

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de microbiologie
Filière : Sciences Biologiques
Option : Ecologie microbienne



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etudes de l'agressivité des isolats de *Botrytis cinerea* sur
quelques plantes hôtes**

Présenté par :
BORDJAH Aida et HAMOUDI Syria
Soutenu le : **20 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

| | | |
|---------------------|-----|------------|
| Mme KERAMANE Badria | MAA | Présidente |
| Mr ADJEBLI Ahmed | MCB | Encadreur |
| Mr LADJOUZI Rabia | MCB | Examineur |

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciement

Ce n'est pas évident d'exprimer en quelques lignes notre gratitude à toutes les personnes qui ont participé au bon déroulement et à l'aboutissement de notre travail.

Nous adressons tout d'abord nos sincères remerciements à **Mr ADJEBLI Ahmed**, pour nous avoir fait l'honneur d'être notre promoteur. Nous le remercions chaleureusement pour leur aide, soutien, conseil et leur disponibilité.

Nous tenons à remercier **Mme KERAMANE Badria** de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Nous tenons également à remercier **Mr LADJOUZI Rabia** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions l'ensemble de l'équipe du laboratoire de mycologie pour leurs orientations et leurs conseils au cours de ce travail.

Enfin, nous exprimons notre gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce document.

Dédicaces

En premier lieu, je remercie Dieu le puissant pour son aide et pour m'avoir donné volonté,
courage et patience.

Ce modeste mémoire est dédié avant tous à :

Ma chère mère, merci pour toute ton affection, l'éducation que tu m'as prodiguée et tes encouragements constants, tu es ma source d'inspiration.

Mon cher père, qui ma donné le savoir, le respect et la confiance en soi. Pour leur encouragement, et leur soutien tout au long de mon parcours scolaire.

Ma grande mère qui je le souhaite une longue vie et la mémoire de mon **grand père**.

Ma grande sœur Massilia et son marie Louafi et ces deux enfants Hani et Thileli

Mes sœurs,Thamazighth, Tinhinane, Kahina, Massissilia.

Mon frère Massinissa

Mes amis : Salima, Miri, Souad, Nawal, Sabrina, Walid, Sofiane

Mon binôme : Aida

Et à toute la promotion de microbiologie.

Syria

Dédicace

En premier lieu, je remercie Dieu le puissant pour son aide et pour m'avoir donné volonté, courage et patience.

Je dédie ce modeste travail à :

- **Mes très chers parents** que je remercie infiniment pour leur encouragement et leur soutien, merci d'être à mes côtés, que Dieu vous garde.
- **Mes très chères sœurs** : Souhila, Samia, Hanane et leurs familles et à ma petite sœur Zineb.
 - **Mes très chers frères** : Anis et Ziane.
 - La mémoire de **mon grand père** et **mon oncle**.
 - **Mes cousins** et **cousines** et leurs familles
 - **Mes cousines** : Feriel, Hassiba et Assia
- **Mes amis** : Sassa, Dihia, Fatima, Tanina, Lamia, Tassadit, Sabrina, Amine, Lyazid et Walid
 - **Mon binôme** Syria
 - Et à toute la promotion de microbiologie.

Aida

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 01 : Cycle biologique de <i>B. cinerea</i> dans la nature | 3 |
| Figure 02 : Symptômes de la pourriture grise causée par <i>B. cinerea</i> sur différentes plante hôtes | 5 |
| Figure 03 : Test d'agressivité des isolats de <i>B. cinerea</i> sur les feuilles de féverole, laitue, haricot..... | 13 |
| Figure 04 : Test d'agressivité des isolats de <i>B. cinerea</i> sur les feuilles d'oignon..... | 15 |
| Figure 05 : Exemple de lésions causées par les isolats de <i>B. cinerea</i> sur les feuilles de féverole après 96 h d'incubation..... | 18 |
| Figure 06: Agressivité des isolats de <i>B. cinerea</i> sur les feuilles de féverole exprimée en AUDPC. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P<0.05$). Les barres représentent les erreurs standards..... | 18 |
| Figure 07: Agressivité moyenne des deux groupes d'isolats de <i>B. cinerea</i> exprimée en AUDPC sur les feuilles de féverole. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P<0.05$). Les barres représentent les erreurs standards | 19 |
| Figure 08: Exemple de lésions causées par les isolats de <i>B. cinerea</i> sur les feuilles de laitue après 96 h d'incubation..... | 20 |
| Figure 09: Agressivité des isolats de <i>B. cinerea</i> sur les feuilles de laitue exprimée en AUDPC. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P<0.05$). Les barres représentent les erreurs standards | 20 |
| Figure 10: Agressivité moyenne des deux groupes d'isolats de <i>B. cinerea</i> exprimée en AUDPC sur les feuilles de laitue. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P<0.05$). Les barres représentent les erreurs standards..... | 21 |
| Figure 11: Exemple de lésions causées par les isolats de <i>B. cinerea</i> sur les feuilles de haricot après 96 h d'incubation..... | 21 |

Figure 12: Agressivité des isolats de *B. cinerea* sur les feuilles de haricot exprimée en AUDPC. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P < 0.05$). Les barres représentent les erreurs standards..... 22

