formes téléomorphes observées sont classées parmi les *Ascomycètes*. Plus de 200 espèces du genre *Hypocrea* ont été identifiées, mais sont rarement cultivables et de ce fait peu décrites en termes modernes (Gams and Bissett, 1998).

On pense alors que l'évolution a conduit à la disparition du mode sexué pour l'établissement d'un genre à reproduction exclusivement asexuée (Roquebert., 1996).

La biologie moléculaire nous révèle aujourd'hui que des espèces de *Trichoderma* génétiquement différentes, présentent des similitudes morphologiques spectaculaires et leurs caractéristiques se chevauchent ce qui, d'une part explique la longue controverse connue par ce genre auparavant et d'une autre part, montre que les seuls critères morphologiques ne suffisent plus pour une classification incontestable et rigoureuse des formes anamorphes de *Trichoderma sp.* (Cournut, 1984; Sugiyama, 1987).

La taxonomie moderne des champignons a aboli l'embranchement des Deuteromycotina, auquel appartenait le genre *Trichoderma*. La position taxonomique actuelle des *Trichoderma sp.* se présente comme suit (Bissett, 2004):

Tableau 6 la position taxonomique actuelle des *Trichoderma sp.* selon catalogue of life (25 mars 2016).

Règne	Fungi
Embranchement	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Sordariomycetes</i>
Ordre	<i>Hypocreales</i>
Famille	<i>Hypocreaceae</i>
Genre	<i>Trichoderma</i>

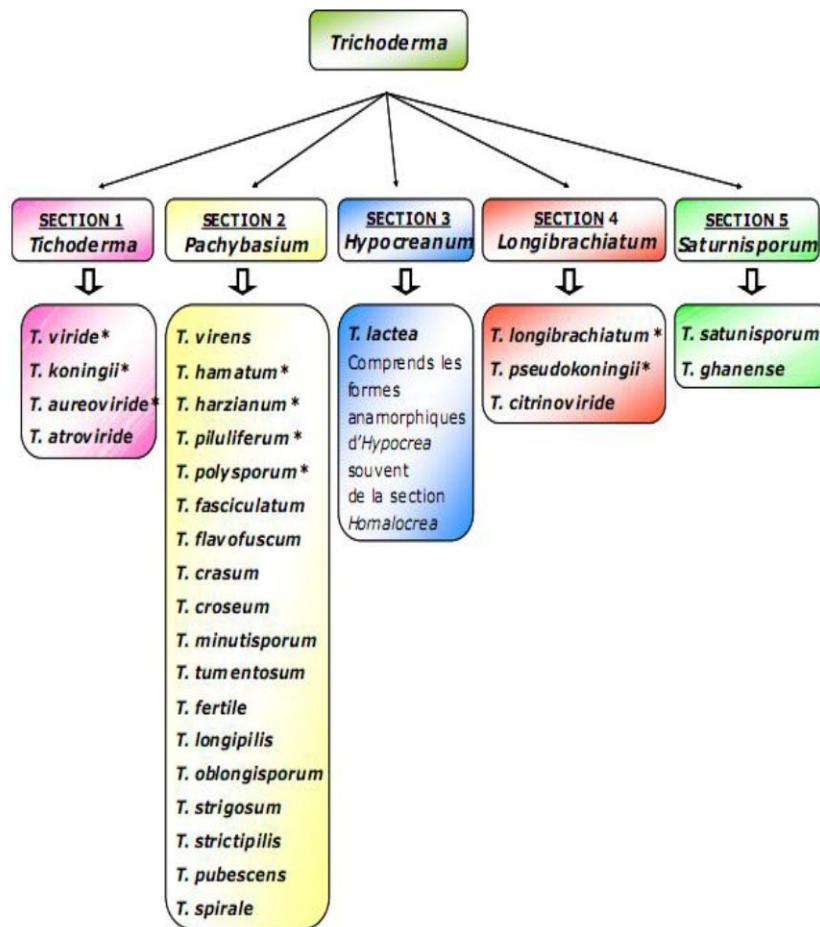


Figure 12 Les cinq sections systématiques de *Trichoderma sp.* Et quelques-unes des espèces y appartenant, selon BISSETT (1991a et b). *Les espèces agrégées de Rifai (1969).).

2.12.2- Ecologie

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin. En effet, les *Trichoderma sp.* sont remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats et sont, par conséquent, l'élément majeur dans la microflore terrestre et marine.

Les *Trichoderma sp.* terrestres se développent quasiment dans tous les sols (forestiers ou cultivés) et sur les végétaux en décomposition. Ils contaminent fréquemment le compost de la culture industrielle des champignons comestibles, mais sont rarement parasites de plantes vivantes. Dans la mer, les *Trichoderma sp.* sont marins facultatifs. *Trichoderma sp.* y ont été identifiés à tous les niveaux. Ils ont été également isolés à partir d'algues marines prélevées de la côte Atlantique et méditerranéenne ibériques ainsi qu'à partir de moules au Canada. Leur présence dans le tractus digestif et la surface de plusieurs espèces de concombre des mers reste insolite, puisque ces derniers biosynthétisent des glycosides tri terpéniques aux fortes activités antifongiques et cytotoxiques (Pivkin, 2000). Le genre *Trichoderma* est l'un des 3 prédominants. Il vient à la 3^{ème} position après les genres *Penicillium* et *Aspergillus* en importance numérique. La présence des *Trichoderma sp.* en milieu terrestre (6% du nombre total des espèces fongiques) semble comparable à celle en milieu marin (6,4% à 10,4%) (Landreau, 2001).

L'abondance des *Trichoderma sp.* dans les écosystèmes est due à leur capacité à produire diverses substances bioactives et des enzymes. Ils sont de ce fait un maillon important dans les chaînes biologiques (Benkada, 2006).

2.12.3- Morphologie

L'aspect macroscopique de *Trichoderma sp.* est apprécié à partir de cultures sur géloses nutritives appropriées, réparties en boîtes de Pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes, existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogenèse. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16^{ème} et le 20^{ème} jour un feutrage épais se superpose à la culture. Au microscope optique on peut observer un mycélium

composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale. Très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores (phialospores ou bien conidies) (Figure 13).

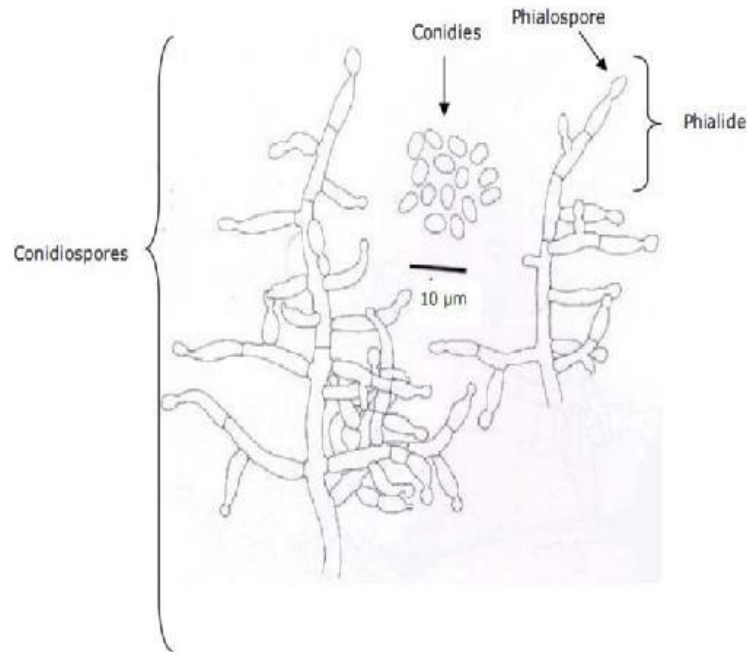


Figure 13 Schéma de branchement de conidiophores de *Trichoderma*.

2.12.4- Interaction *Trichoderma sp.*- agent pathogène

- ***Trichoderma sp.* agent de lutte biologique**

Une colonisation importante d'un habitat donné par tout organisme dépend essentiellement de sa capacité à défendre ses niches écologiques même s'il y a concurrence pour les nutriments, l'espace et la lumière. De nombreux champignons et particulièrement ceux du genre *Trichoderma* sont spécialisés dans ce domaine (Harman, 2006; Ruocco *et al.*, 2009; Vinale *et al.*, 2009).

La recherche sur les propriétés de *Trichoderma sp.* a progressé depuis la découverte en 1932 de *Trichoderma lignorum* (révélé plus tard *T. atroviride*) agissant comme un parasite sur d'autres champignons (Weindling, 1932; Schuster et Schmoll, 2010; Harman, 2011). De nombreuses espèces de *Trichoderma*, principalement *T. harzianum*, *T. virens*, et *T. asperellum* sont utilisées dans la lutte biologique contre les champignons pathogènes des plantes tels que *Armillaria*, *Botrytis*, *Chondrostereum*, *Colletotrichum*, *Dematophora*, *Diaporthe*.

- **Mode d'action**

Mycoparasitisme et enzymes lytiques

L'abondance de *Trichoderma sp.* dans les écosystèmes est due à leur production élevée d'enzymes hydrolytiques et leur mycoparasitisme basé sur la sécrétion d'un ensemble complexe dégradant la paroi cellulaire de divers hôtes (Calistru *et al.*, 1997; Eziashi *et al.*, 2006; Reino *et al.*, 2008). Un système multi-enzymatique important a été décrit chez des espèces de *Trichoderma*: les cellulases (Castro *et al.*, 2010), les chitinases (De la Cruz *et al.*, 1992), β -1,3-glucanases (De la Cruz *et al.*, 1995; Lorito *et al.*, 1994; Noronha et Ulhoa, 1996), β -1,6-glucanases (De la Cruz *et al.*, 1995; De la Cruz et Llobell, 1999), β -1,3-glucanases (Ait-Lahsen *et al.*, 2001) et des protéases (Geremia *et al.*, 1993; Howell, 2003).

La Stimulation

Trichoderma sp. perçoit la présence de son hôte, ses hyphes se dirigent directement vers lui par chimiotropisme. Différentes espèces peuvent suivre différents modèles d'inoculation, mais en général de ces dernières catalyse la libération des oligomères de la paroi fongique du champignon cible, et à leur tour en induisent l'expression des endochitinases qui attaqueront le champignon cible avant le contact (Viterbo *et al.*, 2002; Brunner *et al.*, 2003).

La Reconnaissance et l'Enroulement

L'attachement se fait par la liaison des glucides de la paroi fongique du *Trichoderma* à des lectines sur le champignon cible. Une fois que le *Trichoderma* est attaché, il s'enroule autour de l'agent pathogène et forme des appressoriums contenant des concentrations élevées de solutés osmotiques tels que le glycérol (Benitez *et al.*, 2004).

La pénétration et la lyse

La production des enzymes lytiques et des peptaiboles permet l'entrée des hyphes de *Trichoderma* dans les hyphes du parasite et facilite ainsi l'assimilation du contenu cellulaire de l'hôte (Howell *et al.*, 2003).

Antibiose et métabolites secondaires

L'antibiose est le processus de sécrétion des composés antimicrobiens par des champignons antagoniste pour lutter contre les agents pathogènes dans leurs zones de croissance (Verma *et al.*, 2007). Les *Trichoderma sp.* produisent des antibiotiques potentiels mais aussi plus de 100 métabolites avec une activité antibiotique, y compris de Polykétides, Pyrones, Terpènes et des Polypeptides utilisés dans la chimio-taxonomie des espèces (Keszler *et al.*, 2008). Ghisalberti

et Sivasithamparam (1991) ont classé les métabolites secondaires de *Trichoderma sp.* en trois catégories:

- **Métabolites volatils :** 6 Pentyl-pyrone, Ethylène, Cynure d'Hydrogène, Alcools, Aldéhydes (Vizcaino *et al.*, 2005; Stoppacher *et al.*, 2010).
- **Métabolites non volatils diffusibles :** Acide Heptélidique ou koningique, Trichotécènes notamment les Trichodermines (Blumenthal, 2004; vinale *et al.*, 2008).
- **Les peptaïbols** (Peptides Acide-Amino Iso Butyrique Alcool) qui sont des oligopeptides linéaires de 12 à 22 acides aminés riche en acide α -amino isobutyrique, N-acétylés à l'extrémité N-terminale et contenant un amino-alcool à la partie C-terminale (Degenkolb *et al.*, 2003; Wada et Tanka, 2004; Benkada, 2006; Degenkolb *et al.*, 2008).
- **Compétition pour les nutriments et l'espace**

La compétition pour le carbone, l'azote et d'autres facteurs de croissance, ainsi que la celle pour l'espace ou les sites spécifique d'infection, sont utilisées par les agents de lutte biologique. *Trichoderma sp.* a une forte capacité à utiliser et métaboliser les nutriments du sol, qui le rend plus compétitif à de nombreux micro-organisme du sol (Benitez *et al.*, 2004). *T. harzianum* est capable de contrôler *Botrytis cinerea* agent de la pourriture gris chez le raisin en colonisant les floraux et éliminant le pathogène de son site d'infection (Vinale *et al.* , 2008). Sivan et Chet (1989) ont démontré que la compétition pour les nutriments est le principal mécanisme utilisé par *T.harzianum* pour contrôler *Fusarium oxysporum* f.sp. melonis.



MATÉRIEL ET MÉTHODES

3- Matériel et méthodes

Le présent travail porte sur l'isolement de microorganismes à partir du sol de différentes régions arides de sahara Algérienne et de la rhizosphère des plantes de l'Est Algérien et la sélection de souches de *Trichoderma sp.* à effet antagoniste sur l'agent de l'Alternariose de la tomate.

L'isolement de l'agent phytopathogène de l'Alternariose a été réalisé à partir des fruits présentant les symptômes de l'Alternariose et à partir du sol d'une serre de la tomate de la région de l'Est Algérien.

3.1- Échantillonnage et recherche de l'agent phytopathogène

Les échantillons utilisés pour cet objectif sont prélevés de différentes régions de l'Est Algérien à savoir, le sol d'une serre de la tomate de la région de Constantine situé entre Didouche mourade et Hama bouziane qui s'appelle AL AWRASS, les fruits de la tomate présentant les symptômes de l'Alternariose de la région d'AIN EL DEFLA. Le prélèvement des échantillons est effectué durant le mois de février (2016).

- ✓ Le prélèvement des échantillons du sol est effectué à l'aide d'une spatule stérile, qui a servi à prendre une quantité du sol prélevé et remplir un flacon stérile de 250 ml dans des conditions d'asepsie rigoureuse, selon le protocole décrit par Pochon et Tardieux (1962).
- ✓ Les échantillons de la tomate sont placés dans des sachets en plastique, étiquetés puis ramenés au laboratoire. Une fois au laboratoire, les isolements sont réalisés souvent le même jour.

3.2- Isolement de l'agent phytopathogène

3.2.1- Isolement à partir du sol

L'isolement de l'agent phytopathogène de l'Alternariose est réalisé sur milieu PDA (Pomme de terre Dextrose Agar : Pomme de terre 200 g, Eau distillée 500 ml, Saccharose 10g, Agar 15 g, Eau distillée 1000 ml, pH 6), supplémentés par antibiotique (gentamycine).

Pour ce faire, 1g du sol est ajouté à 9mL d'eau physiologique stérile (9g de NaCl dans 1 litre d'eau distillée), après homogénéisation pendant 10 min, on réalise une série de dilutions décimales jusqu'à 10^{-6} (Figure 14).

Un volume de 100 μ L de chaque suspension est déposé dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA, puis, étalé sur toute la surface. Les préparations précédentes sont incubées à 28 °C, jusqu'à l'apparition des colonies (Ulacio *et al*, 1997).

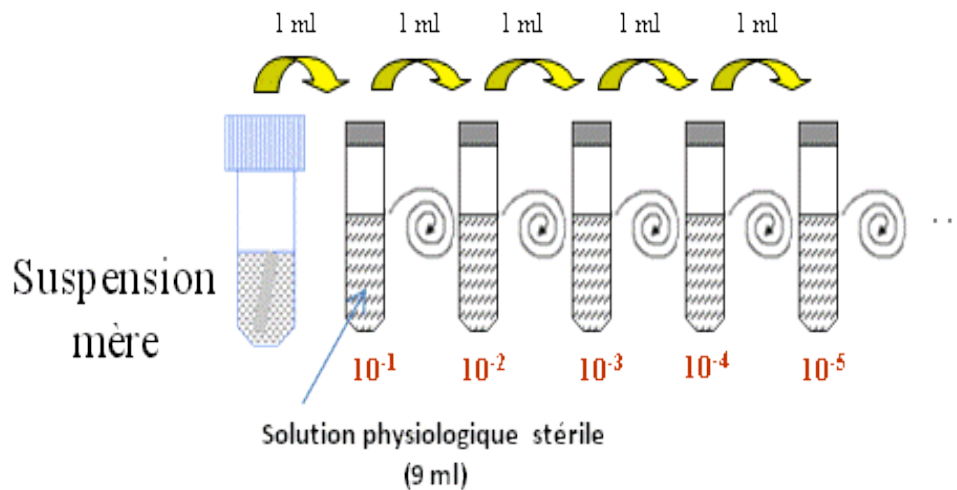


Figure 14 Méthode de dilution.

3.2.2- Isolement à partir de la tomate

L'isolement est réalisé à partir des fruits de la tomate présentant les symptômes de l'Alternariose (Figure 15). Les échantillons ont été découpés et désinfectés avec de l'hypochlorite de sodium à 0.1% pendant 2 min. Les fragments ont été par la suite déposés sur milieu gélosé PDA coulé en boîtes de Pétri stériles.

Pour empêcher la croissance bactérienne, on additionne une petite quantité d'antibiotique au milieu en surfusion (Otadoh *et al.*, 2011). Les boîtes sont, ensuite, incubées à l'obscurité à une température de 28 °C pendant 7 jours (Zehhar *et al.*, 2006).



Figure 15 Fruits de la tomate présentant les symptômes de l'Alternariose.

3.3- Échantillonnage et recherche de l'agent antagoniste

De nombreuses sorties de prospection ont été réalisées dans la région de Sahara et de l'Est algérien pour sélectionner une souche de *Trichoderma* à effet antagoniste sur l'agent de l'Alternariose. Les échantillons explorés dans cette étude, sont prélevés stérilement, à partir de trois sites, à savoir:

- Sols agricole de palmeraie de la région de MEGARINE, située à WARGLA;
- Sols agricole de palmeraie de la région de RANO, située à Tougourt;
- Sols de la zone de la rhizosphère des plantes de la région de Chaab-Elrssas, située à Constantine.

3.4- Isolement de l'agent antagoniste

L'isolement des champignons du genre *Trichoderma* a été effectué par la méthode précédente dilution-suspension (Ulacio *et al*, 1997).

3.5- Repiquage et purification

Après un bon développement des colonies, des repiquages ont été effectués de chaque colonie jusqu'à arriver à isoler sur chaque boite de Pétri une seule colonie d'un champignon donné (Guiraud, 1998).

Le repiquage est réalisé par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'un couteau stérilisé tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boite sur milieu PDA. Ce fragment est déposé au centre d'une nouvelle boite sur laquelle on indique la date de repiquage et les coordonnées de la boite de prélèvement. Le repiquage est effectué aseptiquement près du bec Bunsen et les boites sont incubées à 28° C pendant six jours jusqu'à l'obtention des souches fongiques pures.

3.6- Identification des souches sélectionnées

L'identification d'une souche fongique est effectuée par deux techniques classiques: par l'observation macroscopique et microscopique des souches. Ces deux techniques sont largement suffisantes pour déterminer le genre des moisissures isolées (Bourgeois et Leveau, 1980).

3.6.1- Etude macroscopique

Les caractères morphologiques et culturaux sont déterminés après ensemencement des souches pures sur le milieu de culture solide spécifique PDA. L'identification se fait à l'œil nu, elle se base essentiellement sur les caractères suivants: la vitesse de croissance, l'aspect du mycélium aérien, la couleur de l'envers de la colonie, l'odeur et la couleur des moisissures.

3.6.2- Etude microscopique

La méthode consiste à déposer une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile ou bleu de méthylène sur la lame, puis apporter et dissocier dans la goutte un prélèvement de l'hyphe de champignon à observer; la lame est recouverte par une lamelle et l'observation est faite à différents grossissements (40X puis à immersion).

3.7- Conservation des moisissures

Pour favoriser la viabilité, et limiter les possibilités de variation des moisissures isolées, on procède à la conservation sur gélose inclinée.

Après purification et obtention de cultures pures, les isolats obtenus ont été repiqués dans des tubes à essai contenant le milieu PDA inclinée. Les cultures ont été conservées à 28° C pendant une semaine puis conservées à 4° C. Le repiquage et la conservation des isolats sont répétés tous les trois mois (Botton, 1990).

3.8- Etude de l'activité antagoniste

L'activité antagoniste in vitro des isolats de *Trichoderma sp.* vis-à-vis *Alternaria sp.* a été étudiée selon deux méthodes : la méthode de confrontation par contacte directe et à distance (contacte indirecte).

3.8.1- Confrontation par contact direct

Cette technique consiste à placer, dans la même boîte de Pétri contenant la gélose appropriée, deux pastilles gélosées (5 mm de diamètre), l'une portant l'antagoniste et l'autre l'agent pathogène. Les deux pastilles sont placées suivant un axe diamétral à 3 cm et à équidistance du centre de la boîte (Figure 16), les repiquages sont effectués en même temps. L'incubation est réalisée à 28 °C pendant dix jours (Hibar *et al.*, 2005).

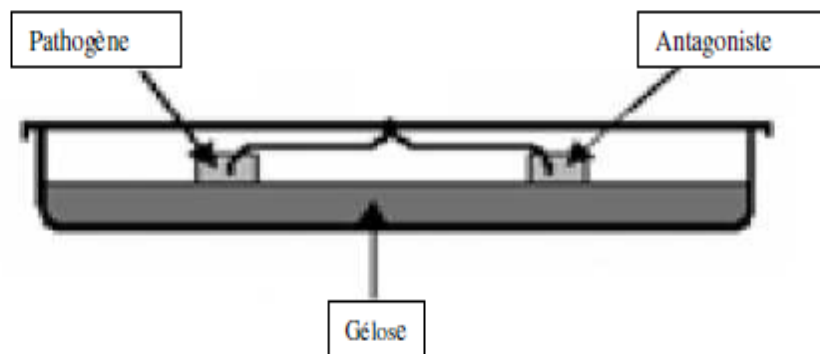


Figure 16 Confrontation entre l'agent phytopathogène et l'agent antagoniste par contact direct sur milieu PDA.

3.8.2- Confrontation à distance

Le principe de cette méthode repose sur la technique déjà utilisée par Gaigole *et al.* (2011). Elle consiste à repiquer l'agent antagoniste et le pathogène dans deux boîtes séparées; par la suite, un assemblage est réalisé par la superposition de deux boîtes, *Trichoderma sp.* en bas et le pathogène *Alternaria sp.* en haut (Figure 17). La jonction des boîtes est assurée par des couches de parafilm afin d'éviter toute déperdition de substances volatiles. Le témoin est préparé par superposition de deux boîtes, celle du haut contenant une pastille d'*Alternaria sp.* Alors que celle du bas ne contient que le milieu PDA. Les conditions de culture sont identiques à celle de la confrontation par contact direct.

Toutes les combinaisons entre les deux isolats d'*Alternaria sp.* et de *Trichoderma sp.* ont été répétées 3 fois.

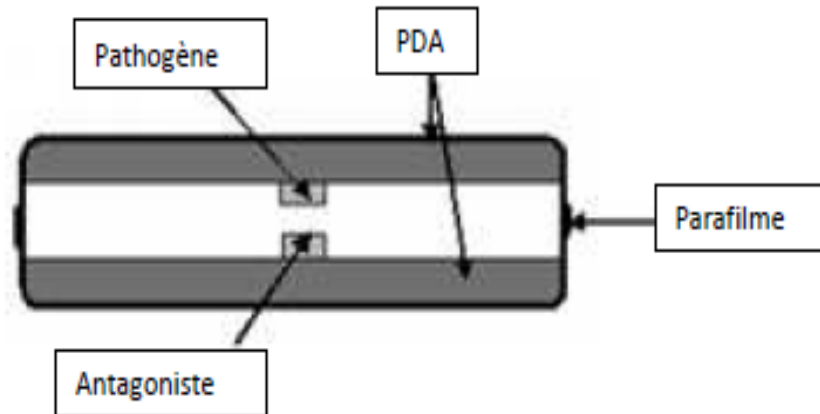


Figure 17 Confrontation à distance entre l’agent phytopathogène et l’agent antagoniste sur milieu PDA.

3.8.3- Pourcentage d’inhibition

La croissance mycélienne est évaluée par la mesure des diamètres moyens de la colonie mycélienne (Rapilly, 1968). Les pourcentages d’inhibition de la croissance mycélienne exercés par *Trichoderma sp.* ont été calculés selon la formule décrite par Hmouni (1996):

$$I(\%) = (1 - D_n / D_o) \times 100$$

I(%) représente l’inhibition moyenne de la croissance mycélienne;

Dn est le diamètre moyen du champignon pathogène en présence de l’agent antagoniste;

Do est le diamètre moyen du champignon pathogène en absence de l’agent antagoniste.

3.9-Test de pathogénicité

Des plantules saines de tomate ont été repiquées dans des pots en plastique contenant du terreau, quatre plantules par pot, le 10^{ème} pot correspond au témoin. Ces pots sont ensuite placés dans une serre à essai (serre de recherche). Les plantules ont été arrosées chaque 3 jours avec l’eau brute jusqu’au stade requis pour l’inoculation. L’inoculum a été préparé en cultivant chacun d’isolats testés sur un milieu PDA à 28 ° C pendant 15 jours. Ensuite, 10 mL d’eau distillée stérile ont été ajoutés à chaque boîte et les colonies ont été soigneusement grattées avec une spatule stérile.

La solution sporale de chaque souche d'*Alternaria* a été ajustée à 5×10^6 spores/mL par l'utilisation de cellule de Thomas, puis versée dans un pulvérisateur. Après inoculation, les plantules ont été recouvertes avec des sacs en polyéthylène.

Après 48 h, les sacs ont été enlevés et les plantules ont été, ensuite, maintenues dans des conditions de serre (Sallam, 2012).

3.9.1- Sévérité de la maladie

Après deux semaines, la sévérité de la maladie a été notée et enregistrée dans chaque traitement suivant l'échelle de notation [0 = saine; 1 = (1-5%); 2 = (6-10%); 3 = (11-25%); 5 = (6-50%); 7 = (51-75%) et 9 => (76%) de la surface foliaire infectée] proposée par Latha *et al.*, (2009).

3.9.2- Ré-isolement du parasite

Afin de confirmer que les symptômes observés sont provoqués par le meme pathogène, la méthode consiste à rechercher le parasite dans les tissus infectés par ré-isolement sur milieu PDA, puis comparées morphologiquement avec la culture mère.



RÉSULTATS

4- Résultats

Le présent travail porte sur l'utilisation de la lutte biologique pour lutter contre l'Alternariose de la tomate. En effet, l'isolement de l'agent antagoniste est effectué à partir de différents sols des zones arides et à partir de la zone de la rhizosphère des plantes, tandis que l'isolement de l'agent phytopathogène est effectué à partir des fruits présentant les symptômes de l'Alternariose et à partir du sol d'une serre de la tomate.

4.1- Isolement de l'agent phytopathogène

L'isolement de l'agent phytopathogène *Alternaria sp* a été réalisé à partir des fruits présentant les symptômes de l'Alternariose isolés à partir de la zone d'AIN EL DEFLA, et à partir du sol agricole d'une serre de la tomate de la région de Constantine situé entre Didouche mourade et Hamma bouziane qui s'appelle AL AWRASS.

26 isolats fongiques sont obtenus à partir des échantillons utilisés des différents sites prospectés. L'échantillon prélevé à partir des fruits présentant les symptômes de l'Alternariose a révélé la présence de 11 isolats fongiques. Les prélèvements effectués à partir du sol de la serre de tomate ont montré la présence de 15 isolats fongiques.

Parmi les vingt-six isolats fongiques seuls, quatre isolats d'*Alternaria sp* ont été sélectionnés et purifiés, deux isolats à partir des fruits présentant les symptômes de l'Alternariose Alt M et Alt X (Figure 18) et deux isolats à partir du sol Alt1 et Alt2 (Figure 18).

4.2- Identification morphologique de l'agent phytopathogène

4.2.1- Etude macroscopique

Les caractères macroscopiques des différents isolats sélectionnés ont été étudiés sur milieu PDA (Botton, 1990). La figure (18) récapitule l'aspect macroscopique des isolats purifiés: surface et consistance des colonies, couleur du revers de la colonie ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque souche.

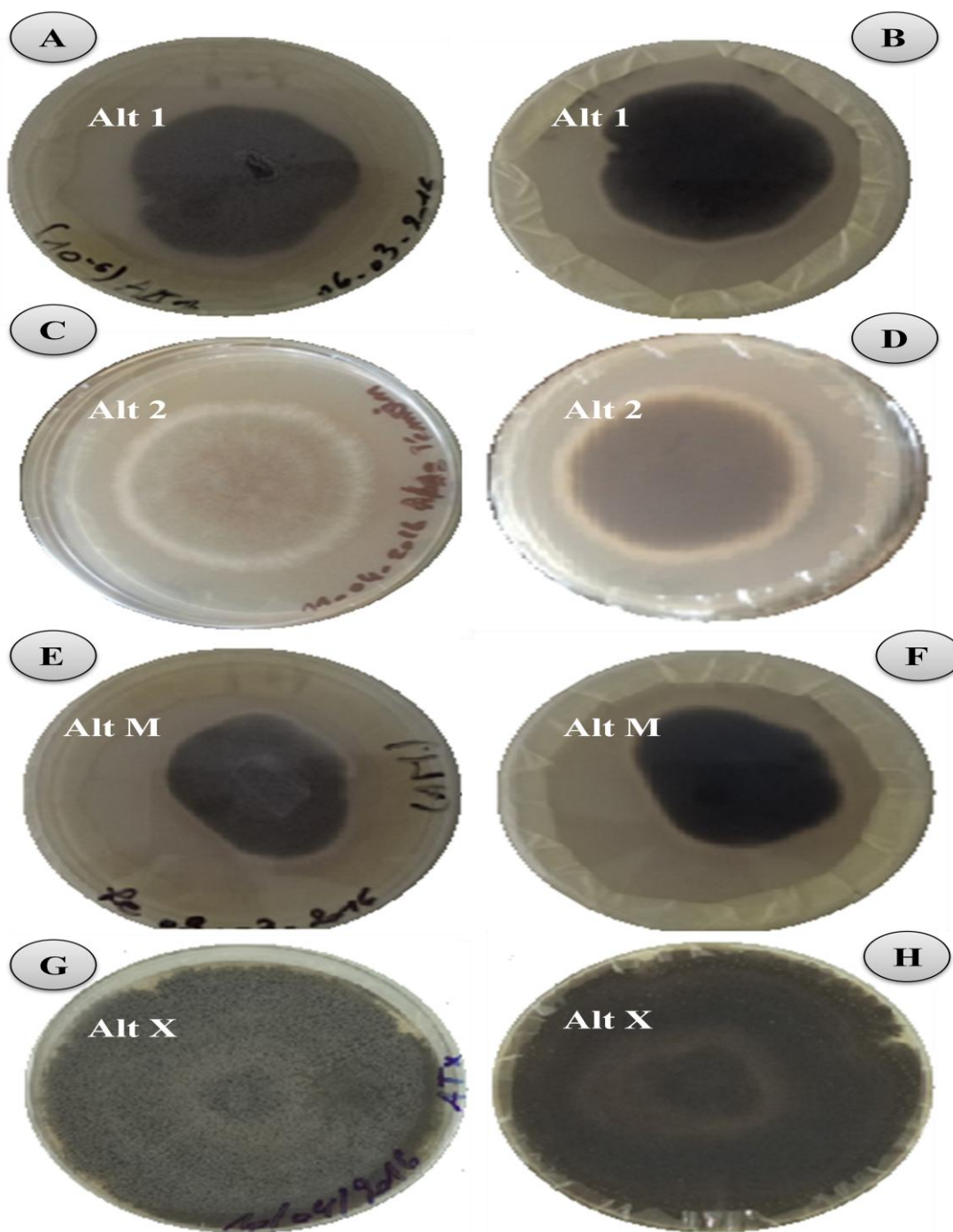


Figure 18 Aspects morphologiques des colonies *Alternaria sp.* (Alt 1, Alt 2, Alt M et Alt X) cultivées sur milieu PDA (A, C, E et G: Recto, B, D, F et H: Verso).

Alt 1 et Alt M (Figure 18: A, B, E, et F) représentent une colonie plate, blanche-grise au départ, devient rapidement foncée (vert à noire). La couleur du revers est noir verdâtre, la texture est duveteuse à laineuse, pourtour blanc plus clair.




L'aspect macroscopique d'Alt 2 (Figure 18: C et D) représente une colonie plate, duveteuse à laineuse et elle est recouverte d'hyphes aériens courts et grisâtres devenant noir verdâtre. La couleur du revers est noir verdâtre et la texture est duveteuse à laineuse.

Ainsi que la figure 18 (G et H) d'Alt X représente une colonie plate, duveteuse à laineuse et elle est recouverte d'hyphes aériens courts et grisâtres devenant brun olive. Le revers de la colonie est brun.

4.2.2- Etude microscopique

L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques des quatre isolats phytopathogènes sélectionnés (conidiophores, conidies, mycélium ...etc). Les différents aspects microscopiques des isolats en question, sont récapitulés dans le tableau (7).

Tableau 7 Aspect microscopique d'*Alternaria sp.* A: *G X 40*, B: *G X 100*.

Espèce	Aspect microscopique	
	A	B
<i>Alternaria solani</i> (Alt 1)		
Alt 2 <i>Alternaria tenuissima.</i>		

<p>Alt M</p> <p><i>Alternaria solani</i></p>		
<p>Alt X</p> <p><i>Alternaria solani.</i></p>		

L'étude microscopique a montré que les isolats phytopathogènes appartiennent au genre d'*Alternaria*. Trois isolats (Alt 1, Alt X et Alt M) sont *Alternaria solani* appartient au groupe d'espèce à grosses spores. Caractérisé par les conidies solitaires brunes, muriformes, à bec filamenteux, supportées individuellement ou rarement en chaîne de deux sur conidiophores simples et séptés.

Alt 2 a été identifié comme *Alternaria tenuissima*, elle a des conidiophores solitaires ou dans des groupes, simples, bruns, lisse moins cylindriques et septés. Les conidies ont été solitaires ou dans les chaînes courtes, directement ou incurvé, ellipsoïde graduellement au bec qui est jusqu'à la moitié, longueur de conidie habituellement plus courte.

4.3- Isolement de l'agent antagoniste

34 isolats fongiques sont obtenus à partir des échantillons du sol des différents sites prospectés. En effet, des différents échantillons prélevés du sol agricole de palmeraie de la

région de MEGARINE (OUARGLA), représentent 12 isolats fongiques. L'échantillon prélevé du sol agricole de palmeraie de la région de RANO, située à la wilaya de Touggourt a révélé la présence de 9 isolats fongiques. Enfin, les prélèvements effectués à partir du sol de la zone de la rhizosphère des plantes situées à Constantine (Chaab-Elrssas) ont montré la présence de 13 isolats fongiques.

4.4- Sélection de l'agent antagoniste

Parmi les trente-quatre isolats fongiques testés seuls, un isolat de *Trichoderma sp* (Trich S) possède un effet antifongique sur *Alternaria sp*.

4.5- Identification de l'agent antagoniste

L'identification de l'isolat fongique sélectionné a été faite, par une analyse des critères macroscopiques et microscopiques.

4.5.1- Examen macroscopique

Les caractères macroscopiques d'isolat sélectionné ont été étudiés sur le milieu PDA. La figure (19) récapitule l'aspect de la colonie purifiée: surface et consistance, couleur du revers de la colonie ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de la souche sélectionné.

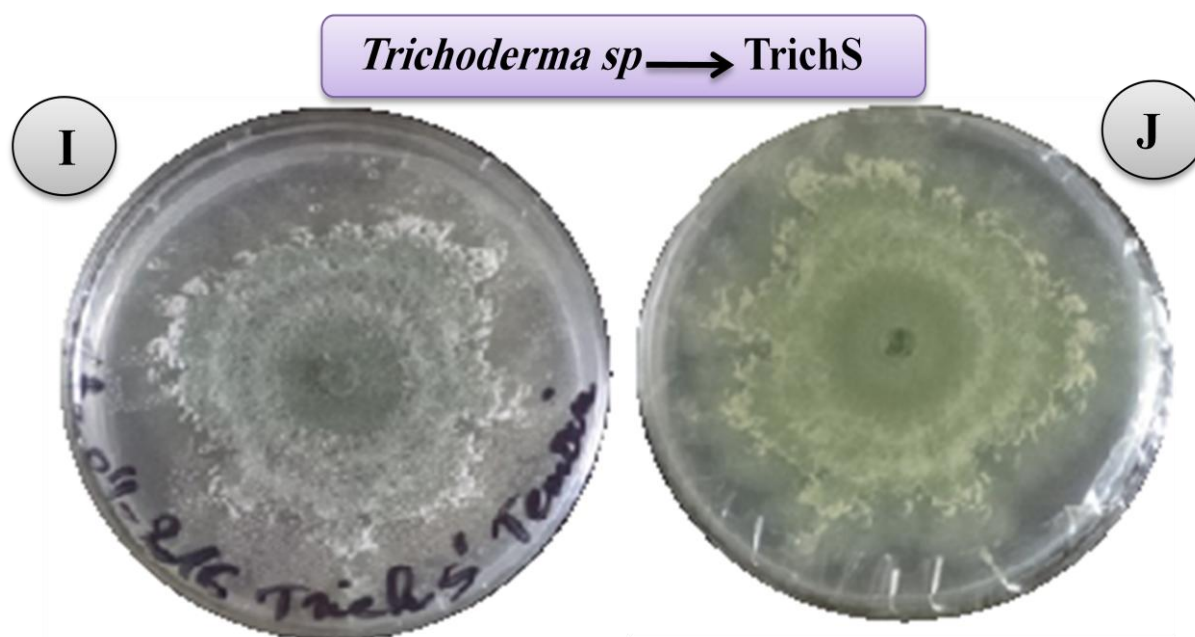


Figure 19 Aspect morphologique de *Trichoderma sp*. cultivé sur milieu PDA

(I: Recto, J: Verso).

L'aspect macroscopique de *Trichoderma sp.* est apprécié à partir des culture sur PDA, répartie en boîtes de Pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes, existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides.

Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium en forme de cercle, d'une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium.

La figure 19 de l'agent antagoniste montre une colonie verdâtre, le contour est blanc et le revers est incolore.

4.5.2- Examen microscopique

L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques de la souche fongique sélectionnée. La figure 20 représente les différents caractères microscopiques observés.

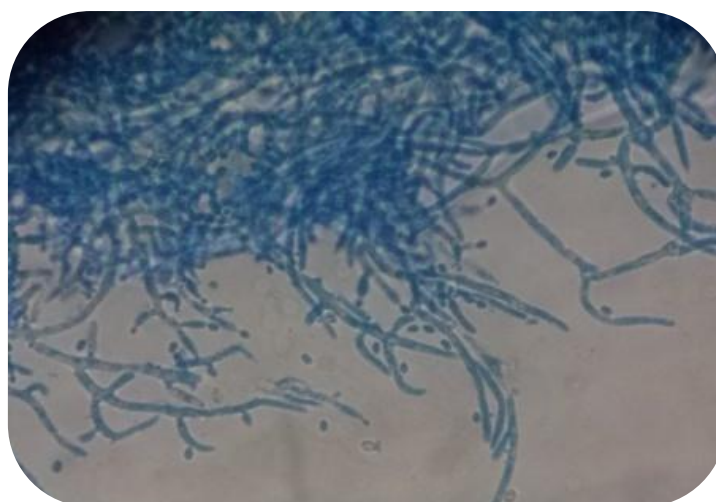


Figure 20 Aspect microscopique de l'agent antagoniste *Trichoderma sp.* (TrichS).

L'étude microscopique a révélé que l'isolat antagoniste caractérisé par des filaments séptés, conidiophores long et peu ramifiés, conidies ovoïdes ou elliptique lisses.

L'étude macroscopique et microscopique a montré qu'il s'agit de *Trichoderma longibrachiatum*.

4.6- Etude de l'activité antagoniste

L'activité antagoniste de la souche de *Trichoderma* vis-à-vis *Alternaria* a été étudiée selon deux méthodes:

- la confrontation par contacte directe

- la confrontation à distance

4.6.1- Confrontation par contact direct

Les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne des souches témoins d'*Alternaria* (Alt 1, Alt 2, Alt M, Alt X) est plus importante en comparaison à ceux obtenus avec les différentes confrontations (Figure: 21, 22, 23 et 24) (Pathogène – Antagoniste).

Après le troisième, le cinquième et septième jour d'incubation, *T. longibrachiatum* a montré une bonne activité inhibitrice vis à vis les agents phytopathogènes d'*Alternaria sp* et ce, par l'apparition d'un arrêt de croissance pour l'ensemble des *Alternaria*.

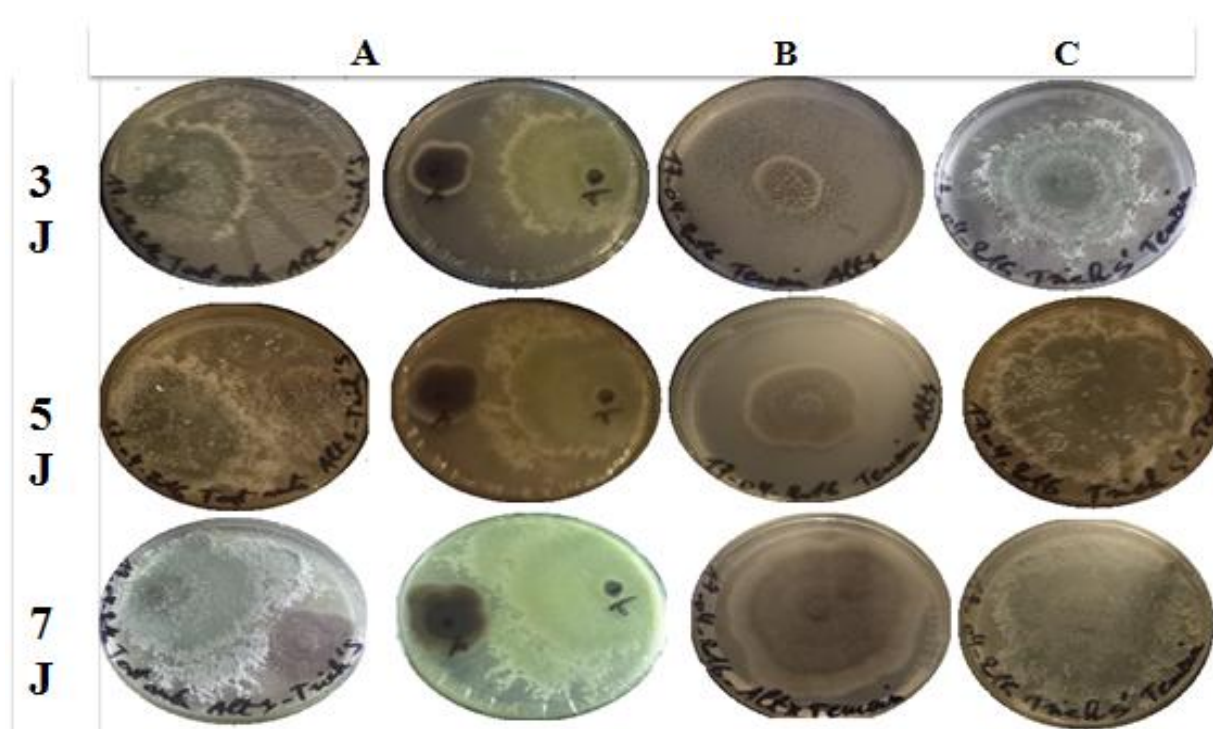


Figure 21 Effet de *T. longibrachiatum* sur la croissance du mycélium d'*A. solani* (Alt 1), après le troisième, le cinquième et septième jour d'incubation sur (PDA). (A) interaction entre *T. longibrachiatum* et *A. solani* (Recto, Verso), (B) témoin d'*A. solani*, (C) témoin de *T. longibrachiatum*.

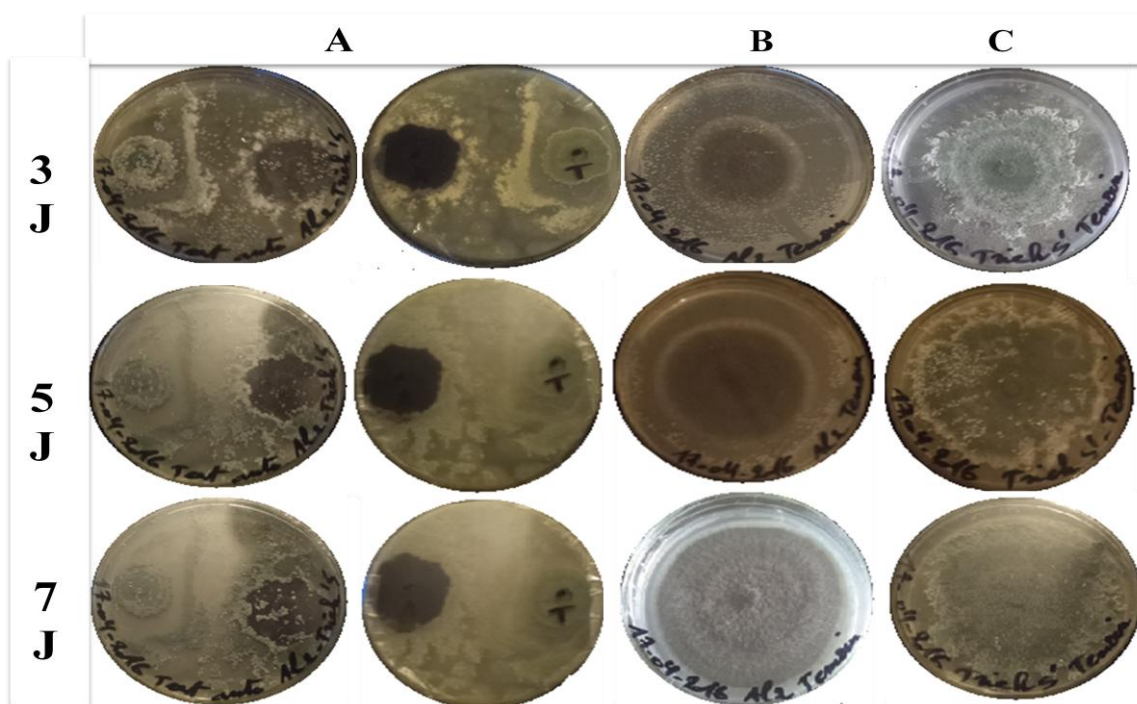


Figure 22 Effet de *T. longibrachiatum* sur la croissance du mycélium d'*A. tenuissima* (Alt 2), après le troisième, le cinquième et septième jour d'incubation sur (PDA). (A) interaction entre *T. longibrachiatum* et *A. solani* (Recto, Verso), (B) témoin d'*A. tenuissima*, (C) témoin de *T. longibrachiatum*.

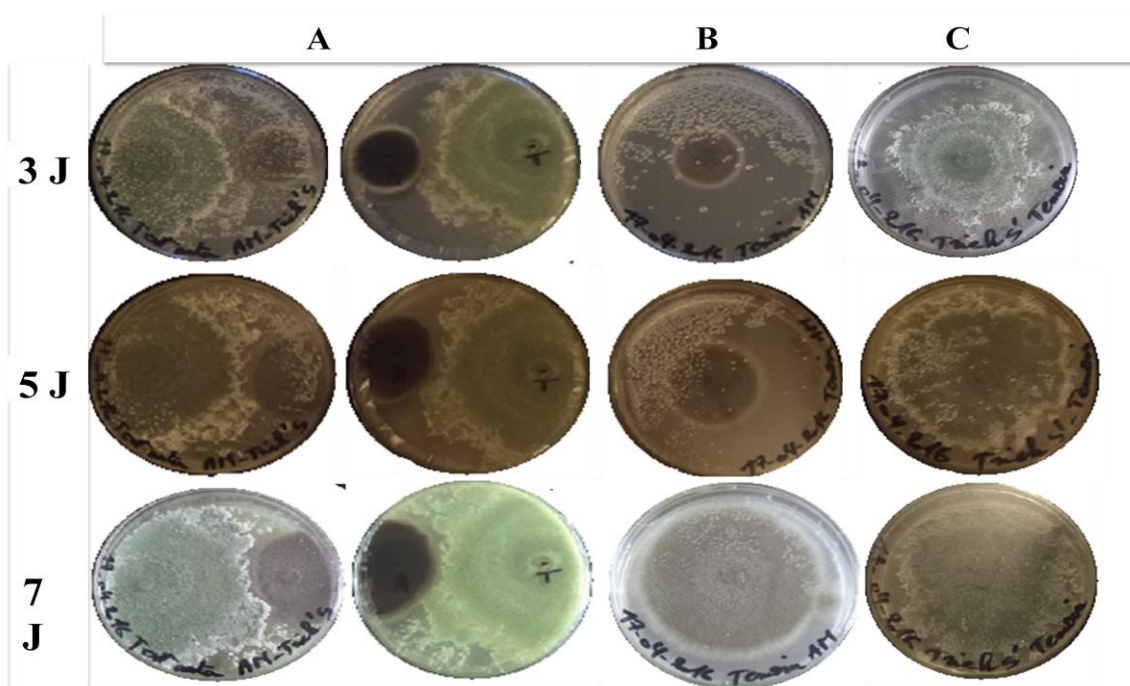


Figure 23 Effet de *T. longibrachiatum* sur la croissance du mycélium d'*A. solani* (Alt M), après le troisième, le cinquième et septième jour d'incubation sur (PDA). (A) interaction entre *T. longibrachiatum* et *A. solani* (Recto, Verso), (B) témoin d'*A. solani*, (C) témoin de *T. longibrachiatum*.

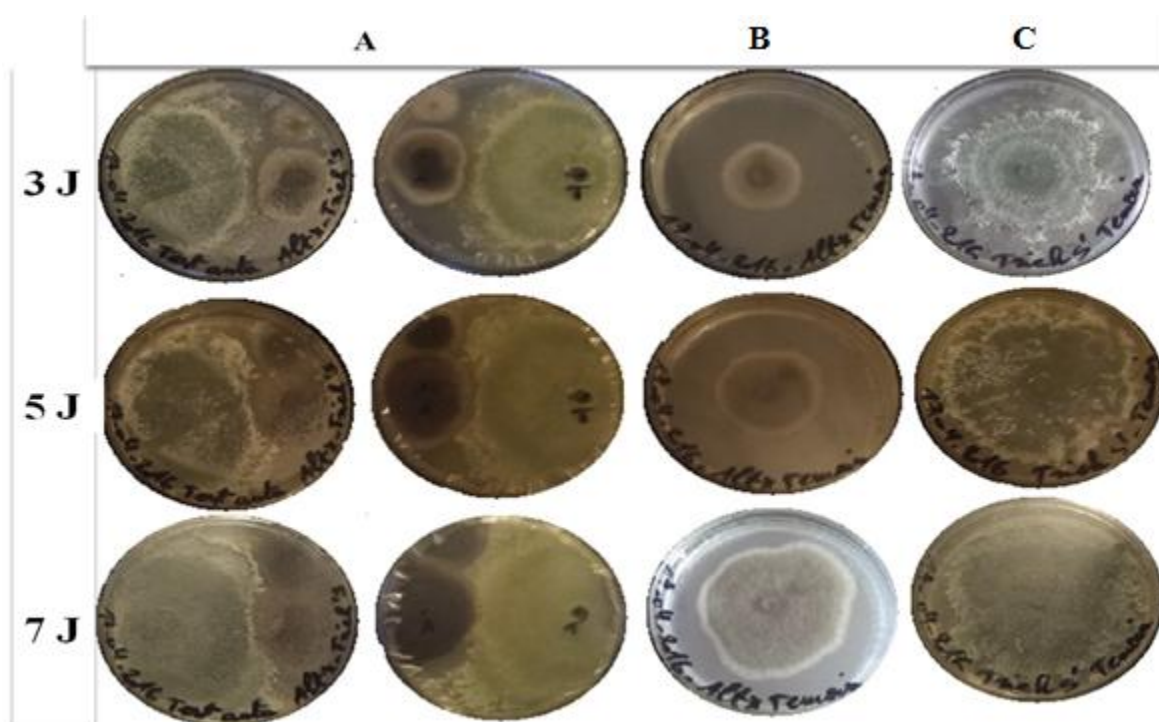


Figure 24 Effet de *T. longibrachiatum* sur la croissance du mycélium d'*A. solani* (Alt X), Après le troisième, le cinquième et septième jour d'incubation sur (PDA). (A) interaction entre *T. longibrachiatum* et *A. solani* (Recto, Verso), (B) témoin d'*A. solani*, (C) témoin de *T. longibrachiatum*.

Après quatre jours d'incubation, les résultats montrent que la boîte est totalement envahie par l'antagoniste, et sporule même sur celles-ci, alors que les isolats d'*Alternaria* n'occupent qu'une surface variant de 20 à 34 mm de diamètre, ce qui correspond à une inhibition de croissance mycélienne arrivant jusqu'à 59%. Le témoin des souches d'*Alternaria* cultivé seul, occupe une surface variant de 45 à 78 mm de diamètre (Figure 25, 26, 27 et 28).

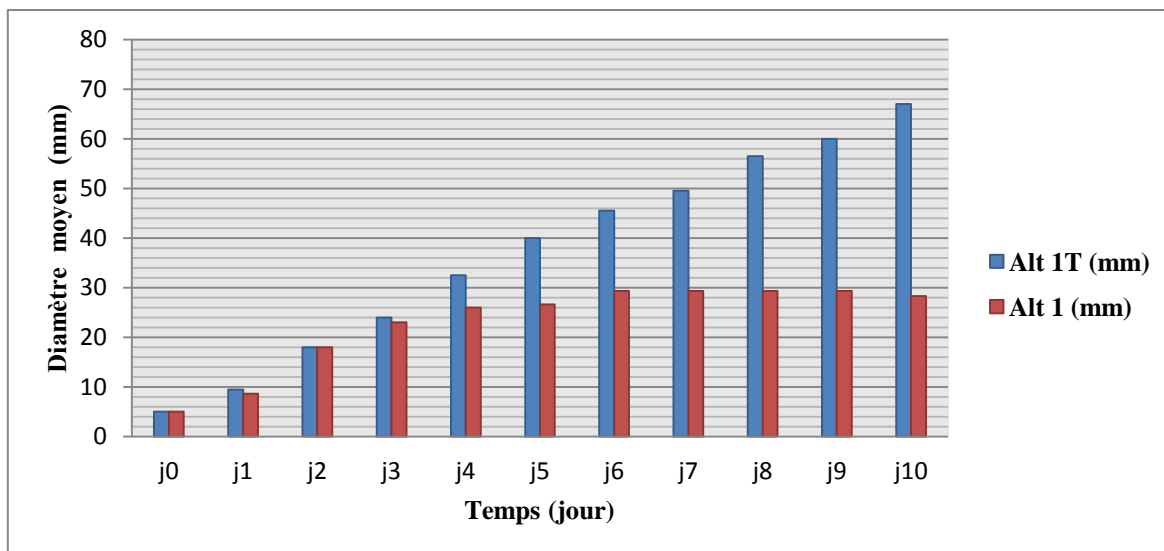


Figure 25 Inhibition de la croissance d'*A. solani* (Alt 1) par *T. longibrachiatum* pendant 10 jours d'incubation.

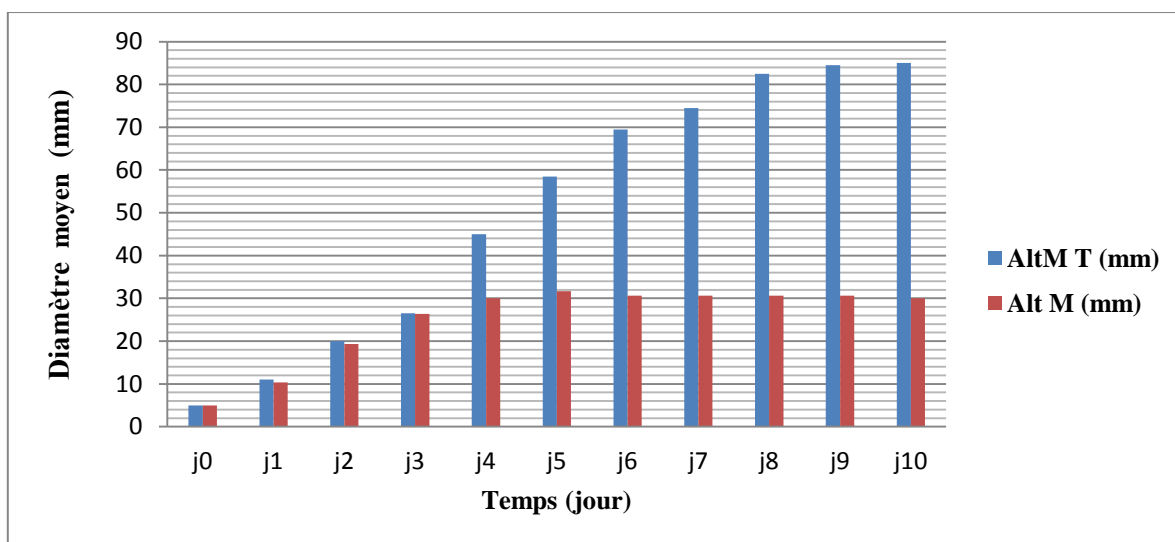


Figure 26 Inhibition de la croissance d'*A. solani* (Alt M) par *T. longibrachiatum* pendant 10 jours d'incubation.

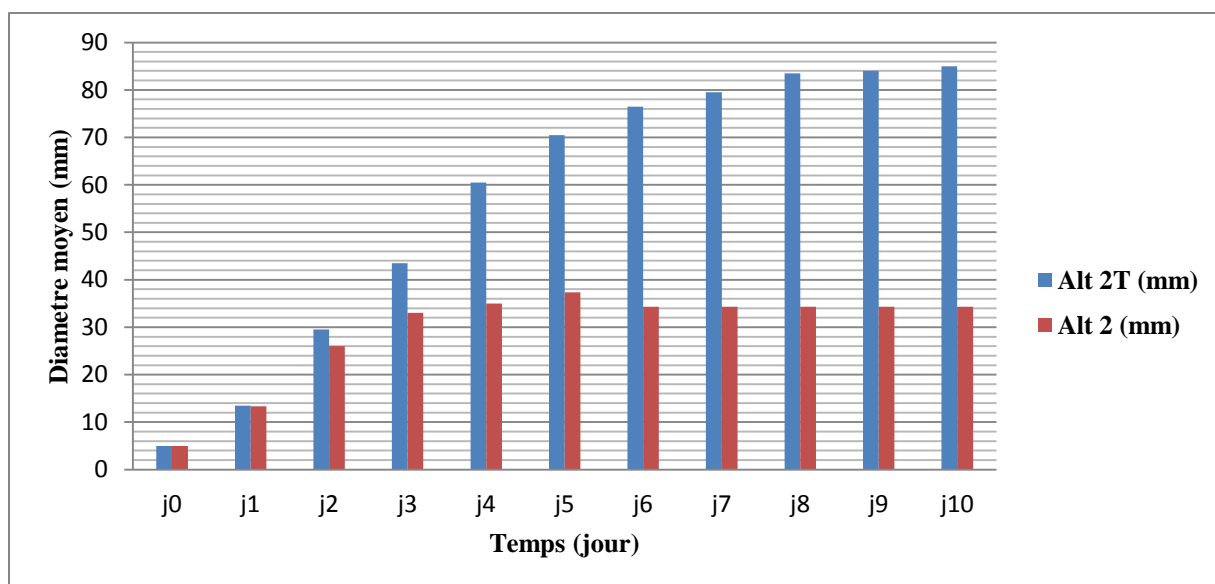


Figure 27 Inhibition de la croissance d'*A. tenuissima* (Alt 2) par *T. longibrachiatum* pendant 10 jours d'incubation.

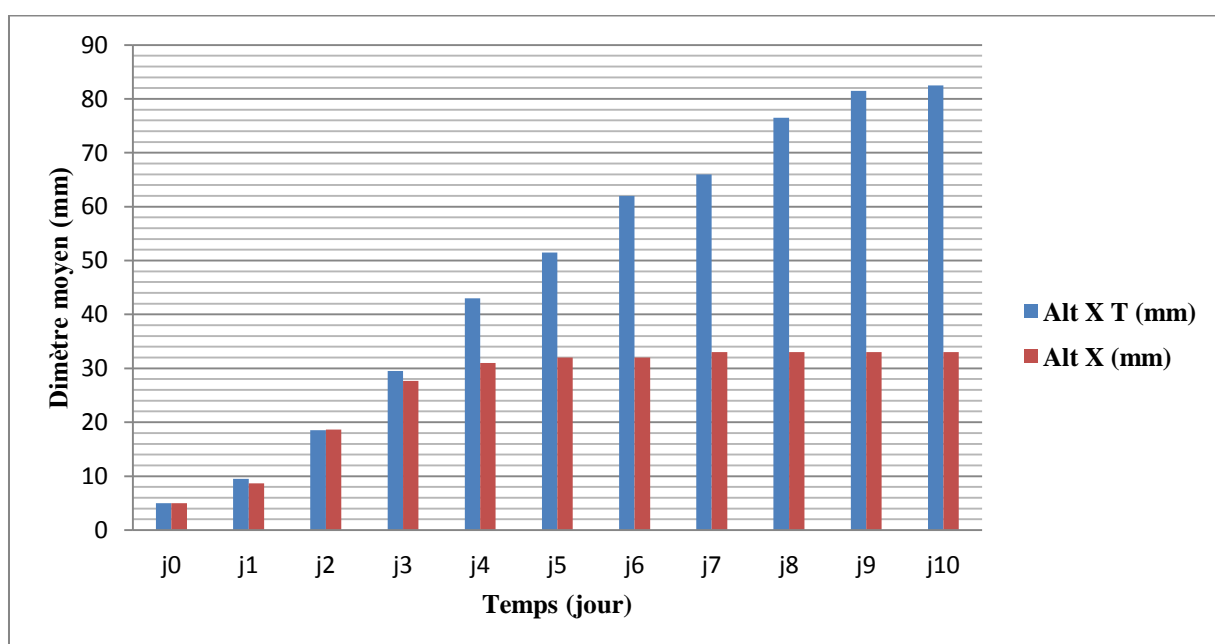


Figure 28 Inhibition de la croissance d'*A. solani* (Alt X) par *T. longibrachiatum* pendant 10 jours d'incubation.

Après 7 jours d'incubation, une action inhibitrice exercée par l'agent antagoniste de *T. longibrachiatum* vis-à-vis les quatre souches d'*Alternaria*, traduite par un arrêt de croissance pour l'ensemble des *Alternaria* (Alt 1, Alt 2, Alt M, Alt X). *A. solani* «Alt M» s'avère la plus sensible avec un taux d'inhibition de 59%.

En effet, le calcul du taux d'inhibition montre que toutes les souches d'*Alternaria* sont inhibées par *T. longibrachiatum* à plus de 41% (Figure 29).

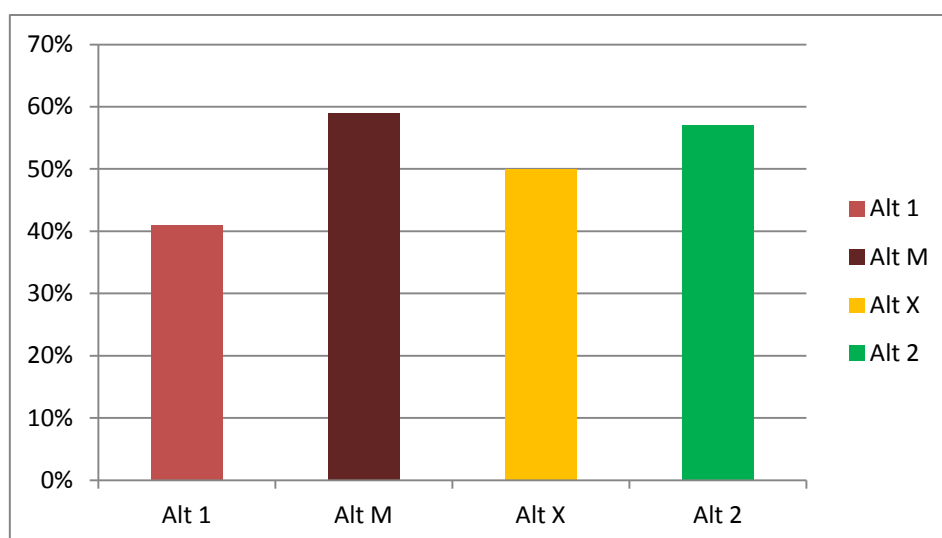


Figure 29 Estimation des pourcentages d'inhibition des souches pathogènes par *T. longibrachiatum*.

L'inhibition de la croissance est de l'ordre de 41% pour Alt 1, 50% pour Alt X, 57% pour Alt 2 et 59% pour Alt M.

D'un autre côté, les observations microscopiques réalisées au niveau de la zone d'interaction entre *T. longibrachiatum* et *A. solani* (Alt 1, Alt X et Alt M) et *A. tenuissima* (Alt 2), montrent un enroulement du mycélium d'antagoniste sur celui d'*Alternaria* (Figure 30).

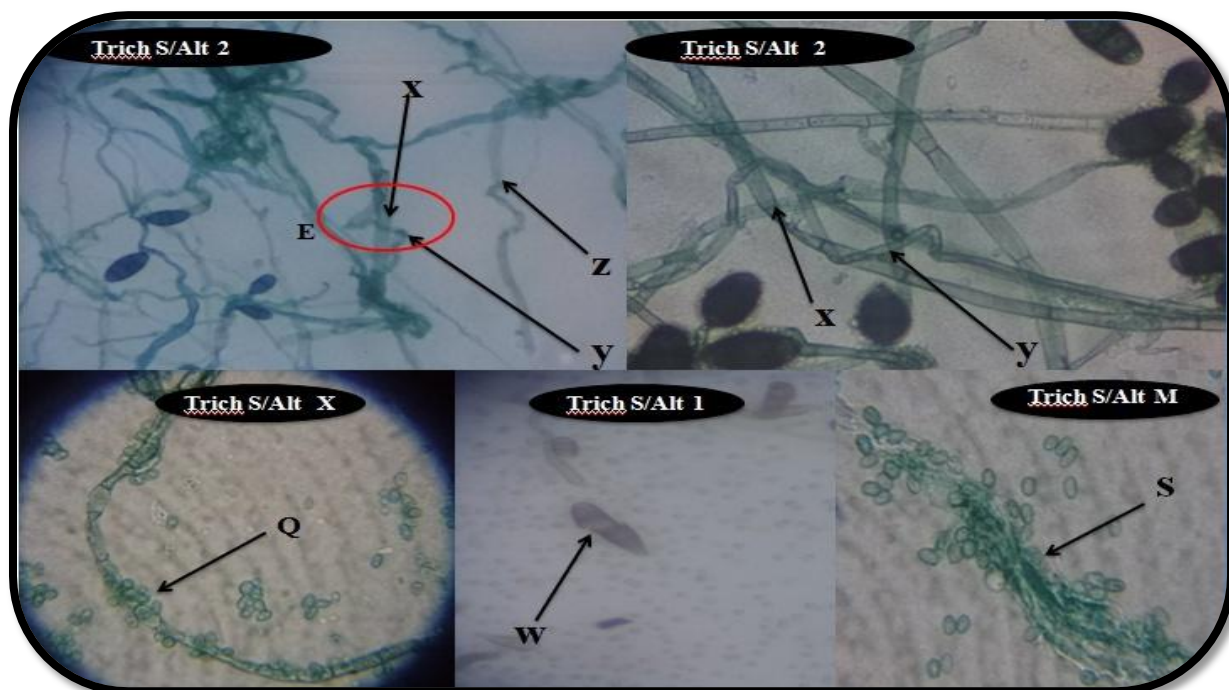


Figure 30 Observation microscopique de la zone de contact entre l'agent pathogène et l'agent antagoniste. (Y) Mycélium de *T. longibrachiatum*, (X) Mycélium d'*Alternaria*, (E) Enroulement, (Z, S et Q) lyse de Mycélium, (W) spore déformé.

4.6.2- Confrontation à distance

Les résultats obtenus de cet essai montrent un ralentissement de la croissance mycélienne des souches d'*Alternaria* exercé par les souches antagonistes comparativement aux témoins. Il ressort de ces résultats, que malgré l'absence d'un contact direct entre les isolats d'*Alternaria*, et l'antagoniste testé, ce dernier a pu exercer un effet inhibiteur sur le développement des colonies d'*Alternaria*. Cet effet est évalué par la mesure des diamètres des colonies d'*Alternaria* cultivé en présence et en l'absence de l'antagoniste (Figure 31).

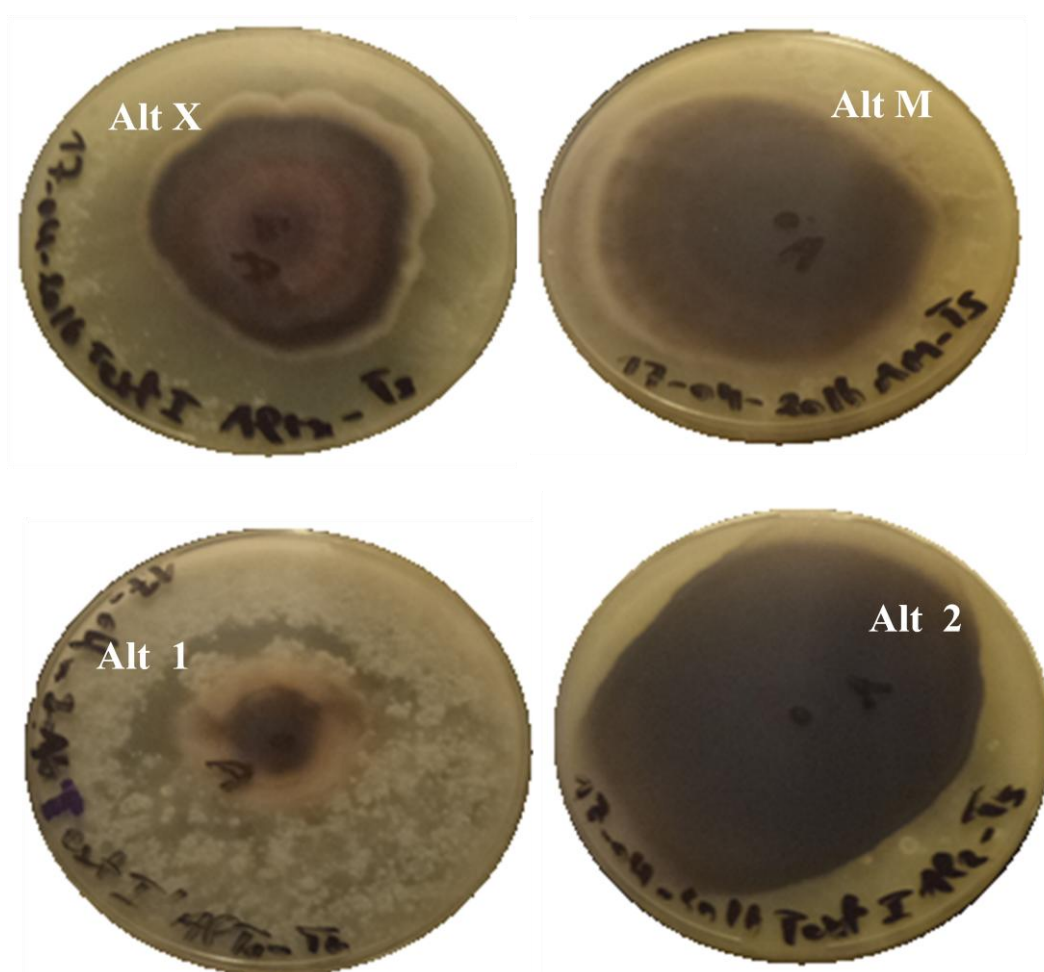


Figure 31 Effet de *T. longibrachiatum* sur *A. solani* (Alt 1, Alt X et Alt M) et *A. tenuissima* (Alt 2) par confrontation à distance sur milieu PDA après le 6^{ème} jour.

Contrairement au test de confrontation directe, ces résultats montrent le développement de la croissance mycélienne des *Alternaria* . est continue avec le temps. (Figure 32, 33, 34 et 35).

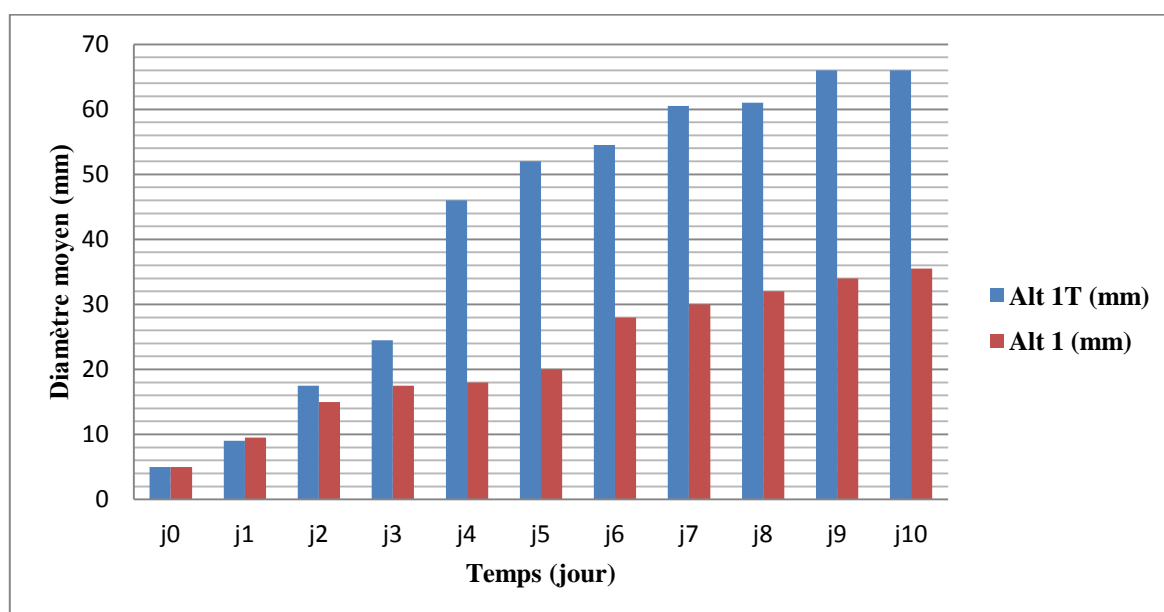


Figure 32 Cinétique de développement d'*A. solani* Alt 1 sur milieu PDA pendant 10 jours, cultivé seul et avec *T. longibrachiatum* par confrontation à distance.

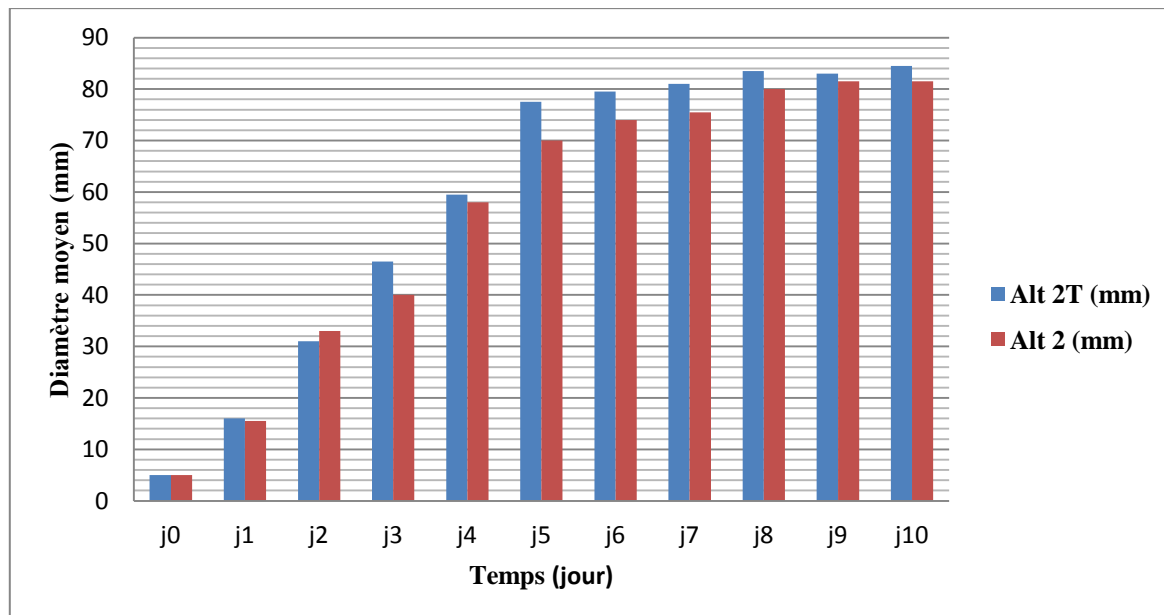


Figure 33 Cinétique de développement d'*A. tenuissima* Alt 2 sur milieu PDA pendant 10 jours, cultivé seul et avec *T. longibrachiatum* par confrontation à distance.

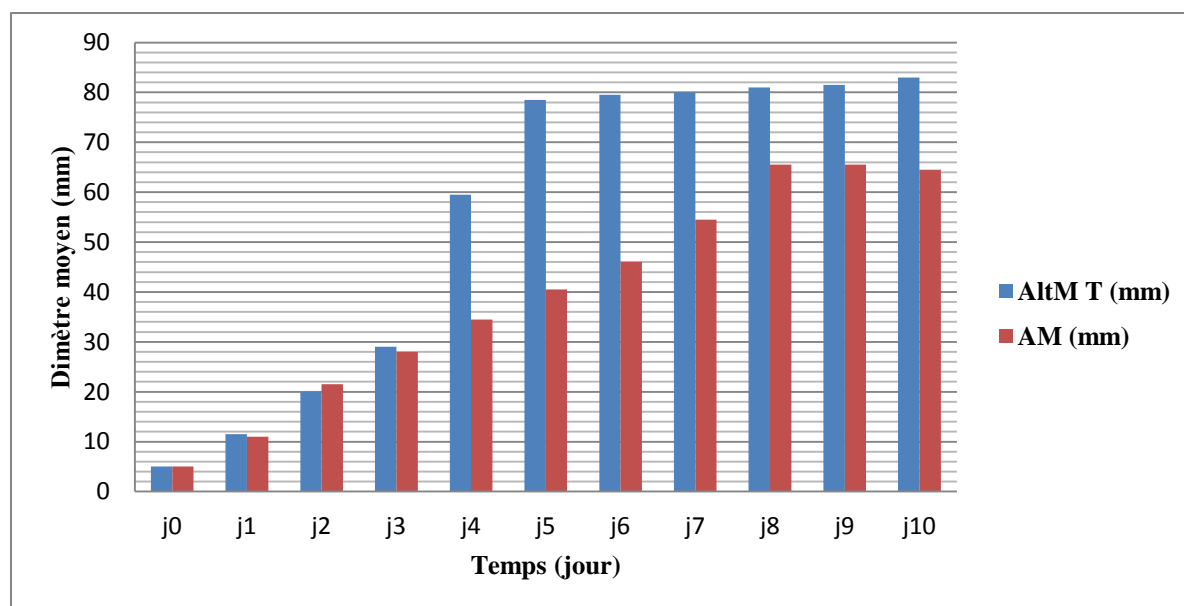


Figure 34 Cinétique de développement d'*A. solani* Alt M sur milieu PDA pendant 10 jours, cultivé seul et avec *T. longibrachiatum* par confrontation à distance.

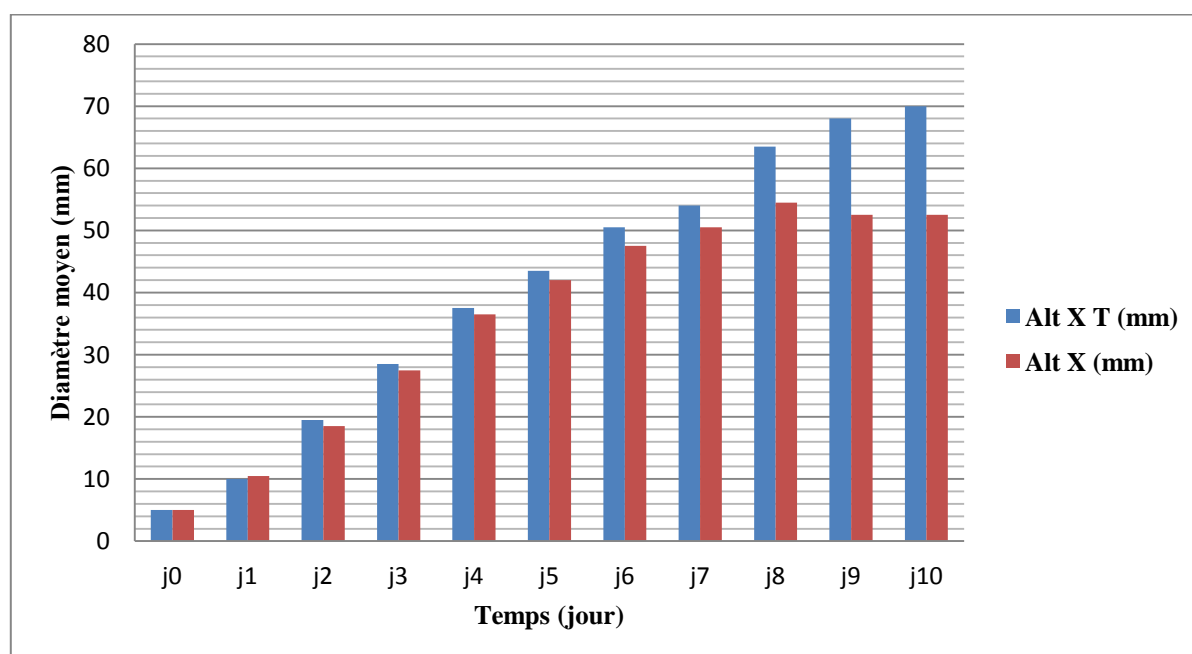


Figure 35 Cinétique de développement d'*A. solani* Alt X sur milieu PDA pendant 10 jours, cultivé seul et avec *T. longibrachiatum* par confrontation à distance.

Après le 5^{ème} jour d'incubation, les souches Alt 2 (*A. tenuissima*) et AltX (*A. solani*) semblent être les moins sensibles aux substances produites par la souche antagoniste avec un taux d'inhibition de 7%. Pendant la même période, la croissance mycélienne de la souche Alt M (*A. solani*) avec un taux d'inhibition de 32% et Alt 1 (*A. solani*) est sensiblement plus inhibée avec un taux d'inhibition de 43% (Figure 36).

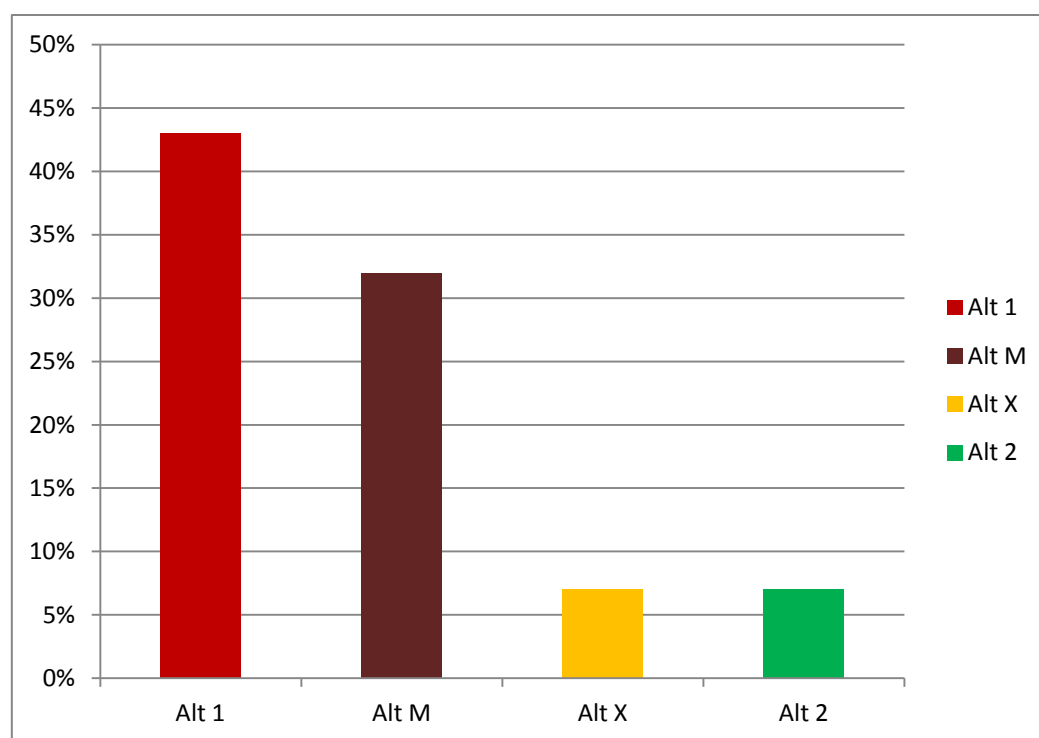


Figure 36 Estimation des pourcentages d'inhibition des souches pathogènes par les souches antagonistes.

4.7- Test de pathogénicité (*Pstula de koch*)

D'après le test de pathogénicité la maladie d'Alternariose progresse lentement les premiers jours mais s'accélère au fur et à mesure pendant la première semaine d'inoculation des plantules de la tomate.

Les résultats illustrés dans la figure (37) indiquent que tous les isolats testés d'*Alternaria* (*A. solani* et *A. tenuissima*) pouvaient infecter les plantules de la tomate causant des symptômes typiques d'Alternariose avec différents degrés de sévérité de la maladie comparativement aux témoins (Figure 38).



Figure 37 Les symptômes d'Alternariose causés par Alt 1, Alt 2, Alt M et Alt X, sur les feuilles des plantules de la tomate.



Figure 38 Les feuilles saines des plantules témoins de la tomate.

Les résultats montrent que les isolats Alt 1 et Alt M, étaient fortement pathogènes et ont causé la sévérité de la maladie la plus élevée. Les isolats Alt 2 et Alt X ont montré la plus basse sévérité de la maladie sur les plantules de la tomate (Tableau 8).

Tableau 8 : Variabilité du pouvoir pathogène des *Alternaria* (Alt 1, Alt 2, Alt M et Alt X) sur les plantules de la tomate.

	Alt 1	Alt 2	Alt M	Alt X
Symptômes	($\geq 76\%$) ± 0.84	(11-25 %) ± 0.92	(51-75%) ± 0.94	(6-50%) ± 0.95

Les résultats de ré-isolement d'après l'observation macroscopique et microscopique confirment que les souches d'*A. solani* (Alt 1, Alt M et Alt X) et d'*A. tenuissima* (Alt 2), sont phytopathogènes et provoquent la brûlure précoce de la tomate.

DISCUSSION



5- Discussion

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

La brûlure précoce peut affecter le feuillage, les tiges et dans des cas plus sévères, les fruits. C'est une maladie fongique qui affecte les cultures des *Solanacées* dans le monde entier (Batista *et al.*, 2006). Cette maladie débute sur les feuilles de la base et suivant les conditions de l'été, progresse rapidement vers le sommet (Bovey, 1972). Le rendement est réduit lorsque les plantes ne parviennent pas à fructifier (Glasscock, 1944).

En effet, le genre *Alternaria* regroupe différentes espèces phytopathogènes, susceptibles d'induire l'Alternariose. Les *Alternaria* sont des champignons très communs et cosmopolites. Ils peuvent se retrouver sur des substrats très variés : plantes, sols, textiles, graines (Linas *et al.*, 1999). En revanche, les souches d'*Alternaria* étudiées dans le présent travail, sont isolées à partir des fruits présentant les symptômes de l'Alternariose de la région d'AIN EL DEFLA, et à partir du sol des serres de la tomate de la région d'AL AWRASS. Quatre isolats d'*Alternaria sp* ont été sélectionnés et purifiés, deux isolats à partir du sol Alt1 et Alt2 et deux isolats à partir des fruits présentant les symptômes de l'Alternariose Alt M et Alt X.

Les isolats obtenus ont été identifiés selon les méthodes d'identifications classiques macroscopiques et microscopiques. En effet, cette étude a montré que les colonies présentent deux aspects différents à savoir, colonie plate et duveteuse à laineuse. Les couleurs, aussi, étaient différentes variant entre le blanc-gris, noir verdâtre, et brun olive. Cependant, l'étude microscopique effectuée sur les isolats obtenus, a montré que les isolats phytopathogène appartiennent au genre d'*Alternaria*. Trois souches (Alt 1, Alt X et Alt M) ont été *Alternaria solani* appartient au groupe d'espèce à grosses spores. Caractérisé par les conidies solitaires brunes, muriformes, à bec filamenteux, supportées individuellement ou rarement en chaîne de deux sur conidiophores simples et séptées, bruns.

Une souche (Alt 2) a été constaté l'espèce *Alternaria tenuissima*, qu'il a des conidiophores solitaires ou dans des groupes, simpl, bruns, lisse moins cylindriques et septés. Les conidies

ont été solitaires ou dans les chaînes courtes, directement ou incurvé, ellipsoïde graduellement au bec qui est jusqu'à la moitié, longueur de la conidie habituellement plus courte.

Dans littérature, *Alternaria solani* est signalé depuis plusieurs décennies comme pathogène des *Solanacées* et a longtemps été décrit comme affectant la tomate, l'aubergine, la pomme de terre, ainsi que plusieurs membres de cette famille botanique (Blancard *et al.*, 2012). Cette espèce appartient au groupe d'espèces à grosses spores (section porri) au sein du genre *Alternaria*, caractérisé par les conidies solitaires supportées individuellement ou rarement en chaîne de deux sur des conidiophores simples et séptés (Neergaard, 1945; Ellis et Gibson, 1975), elles mesurent entre 150 et 200 µm de long (de la base à l'extrémité du bec) cette espèce est en général identifiable comme l'agent pathogène lié à la brûlure foliaire de pommes de terre (Simmons, 2007).

Par ailleurs, *A. tenuissima* peut infecter les feuilles de pistache aux Etats-Unis (Pryor et Michailides, 2002), les fruits de pomme en Afrique du Sud (Serdani *et al.*, 2002), grains de céréale en Europe du nord (Andersen *et al.*, 1996; Kosiak *et al.*, 2004) et la Russie (Gannibal, 2004), noix et noisette (Belisario *et al.*, 2004), fruit de fraise en Corée (Lee et Kim, 2001) et févepart au Japon (Honda *et al.*, 2001).

Les champignons du genre *Trichoderma*, connus depuis 1887 pour leurs propriétés antagonistes, ont été utilisés comme agents de lutte biologique contre un large spectre de phytopathogènes. Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin (Roquebert, 1996; Esposito et Silva, 1998). Les *Trichoderma sp.* terrestres se développent quasiment dans tous les sols (forestiers ou cultivés) (Roquebert, 1996; Esposito et Silva, 1998). Dans le présent travail, l'isolement de l'agent antagoniste est effectué à partir de différents sols des zones arides et à partir de la zone de la rhizosphère des plantes de l'Est Algérien. L'isolement a été réalisé selon la méthode de suspension- dilution, à partir du sol agricole de palmeraie de la région de MEGARINE (OUARGLA), à partir du sol agricole de palmeraie de la région de RANO, située à la wilaya de Tougourt et du sol de la zone de la rhizosphère des plantes située à Constantine (Chaab-Elrssas). Un isolat fongique de *Trichoderma sp* a été sélectionné à partir du sol agricole de palmeraie de la région de MEGARINE (OUARGLA).

Cournut (1984); Landreau, (2001); Kubicek *et al.* (2003) ont montrés que l'aspect macroscopique des *Trichoderma sp.* est apprécié à partir de cultures sur géloses appropriées,

réparties en boîtes de Pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes, existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogénèse. En effet, les résultats de ce travail montrent les caractères macroscopiques de l'agent antagoniste (colonie verdâtre, le contour est blanc et le revers est incolore). L'étude microscopique a été révélée que l'isolat antagoniste caractérisé par des filaments séptés, conidiophores long et peu ramifiés, conidies ovoïdes ou elliptique lisses.

D'après les observations macroscopiques et microscopiques, il a été constaté que l'isolat antagoniste appartient de l'espèce *Trichoderma longibrachiatum* qu'il a des filaments septés, conidiophores long et peu ramifiés, conidies ovoïdes lisses (Vicente *et al.*, 2001; Vladimir Sanchez *et al.*, 2007).

Les propriétés antagonistes des *Trichoderma* sont connues depuis longtemps comme il est mentionné précédemment. Cependant, l'étude approfondie du phénomène d'antagonisme et de son application comme moyen de lutte à l'égard des parasites des plantes cultivées n'a débuté qu'entre les deux guerres mondiales. Les modèles étudiés s'intéressaient essentiellement aux parasites du sol mais déjà, en 1952, Wood signalait l'efficacité de *Trichoderma viride* pour contrôler *Botrytis cinerea* sur la laitue.

Dans cette étude, l'agent antagoniste montre une bonne activité inhibitrice vis-à-vis les souches pathogènes des *Alternaria* (*A. solani* et *A. tenuissima*). Au-delà de cette période et au terme de six jours, les isolats antagonistes envahissent les colonies et sporulent même sur celles-ci. Cette action est expliquée par Daami-Remadi et Mahjoub (2001). L'envahissement du mycélium du pathogène par *Trichoderma* a été également observé par Benhamou et Chet (1997) en réalisant une confrontation directe sur milieu de culture entre cet antagoniste et un autre champignon tellurique, le *Pythiummultimum* et ce, au bout de quatre à cinq jours après l'inoculation. D'après Davet, (1983) et Meslouhi, (1989), cette action inhibitrice est due à des substances, de nature chimique, libérées par les souches de *Trichoderma* (phénomène d'antibiose). La capacité à produire de telles substances varie selon les isolats d'une même espèce ou d'espèce différente. BOUZIANE1 *et al.* (2011) ont aussi étudié l'effet antagoniste de *Trichoderma viride* vis-à-vis des différents isolats fongiques infectant la plante *zea mays*.

La souche de *Trichoderma viride* a été isolée à partir du sol de Jijel où règne un climat humide. Le test de confrontation directe entre *Trichoderma viride* et les isolats fongiques a été réalisé sur milieu PDA.

On conclut à partir de la méthode de confrontation directe entre les agents pathogènes *Alternaria solani* et *Alternaria tenuissima* testé et l'agent antagoniste (*Trichoderma sp.*) que ce dernier inhibe la croissance mycélienne des agents pathogènes par différents mécanismes qui se mettent en évidence dans ce genre de confrontation.

L'observation des différents résultats de confrontation directe montre un grand pourcentage d'inhibition significatif spécifiquement contre; *A. solani* (Alt M) 59% ; *A. tenuissima* (Alt 2) 57% ; *A. solani* (Alt X) 50% et *A. solani* (Alt 1) 41%.

Des observations microscopiques réalisées au niveau de la zone de contact entre l'agent antagoniste et les souches d'*Alternaria*, montrent un enroulement du mycélium d'antagoniste sur celui d'*Alternaria*, provoque une lyse. Des résultats similaires ont été obtenus avec *Trichoderma lignorum*, capable de s'enrouler sur le mycélium du *Rhizoctonia solani*, causant ainsi une dissolution du cytoplasme du pathogène (Howell, 2003).

Dans ce travail, la confrontation indirecte réalisée entre *Trichoderma* et *Alternaria*, montrent un ralentissement de la croissance mycélienne des souches d'*Alternaria* exercé par les souches antagonistes comparativement aux témoins. Il ressort de ce résultat, que malgré l'absence d'un contact direct entre *Alternaria* et *Trichoderma*, ce dernier a pu exercer un effet inhibiteur sur le développement des colonies d'*Alternaria*. Les souches Alt 2 (*A. tenuissima*) et AltX (*A. solani*) semblent être les moins sensibles aux substances produites par la souche antagoniste avec un taux d'inhibition de 7%; Alt M (*A. solani*) avec un taux d'inhibition de 32% et Alt 1 (*A. solani*) est sensiblement plus inhibée avec un taux d'inhibition de 43%. En effet, selon Dennis et Websters, (1971) les *Trichoderma* émettent des substances chimiques toxiques qui sont des dérivés de l'hydrazine présents sous formes des substances volatiles importantes. Ces mêmes résultats ont été remarqués, par Hibar *et al.* (2005). Ces auteurs ont expliqué l'aptitude de *Trichoderma* à produire des substances volatiles, capables de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène.

Le test de pathogénicité a montré une variation dans la virulence des différents isolats d'*Alternaria*. *A. solani* f. sp. *lycopersici*, Syn. *A. aborescens* décrit par Simmons (1999),

induit des nécroses sur feuilles et des chancres brun foncé sur les tige souvent mortels suivis par un flétrissement des variétés sensibles de tomates par l'action des AAL-toxines spécifiques à l'hôte (Grogan *et al.*, 1975; Weir *et al.*, 1998; Mesbah *et al.*, 2000). En outre, de nombreuses espèces d'*A. alternata* et *A. tenuissima* produisent des toxines spécifiques (THS) qui sont des facteurs de virulence essentiels déterminant leur gamme d'hôtes (Kohmoto *et al.*, 1995), les plantes répondent par dépôt de lignine sur la paroi cellulaire des cellules infectées (Von Ramma, 1962) afin de limiter la propagation du pathogène. Ainsi, Nutsugah *et al.* (1994) ont trouvé que les taches étroites avec le halo jaune autour de cela parfois mené à une nécrose prolongée entourées par le jaunissement observé sur les feuilles malades et a été présumé d'être dû aux toxines de l'agent pathogène. Des feuilles plus anciennes sont habituellement affectées avant que la maladie fonctionne vers le haut de la plante comme observé avec Kumar et Srivastava (2013). En effet, selon le test de pathogénicité de ce travail, la maladie d'Alternariose progresse lentement les premiers jours mais s'accélère au fur et à mesure pendant la première semaine d'inoculation des plantules de la tomate. Les résultats indiquent que tous les isolats testés d'*Alternaria* (*A. solani* et *A. tenuissima*) pouvaient infecter les plantules de la tomate causant des symptômes typiques d'Alternariose avec différents degrés de sévérité de la maladie comparativement aux témoins. Les observations sur le développement périodique de la maladie sont plus ou moins identiques à ceux décrites par Stammler *et al.* (2014).

Dans cette étude, les résultats montrent que les isolats Alt 1 et Alt M, étaient fortement pathogènes et ont causé la sévérité de la maladie la plus élevée telle que (Alt 1 \geq 76 %; Alt M 51-75%). Par ailleurs, Alt 2 (11-25 %) et Alt X (6-50%) ont montré la plus basse sévérité de la maladie sur les plantules de la tomate.



CONCLUSION

6- Conclusion et perspectives

Dans cette étude, l'exploration des échantillons du sol provenant de différents sites de la zone aride de sahra algérienne a abouti à la sélection d'un isolat fongique à effet antifongique contre l'agent de l'Alternariose.

Quatre isolats d'*Alternaria* sont obtenus, deux isolats à partir des fruits de la tomate présentant les symptômes de l'Alternariose et deux isolats à partir du sol d'une serre de la tomate de la région de Constantine.

L'identification macroscopique et microscopique de l'agent antagoniste a montré qu'il est lié à *Trichoderma longibrachiatum*. Les souches d'*Alternaria* ont été identifiées comme *Alternaria solani* pour (Alt 1, Alt X et Alt M) et *Alternaria tenuissima* pour (Alt 2).

Le test de pathogénicité a montré que les quatre souches d'*Alternaria* sont phytopathogène.

La lutte chimique utilisée actuellement est certes efficace sur un grand nombre de ce pathogène mais son utilisation répétitive et massive a induit notamment une pollution environnementale et l'apparition de souches pathogènes résistantes. Alors, la lutte biologique pourrait représenter une solution alternative.

D'après cette étude, l'agent de *T. longibrachiatum* Peut-être utilisé comme un bon traitement biologique contre la brûlure précoce de la tomate en Algérie. Peu de travaux ont été réalisés à propos de ce sujet, ce qui nécessite d'autres recherches scientifiques à approfondir. Il serait très intéressant aussi de poursuivre ces recherches en étudiant le test *in vivo* de la souche *T. longibrachiatum* sur cette maladie phytopathogène étudiée. Elargir la gamme des espèces antagonistes étudiés afin d'approfondir les résultats et de bien comprendre les interactions entre les espèces. En effet, l'identification des souches nécessite une étude moléculaire pour compléter leur identification.



RÉSUMÉ

7- Résumé

26 isolats fongiques sont obtenus à partir des fruits présentant les symptômes de l'Alternariose et à partir du sol d'une serre de la tomate de la région de Constantine. Quatre isolats d'*Alternaria sp* ont été sélectionnés, trois isolats (Alt 1, Alt X et Alt M) sont *Alternaria solani* et un isolat (Alt 2) a été identifié comme *Alternaria tenuissima*.

L'exploration des échantillons en provenance de divers environnements de sahara Algérienne (Megarine de Wergla) et de l'Est Algérien (Constantine) a abouti à l'obtention de 34 isolats fongiques. Un isolat de *Trichoderma* (Trich S) a été sélectionné pour leur capacité à inhiber la croissance des souches d'*Alternaria*. L'identification macroscopique et microscopique a montré qu'il est lié à *Trichoderma longibrachiatum*.

Le calcul du taux d'inhibition de la croissance fongique par *T. longibrachiatum*, réalisé, sur *A. solani* (Alt 1, Alt X et Alt M), et *A. tenuissima* (Alt 2), a permis d'obtenir des valeurs variant entre 41% et 59% suivant l'isolat.

Les confrontations directes et à distance entre *T. longibrachiatum* et les quatre souches d'*Alternaria*, ont été étudiées. Dans la confrontation directe, *T. longibrachiatum* a influencé positivement contre ces souches fongiques.

Les résultats de postula de Koch pour l'évaluation de la sévérité des *Alternaria sp.* (*A. solani* et *A. tenuissima*) montrent que les quatre souches fongiques sélectionnées (Alt 1, Alt 2, Alt M et Alt X) provoquent la brûlure précoce de la maladie.

8- Abstract

26 fungal isolates were obtained from fruits with symptoms of early blight and from a tomato greenhouse soil from the Constantine area. Four isolates of *Alternaria sp* were selected, three isolates (Alt 1, Alt X and Alt M) are identified as *Alternaria solani* and one isolate (Alt 2) was identified as *Alternaria tenuissima*.

Exploration samples from various Algerian Sahara environments (Megarine of Wergla) and Eastern Algeria (Constantine) resulted in obtaining 34 fungal isolates. A *Trichoderma* isolate (Trich S) has been selected for its ability to inhibit the growth of *Alternaria* strains. Macroscopic and microscopic identification showed that it is related to *Trichoderma longibrachiatum*.

The inhibition rate values of fungal growth by *T. longibrachiatum*, conducted on *A. solani* (Alt 1, Alt X and Alt M) and *A. tenuissima* (Alt 2) ranged between 41% and 59% depending on the isolate.

The direct and distance confrontations between *T. longibrachiatum* and the four strains of *Alternaria* were studied. In direct confrontation, *T. longibrachiatum* influenced positively against these fungal strains.

The results of Khoch postulates for severity evaluation of *Alternaria sp.* (*A. solani* and *A. tenuissima*) show that the four selected fungal strains (Alt 1, Alt 2 Alt M and Alt X) cause early burn disease.

9 - ملخص

تم الحصول على 26 عزلة فطرية من فواكه تحمل اعراض مرض الالطماطم لنبات *Alternariose* المزروع في تربة البيوت البلاستيكية بناحية قسنطينة , تم اختيار اربع عزلات من فطر ال *Alternaria*, ثلاثة منها عرفت *Alt X* و (*Alt 1*, *Alt M*, ب *Alternaria solani* اما الرابعة *Alt 2* فعرفت ب *Alternaria tenuissima*

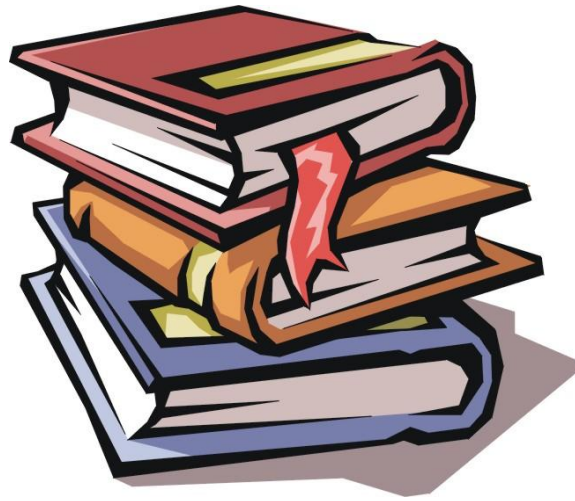
من الدراسة التشخيصية لعينات مختلف الاوساط بالصحراء الجزائرية (مقارين بورقلة) و كذا الشرق الجزائري (قسنطينة) تم الحصول على 34 عزلة فطرية, اختير منها العزلة *Trichoderma (Tricho S)* لقدرتها العالية لتثبيط نمو عزلات *Alternaria*, التعريف بالدراسة الماكروسكوبية و الميكروسكوبية بين ان لها علاقة ب *Trichoderma longibrachiatum*.

ان حساب نسبة التثبيط لنمو الفطريات بواسطة *T. longibrachiatum* التي تمت على *A. solani* (*Alt X*) و (*Alt M*, *Alt 1*) سمحت بالحصول على قيم تتراوح بين 41% و 59% حسب العزلات .

ان المواجهة المباشرة و غير المباشرة (عن بعد) التي تمت بين *T. longibrachiatum* و الاربع عزلات *Alternaria* المدروسة حيث ان المواجهة المباشرة للعزلة *T. longibrachiatum* بينت قدرة ايجابية ضد العزلات الفطرية.

ان نتائج فرضية Koch لغرض تقييم شراسة عزلات *Alternaria sp.* (*A. tenuissima*, *A. solani*) بينت ان الاربع عزلات المختارة (*Alt X*) و (*Alt 1*, *Alt 2*, *Alt M*) قد تؤدي الى حروق مبكرة للمرض.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES



10- références bibliographiques

Agrios, GN. (2005). Plant pathology. 5th ED. Elsevier, London. 922 :45.

Ait-Lahsen H., Soler A., Ry M., De la cruz J., Monte E., Llobell A. (2001). An antifungal exo-a-1,3-glucanase (AGN13.1) from the biocontrol fungus *Trichoderma harzainum*. Appl. Environ. Microbiol., 67, 5833-5839.

Andersen, B., Thrane, U., Svendsen, A., & Rasmussen, I. A. (1996). Associated field mycobiota on malt barley. Canadian Journal of Botany, 74, 854–858.

Anonyme A. (1995). Maladies et ravageurs de la tomate, rapport d'activité, INPV, Alger. P18.

Anonyme B. (1995). La culture de la tomate sous serre, ITCMI, Guide pratique ITCMI Staoueli).P20.

Anonyme. (2003). Cultures horticoles. Programme National de Transfert et Technologies en Agriculture (PNTTA). p 9.

Anonyme₁. (2010). Caractéristiques et importance de la tomate. INRA. p 2-8.

Anonyme₁. (2011).<http://fr.Wikipedia.org/wiki>.

Anonyme₂. (2009). Cultures maraichères. Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales. ONTARIO. p10.

Anonyme₄. (2006). Principaux champignons allergisants.

ANONYME₄. (2009). Nouveau prédateur de la tomate. Etats des lieux et programme d'action. Note de l'institut National de Production des végétaux (INPV).

Badillet, G. (1991). Les Alternarioses cutanées. Revue générale. J. Mycol. Méd. 118 : 59-71.

Barksdale T.H., Stoner A.K. (1977). A study of the inheritance of tomato early blight resistance. Plant Dis. Rep 61: 63-65.

Bash, RK. Portnoy JM. (2001). The role and abatement of fungal allergens in allergic diseases. J. allergy Clin. Immunol. 107: 430- 440.

Basu,PK. (1974). Measuring early blight, its progress and influence on fruit losses in nine tomato cultivars. *Can Plant Dis Surv.*54 : 45-51.

Batista D. C., Lima M.A, Haddad F., Maffia L.A., Mizubuti E.S.G. (2006). Validation of decision support systems for tomato early blight and potato late blight, under Brazilian condition. *Crop Protection.* 25: 664-670.

Belisario, A., Maccaroni, M., Coramusi, A., & Corazza, L. (2004). First report of *Alternaria* species groups involved in disease complexes of hazelnut and walnut fruits. *Plant Disease*, 88, 426.

Benhamou N., Chet I. (1996). Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* 86, p. 405–416.

Benitez T., Rincon A. M., Limon M. C., Codon A. C., (2004). Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. *Int.Microbiol.*, 7 : 249-260.

Benton Jones J. (2007). *Tomato Plant Culture: In the Field, Greenhouse, and Home Garden.* 2^{ème} (ed) CRC Press. P5.

Bissett, J. (1984). A revision of the genus *Trichoderma*. L. Section *Longibrachiatum* *Can. J. Bot*, 62 : 924-931.

Bissett, J. (1991). A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Pachybasium*. (a) *Can. J. Bot*, 69 : 2373-2417.

Bissett, J. (2004). Commentaires de l'adresse internet suivante : http://www.Medicalglossary.org/fungi_mitosporic_fungi_definitions.html.

Blancard D., Laterrot H., Marchoux G., Candresse T. (2009). *Les maladies de la tomate.* INRA.

Blancard D. (1988). *Maladies de la tomate observée, Identifier, Lutte,* Versailles, INRA.

Blancard, D. Laterrot, H. Marchoux, G. Candresse, T. (2012). *A colour Handbook- Tomato Diseases : identification, biology and control.* Manson publishing Ltd. p 688.

Blumenthel C. Z., (2004). Production of peptide metabolites in *Aspergillus niger*, *A. oryzae* and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. Regul. Toxicol. pharmacol., 39 : 214-228.

Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J-J., Vayssier Y and Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. Pp., 34-428.

Boubidi Fatima. (2015). Effets de deux barèmes de stérilisation sur la qualité technologique, biochimique et nutritionnelle du triple concentré de tomate. Thèse de Doctorat en Biochimie Appliquée. Université Badji Mokhtar Annaba.

Bourgeois C.M. et Leverau J.Y. (1980). Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire. Tome 3. Contrôle microbiologique. Edition technique et documentation. Lavoisier Paris.

Bouziane Z., Dhimat L., Kacem Chaouche N et Abdel Aziz. W. (2011). La compétition de *Trichoderma viride* vis-a-vis des souches fongiques pathogènes de maïs. Sciences & technologie C- N° 33, pp.31-37.

Bovy R. (1972). La défense des plantes cultivées Traite pratique de phytopathologie et de zoologie agricole. 6^{ème} (ed). Payot Lausanne.

Brunner K., Peterbauer C.K., Mach R. I., Lorito M., Zeilinger S., Kubicek C. P., (2003). The NagI N-acetylglucosaminidase of *Trichoderma atroviride* is essential for chitinase induction by chitin and of major relevance to biocontrol Current. Genetics, 43 : 289-295.

Calistru C., Mclean M., Berjak P., (1997). In vitro studies on the potentiel for biological control of *Aspergillus flavus* and *Fusarium moniliforme* by *trichoderma* species. Mycopathologia, 137 :115-124.

Castro A. M., Pedro K. C., Cruz J. C., Ferreira M. C., Leite S. G., Pereira N., (2010). *Trichoderma harzianum* IOC-4038 : a promising strain for the production of a cellulolytic complex with significant b-glucosidase activity from sugarcane bagasse. Appl. Biochem. Biotechnol., 162 :2111-2122.

Causse M., Caranta C., Saliba-Colombani V., Moretti A., Damidaux R., Rousselle P. (2000). Valorisation des ressources génétiques de la tomate par l'utilisation de marqueurs moléculaires. Cahiers d'études et de recherches francophones/Agricultures. INRA. France. Vol 9, 3, 197-210.

Chaux C.L. et Foury C.L. (1994). Cultures légumières et maraichères. Tome III: légumineuses prtagères, légumes fruit. Tec et Doc Lavoisier, Paris. p 563.

Cirad. (2002). Mémento de l'agronome. (ed). Quae. p.1045-1046

Corbineau et Core A. (2006). Dictionnaire de la biologie des semences et des plantules. Ed . Tec et Doc. Lavoisier. p 226.

Cournut, B. (1984). Le genre *Trichoderma* hyphomycètes. Th.: Pharmacie: Marseille : 77 p.

CRIQUET S. and CALVERT V. (2008). IMEP UMR CNRS 6116. Planche Tp mycologie publié sur internet le 03/03/2008.

D'Amato, G. spiexsma, FThM. (1995). Aerobiologie and clinical aspects of mold allergy in Europe. Allergy. 50 : 870-877.

Daami- Remadi M. and El Mahjoub M. (2001). Lutte biologique contre la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre par *Trichoderma harzianum*. Ann. l'INRAT 74, p. 167–186.

Datar V.V., Mayee C.D. (1981). Assessment of losses in tomato yield due to early blight. Indian Phytopath 34: 191-195.

Datar, VV. Mayee, CD . (1981). Assessment of loss in tomato yield due to early blight. Indian Phytopathologie. 34 : 191- 195.

De la cruz J., Hidalgo-Gallego A., Lora J. M., Benitez T., Pintoro J. A., Llobell A., (1992). Isolation and characterization of three chitinases from *Trichoderma harzianum*. J. Biochem., 206 :859-867.

Degenkolb T., Berg A., Gams W., Schlegel B., Grafe U. (2003). The Occurrence of Peptaibols and Structurally Related Peptaibiotics in fungi and their mass spectrometric Identification via diagnostic Fragment Ions. J. Peptide sci., 9: 666-678.

Degenkolb T., Dohren H. V., Nielsen N. F., Samuels G. J., and Bruckner H. (2008). Recent advances and future prospects in peptaibiotics, hydrophobin, and mycotoxin research, and their importance for chemotaxonomy of *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Chem. Biodivers.*, 5 : 671-680.

Denis C. et Webster I. (1971). « Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* (II) production of volatile antibiotic. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 5741-48.

Dutkiewicz, J. (1997). Bacteria and fungi in organic dust as potential health hazard. *Ann. Agric. Environ. Med.* 4 : 11-16.

Elliott, JA. (1917). Taxonomic characters of the genera *Alternaria* and *Macrosporium*. *Amer. J. of Bot.* 4 : 439-476.

Ellis MB ,Gibson, IAS. (1975). *Alternaria solani* no. 45 set 48. Commonwealth Mycological Institute, Kew,Surrey,UK.

Ellis, M. B. (1971). Dematiaceous hyphmycetes. *Kew.* p 608.

Emeryk, A.Chojna, A. Bartkowiec, K. Emeryk, M. Postepski, J. (2004). Prevalance of asthma and some respiratory symptoms in the years 1995 and 2011 in schoolchildren from rural regions of Poland . *Ann. Agric. Environ. Med.* 11 : 63-66.

Erikson, OE. Hawksworth, DJ. (1991). Outline of ascomycetes. *Syst. Ascomycet* 9 : 39-271.

Esposito E. et Silva M. Systematics and environmental application of genus *Trichoderma*.(1998). *Crit. Rev. Microbiol.*, 24(2) : 89-98.

Esquivel, EA. (1984). *Pleospora solani* sp. nov, teleomorphosis of *Alternaria solani* (Ell.& Mart.) Jones & Grout. *Phytopathology.* 74 : 1014.

Eziashi E. L., Uma N. U., Adekunle A.A., Airede C. E. (2006). Effect of metabolites produced by *trichoderma* species against *Ceratocystis paradoxa* in culture medium. *African journal of biotechnology*, 5 :703-706.

FAVIER J., IRELAND-RIPERT J., TOQUE C. and FEINBERG M. (2003). *Répertoire Général des Aliments.* Ed. Ciquel. p 40-48.

Fraser, JT. (2002). Two species of *Alternaria* cause early blight of potato (*Solanum tuberosum*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*). Thesis. Master of science. Cornell University. p 72.

Fries, EM. (1832). Systema mycologicum. E. Moritz, Greifswald. Vol. 261- 524

Gaigole A. H., Wagh G.N., Khadse A. C. (2011). Antifungal activity of *Trichoderma* species against soil borne pathogen. Asiatic Journal of biotechnology Resources, 2 : 461-465.

GALLAIS A. et BANNEROT H. (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées objectif et critères de selection. INRA, Paris. p 765.

Gallais A., Bannerot H. (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection. (ed) INRA. Paris.

Gams, W. and Bissett J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma* sp. *Trichoderma & Gliocladium*, Volume1: Basic Biology, Taxonomy and Genetics. :<http://nt.ars.grin.gov/taxadescriptions/keys/Genusoverview.cfm>.

Gannibal, Ph. B. (2004). Small-spored species of the genus *Alternaria* on grasses. *Micologiya i Fitopatologiya*, 38, 19–28 (In Russian).

Geremia R. A., Goldman G, H., Jacobs D., Ardiles W., Vila S. B., Van Montagu M., Herrera-Estrella A. (1993). Molecular characterization of the proteinase-encoding gene, *prb1*, related to mycoparasitism by *Trichoderma harzianum*, *Mol. Microbiol.*, 8 : 603-613.

Ghisalberti E.I., Sivasithamparam K. (1991). Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* sp. *soil Biol. Biochem.*, 23 : 1011-1020.

Glasscock H.H., Ware W.M. (1944). *Alternaria* blight of tomatoes. *Agriculture* p 51,417-420.

Grogan, RG. Kimble, KA. Misaghi, I. (1975). A stem canker disease of tomato caused by *Alternaria alternata* f. sp. 145, 7-18.

Guiraud J. (1998). *Microbiologie alimentaire*.p 8-101.p 330 Edition Donod, Paris.

Gwary D.M., Nahunnaro H. (1998). Epiphytotics of early blight of tomatoes in Northeastern Nigeria. *Crop Prot* 17: 619-624.

Gwary, DM. Nahunnaro, H. (1998). Epiphytotics of early blight of tomatoes in Northeastern Nigeria. *Crop Protection*. 17 : 619-624.

HACHEMI, B. (1999). Evolution de la croissance de la production de deux variétés de tomate industrielle, Mémoire d'Ingénieur d'état en Agronomie, Option : Culture Maraichère, p74.

Harman G. E. (2011). *Trichoderma* –not just for biocontrol anymore. *Phytoarasitica*, 39 :103-108.

Harman, G.E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma spp.* *Phytopathology* 96 : 190-194.

Heiser C., Anderson G. (1999). New solanums. In: Janick.j. (ed.) *Perspectives on New Crops and New Uses*. ASHS Press. Alexandria. Virginia. P 379-384.

Heller R. (1981). *Physiologie végétale*. Tome I: nutrition. 2^{ème} Edition Masson.

Hibar K., Daami-Remadi M., Khiareddine H., El Mahjoub M. (2004). Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum f. sp. radicislycopersici*. *Biotechnol. Agron. Soc.* 9 (3), 163–171.

Hmouni A., Hajlaoui M. R., Mlaiki A. (1996). Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures de tomate en Tunisie. *OEPP. /EPPO. Bull.*, 26 : 697-705.

Honda, Y., Rahman, M. Z., Islam, S. Z., & Muroguchi, N. (2001). Leaf spot disease of broad bean caused by *Alternaria tenuissima* in Japan. *Plant Disease*, 85, 95.

Howell CR. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87, p. 4–10.

ITCMI. (2010). Fiche techniques valorisée des cultures maraichères et Industrielles: La culture de tomate : Institut Technique Des Cultures Maraichères et Industrielles. Staoueli- Alger.

Jeannequin B., Dosba F., Amiot-Carlin MJ. (2005). *Fruits et Légumes*.

Joly, P. (1964). Le genre *Alternaria*. *Encyclopédie Mycologique*, Ed. J. P. Lechevalier. Paris. p 250.

Jones J.B., Jones J.P., Stall R.E., Zitter T.A. (1997). *Compendium of Tomato Diseases* p. 1-8, 13-15, 28-29. APS press.

Keissler, K. von. (1912). Zur Kenntnis der Pilzflora Krains. Beih. Bot. Centralbl. 29 : 395- 440.

Keszler A., Forgacs E., Kotail., Vizcaino J.A., Monte E., Garcia-Acha I., (2000). Separation and identification of volatile components in the fermentation broth of *Trichoderma atroviride* by solidphase extraction and gas chromatography-mass spectroscopy. J. chromatograph. Sci., 38 : 421-424.

Kolev N. (1976). Les cultures maraichères en Algérie. Tome I. Légumes fruits. Ed. Ministre de l'Agriculture et des Reformes Agricoles. p 52.

Kosiak, B., Torp, M., Skjerve, E., & Andersen, B. (2004). *Alternaria* and *Fusarium* in Norwegian grains of reduced quality—a matched pair sample study. International Journal of Food Microbiology, 93, 51–62.

Kubicek, C.P ; Bissett, J. ; Druzhinina, I., Kullinig-Gradinger, C. et Szakacs, G. (2003). Genetic and métabolic diversity of *Trichoderma sp.*; a case study on south-east asian isolates. Fungal Genet. Biol., 38 (3): 310-319.

Kumar S, Srivastava K. (2013). Screening of tomato genotypes against early blight under field condition. The Bioscan, An international quarterly journal of life sciences 8: 189-193.

Landreau, A. (2001). Métabolites d'une souche de *Trichoderma koningii Oudemans* isolée du milieu marin : Etude chimique, biologique et risques pour les coquillages en culture. Th. : Pharmacie : Nantes : 201 p.

Latha P., Anand T., Ragupathi N., Prakasam V., Samiyappan R. (2009). Antimicrobial activity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and Zimmu leaf extract against *Alternaria solani*. Biological Control, 50: 85–93.

LATIGUI A. (1984). Effets des different niveaux de fertilization potassique sur la fructification de la tomate cultivée en hiver sous serre non chauffée. Thèse Magister. INA El-Harrach.

Laumonier R. (1979). Cultures légumières et maraichère. Tome III. Ed. Baillier, Paris. p 279.

Lebeouf J.M. (2004). Effet des temperatures extremes sur les cultures de tomate et de poivron. L'ONTARIO, Canada. p 5-18.

Lee, H. B., & Kim, C. -J. (2001). First report of strawberry fruit rot caused by *Alternaria tenuissima* in Korea. *Plant Disease*, 85, 563.

Leuchtmann, A. ; Petrini, O. & Samuels, G. (1996). Isozyme subgroups in *Trichoderma* section *Longibrachiatum*. *Mycologia*, 88 (3) : 384-394.

Lillard-Roberts, S. 2004. *Trichoderma harzianum*. *Mold-Help* [en ligne]. [consulté le 21 octobre 2004]. Disponible sur : <http://mold-help.org/content/view/431/>.

Lin, M.D., Morassin, P. Recco. (1999). Actualités sur *Alternaria* : écologie, *Revue Française d'allergologie*. 349- 355.

Logrieco, A. Moretti, A. Solfrizzo, M. (2009). *Alternaria* toxins and plant diseases : an overview of origine, occurrence and risks. *World Mycotoxin Journal*. 2 (2) : 129-140.

Lorito M., Harman C. K., Di Pietro A., Woo S. L., Harman G. E., (1994). Purification, characterization and synergistic activity of a glucan 1,3-beta glucosidase and an N-acetylglucosaminidase from *Trichoderma harzianum*, *Phytopathology*, 84 :398-405.

Maslouhi A., (1989). Contribution à l'étude in vitro des antagonistes de *Fusarium oxysporum F.sp Albedinis* ,agent causal du Bayoud, pp 4-8. Thèse de doctorat. INA, Marrakech (Maroc).

Mesbah, LA. Van der Weer, GM. Nijkamp, HJJ. Hille, J. (2000). Sensitivity among species of *solanaceae* to AAL toxins produced by *Alternaria alternata f. sp.lycopersici*. *plant pathology*

Messiaen, CM. Blancard, D. Rouxel, F. Lafon, R. (1991). Les maladies des plantes maraichères, INRA Paris. p 552.

Messiaen, E. (1991). Les maladies des plantes maraichères, Edition INRA, p 546.

Mohamed-benkada Mustapha. (2006). Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles : substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Th. : Pharmacie : Nantes : 9,10, 11,12,13,p.

Moulay, S. (1986). Contribution à l'étude du Fusariose de la tomate sur le littoral Algérois, p49. Mémoire d'ingénieur agronome INA EL HARRACH.

Munro D.B., Small E. (1998). Les légumes du Canada. NRC Research Press enjeux. Collection « Un point sur les filières ». INRA, Paris.

Neergaard, P. (1945). Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium* : taxonomy, parasitism, economic significance. Oxford University Press, London. 2- à- 287.

Ness, Von Esenbeck, GG. (1817). System der Pilze Urid Schwamme, Wurzburg. p 234.

Noronha E.f., Ulhoa C. J., (1996). Purification and characterization of an endo- β -glucanase from *trichoderma harzianum*. Can. J. Microbiol., 42 :1039-1044.

Nutsugah SK, Kohmoto K, Otani H, Kodoma M, Sunkeswari RR (1994). Production of a hostspecific toxin by germinating spores of *Alternaria tenuissima* causing leaf spot of pigeon pea. Journal of Phytopathology 140: 19-30.

Otadoh J. A., Okoth S. A., Ochanda J., Kahindi J.P., (2011). Assessment of *trichoderma* isolates for virulence efficacy on *Fusarium oxysporum f. sp. Phaseoli*. Tropical and subtropical Agroecosystems, 13 : 99 - 107.

Pesson P et Louveaux J. (1984). Pollinisation et production végétales. Ed.INRA. p 663.

Pitrat M., Foury C. (2004). Histoires de légumes : des origines à l'orée du XXI^e siècle. (ed). Quae. INRA. 267-272.

Pivkin, M. V. (2000). Filamentous fungi associated with holoturians from the Sea of Japan, off the Primorye coast of Russia. *Biol. Bull.*, 198 (1) : 101-109.

Pochon J., Tardieux P., (1962). Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Edition la tourtourelle, Saint-Mandé. 110 – 111.

Pryor, B. M., & Michailides, T. J. (2002). Morphological, pathogenic, and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of pistachio. *Phytopathology*, 92, 406–416.

Pryor, BM. Gilbertson, RL. (2000). Molecular phylogenetic relationships amongst *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mt SSU rDNA sequences.

Rapilly F., (1968). Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Annals des Epiphytes, vol.19. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris 102

- Reino J.L., Guerrero R.F., Hernandez-Galan R., Collado I. G., (2008).** secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry*, 7 :89-123.
- Rey Y et Costes C. (1965).** La physiologie de la tomate, etude bibliographique. INRA. P111.
- Rifai, M. A. m (1969).** A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycologia.Papers*, 116:1-56.
- Roberts, RG. Reymond, ST. Andersen, B. (2000).** RAPD fragment pattern analysis and morphological segregation of small- spored *Alternaria* species and species groups. *Mycological Research*. 104 (2) : 151-160.
- Roquebert, M.-F., (1996).** Interactions antagonistes des *Trichoderma* sp. dans les systèmes telluriques : Systématique, biologie et écologie des organismes. Comptendu des 4èmes Rencontres en Toxinologie, Paris, 13-15.
- Rotem, J. (1994).** The genus *Alternaria*, biology and pathogenicity. APS press, St. Paul, Minnesota. p 326.
- Ruocco M., Lanzuise M., Vinale F., Marra R., Turra D., S.L., Lorito M.,(2009).** Identification of a new biocontrol gene in *Trichoderma atroviride* : the role of an ABC transporter membrane pump in the interaction with different plant-pathogenic fungi. *Mol. Plant Microbe Interact*, 22 : 291-301.
- Saccardo, PA. (1886).** Hyphomycetae. In : *Sylloge funorum omnium hucusque cognitorum*. Pavia, Italy. 4 : p 807.
- Sallam. M.A., Nashwa and Kamal A.M Abo-Elyousr. (2012).** Evaluation of various plant extracts against the early-blight disease of tomato plants under greenhouse and field conditions. *Plants protect. Sci.*, 48 : 74-79.
- Schuster A., Schmoll M., (2010).** Biology and biotechnology of *trichoderma*. *Appl. Microbiol, biotechnol.*, 87 :787-799.
- Serdani, M., Kang, J.-Ch., Andersen, B., & Crous, P. W. (2002).** Characterisation of *Alternaria* species-groups associated with core rot of apples in South Africa. *Mycological Research*, 106, 561–569.
- Shankara N., Van lidt de jeude J., de Goffau M., Hilmi M., Van Dam B., Florijin., A. (2005).** La culture de la tomate: Production, transformation et commercialisation. 5^{ème} (ed).Foundation Agromisa et CTA, Wageningen.

Sherf A.F., MacNab A.A. (1986). Vegetable Diseases and Their Control. 2^e éme (ed). Wiley-IEEE .

Simmons E. G. (2000). *Alternaria* themes and variations: Species on *Solanaceae*, *Mycofaxon*, p 75, 1-115.

Simmons, EG. (1967). Typification of *Alternaria*, *Stemphylium* and *Ulocladium*. *Mycologia*. p 59, 67- 92.

Simmons, EG. (1986). *Alternaria* terms and variations.(22-26). *Mycotaxon*. (*Pleospora /Stemphylium* and *Lewia/ Alternaria*). p 25, 287- 308.

Simmons, EG. (1999). *Alternaria* themes and variation (236-243). Host- specific toxin producers. *Myctaxon* . 70 : 325-69.

Simmons,EG. (2007). *Alternaria*. An Identification Manual : CBS Biodiversity Series No. 6. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, the Netherlands. p 775.

Sivan A., Chet I., (1989). The possible rol of compitition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathol.*, 79 : 198-203.

Snoussi, SA. (2009). Etude de base sur la tomate en Algérie. Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient. www.ipm-neareast.com

Song, W. Ma, X. Tan, H. Zhou, J. (2011). Abscisic acid enhances resistance to *Alternaria solani* in tomato seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 49 : 693- 700.

Stammler G., Bohme F., Philippi J., Miessner S., Tegge V. (2014). Pathogenicity of *Alternaria*-species on potatoes and tomatoes. Fourteenth Euro blight Workshop PPO – Special Report no 16: 85-96.

Stoppacher N., Kluger B., Zeilinger S., Krska R., Schuhmacher R. (2010). Identification and profiling of volatile metabolites of the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride* by HS-SPME-GCM. *J. Microbio. Mmethods*, 81 : 187-139.

Strandberg. JO. (1992). *Alternaria* speices that attack vegetable cops : biology and options for disease management : In : Chelkowski J, Visconti A(eds) *Alternaria* biology, plant disease and metabolites. Elsevier, Amsterdam. 175-208.

Sugiyama, J. (1987). Pleomorphic fungi: the diversity and its taxonomic implications. Tokyo: Elsevier, pp. 29-56, 325 p.

Taylor (1986). In Heuvelink Ep. (2005). Tomatoes. (ed). illustrated. CABI Publishing, p 1-4.

Tralova, EH. Schlecht, J. Kobus, B. Barry, MP. (2011). Modelling and visualizing morphology in the fungus *Alternaria*. Fungal pathology. 115 : 1163-1173.

Ulacio D., Perez C., Pineda Y.J. (1997). Mycoflora in tobacco plant roots (*Nicotiana tabacum*) in portuguesa state, Venezuela. *Bioagro*. 9 (1): 3-11

Verma V.c., Gond S.K., Kumar a., Kharwar R. N., Strobel G. A. (2007). The endophyte mycoflora of bark, leaf and stem tissues of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) from Vanasi (India). *Microb. Ecol.*, 54 : 119-125.

Vinale F., Ghisalberti E. L., Sivasithamparam K., Marra R., Ritieni A., Ferracane R., Woo S., Lorito M., (2009). Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. *Lett Appl Microbiol.*, 48 :705-771.

Viterbo A., Ramot O., Chemin I. (2002). Significance of lytic enzymes from *Trichoderma sp.* in the biocontrol of fungal plant pathogens. *Antonie Leeuwenhoek*, 81 :594-556.

Vizcaino J. A., Sanz L., Cardoza R. E., Gutierrez S. (2005). Detection of putative peptide synthase genes in *Trichoderma* species : application of this methode to the cloning of a gene from *T.harzianum* CECT2413. *FEMS. Microbe. Lett.*, 244 : 139-148.

Wada S. L., Tanaka R. A. (2004). Novel 11-residual peptaibol-derived carrier for in vitro oligodeoxynucleotide delivry into cell. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14 : 2563-2566.

Wahmeyer, L E. (1961). A world monograph of genus pleospora and its segregates. University of Michigan Press. Ann Arbor. p 451.

Walker J. C. (1952). Diseases of vegetable crops, 1st (ed). MacGraw-Hill Book Company, Inc. New York, pp 471-474.

Watterson J.C. (1986). Diseases In: Atherton, J.G. *The Tomato crop* p. 443-445,453, 457-460.

Weir TL., Huff DR., Christ BJ., Romaine. CP. (1998). RAPD-PCR analysis of genetic variation among isolates of *Alternaria solani* and *Alternaria alternaria*. *Mycologia*. 90: 831-821 .

Wiltshire SP. (1933). The foundation speices of *Alternaria* and *Microsporium*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 18 : 135- 160.

Wiltshire SP. (1933). The original and moderm conceptions of *Stemphylium*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 21 : 211-239.

Zehhar G., Ouzzani Touhami A., Badoc A. and Douira A. (2006). Effet des *Fusarium* des eaux de rizièrè sur la germination et la croissance des plantules de riz. *Bull. Soc, Pharm. Bordeaux.* 145, 7-18.