Figure 13: Agressivité moyenne des deux groupes d'isolats de *B. cinerea* exprimée en AUDPC sur les feuilles de haricot. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P > 0.05$). Les barres représentent les erreurs standards..... 22

Figure 14: Exemple de lésions causées par les isolats de *B. cinerea* sur les feuilles de l'oignon après 96 h d'incubation..... 23

Figure 15: Agressivité des isolats de *B. cinerea* sur les feuilles de l'oignon exprimée en AUDPC. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P < 0.05$). Les barres représentent les erreurs standards..... 23

Figure 16: Agressivité moyenne des deux groupes d'isolats de *B. cinerea* exprimée en AUDPC sur les feuilles de l'oignon. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P < 0.05$). Les barres représentent les erreurs standards 24

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau01 : Classification morphologique de <i>B. cinerea</i> sur milieu Malt-Agar | 6 |
| Tableau 2 : Profil haplotypique des isolats de <i>B. cinerea</i> caractérisées avec neuf marqueurs microsatellites..... | 11 |

Glossaire

A

Agressivité : Pouvoir pathogène d'un parasite défini par rapport à la résistance horizontal de variétés de l'hôte.

Anamorphe: Se dit de la phase ou de la forme asexuée des champignons.

Ascomycète : Groupe de champignons produisant leur spore sexuée, les ascospores, par l'intermédiaire d'asque.

AUDPC: la surface sous la courbe de la régression de la maladie est un résumé quantitatif de l'intensité de la maladie au fil du temps, à titre de comparaison sur plusieurs années ou plusieurs endroits.

C

Chancre: Lésion nécrotique plus ou moins localisée.

Conidies: Spore issue de la multiplication asexuée formée à l'extrémité d'un conidiophore.

Conidiophore: Hyphe aérien spécialisé qui produit à son extrémité plusieurs conidies.

D

Deutéromycète : Groupe artificiel ne constituant pas une vraie classe de champignon, la reproduction sexuée est inconnue ou ne peut être obtenue facilement avec les techniques de cultures habituelles (champignon imparfaits).

G

Génotype : Ensemble ou partie de la composition génétique d'un individu.

H

Haplotype : Génotype d'un organisme haploïde. Dans la présente étude, il s'agit de l'ensemble des tailles d'allèle des microsatellites pour un individu (haploïde).

I

Inoculum : Terme générique qui désigne tout élément d'un parasite capable d'infecter l'hôte.

Isolat: Matériel biologique prélevé sur un organisme vivant, en vue de son étude ou de sa culture in vitro.

M

Microsatellite: Série de nucléotides dans le génome d'un individu formant une ou plusieurs répétitions d'un motif court.

Morphotype : Appelé aussi « type morphologique », est la forme courante et classique d'une espèce.

Mycélium: Appareil végétatif d'un champignon constitué d'un ensemble d'hyphe.

N

Nécrotrophe: Organisme pathogène dont la première phase au moins de l'installation nécessite la nécrose des tissus.

P

Plante hôte: Espèce de plante dont dépend le développement d'un organisme (source nutritive).

Phénotype: Aspect observable d'un organisme déterminé par son génotype et l'environnement.

Phytopathogène : Qui cause une maladie chez les plantes.

Polyphage : Un pathogène pouvant avoir plusieurs organismes hôtes.

S

Saprophyte: Se dit d'un organisme tirant sa nourriture de la matière organique en décomposition.

Sclérotés : Masse compacte de mycélium aggloméré, souvent de couleur brune à noire, adaptée à la survie en conditions défavorables.

Souche: Microorganisme fongique ou bactérien échantillonné sur un hôte infecté et qui a été caractérisé génotypiquement et/ou phénotypiquement.

T

Téléomorphe : Forme sexuée d'un champignon, appelée aussi « stade parfait », aboutissant après la fusion nucléaire à la formation d'ascospores.

V

Virulence : Composante qualitative du pouvoir pathogène. Aptitude d'un agent pathogène à causer des troubles chez l'organisme hôte.

List des abréviations

AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphisms.

ALG: Algérie.

AUDPC: Area Under the Disease Progress Curves.

MEA: Malt Extract Agar.

PDA: Potato Dextrose Agar.

RAPD: Random Amplification of Polymorphic DNA.

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphisms.

Sommaire

Remerciement

Dédicaces

Liste de figures

Liste de tableaux

Glossaire

Liste des abréviations

Introduction..... 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Présentations générale de *B. cinerea*

I.1. Taxonomie 2

I.2. Cycle biologique 2

I.3. Spectre d'hôte et l'importance économique 3

I.4. Symptômes..... 4

II. Variabilité phénotypique et génétique de *B. cinerea* 5

II.1. Diversité phénotypiques..... 5

II.1.1. Morphotype 5

II.1.2. Agressivité sur plantes..... 5

II.1.3. Résistance aux fongicides..... 6

II.2. Diversité génétiques 7

III. Facteurs influençant l'infection et le développement de *B. cinerea* 8

III.1. Facteurs climatiques 8

III.2. Exigences nutritives 8

III.3. Les méthodes d'irrigations 8

III.4. La lumière 9

IV. Les moyens de lutte contre *B. cinerea* 9

IV.1. Méthodes culturales 9

| | |
|--------------------------------|----|
| IV.2. Méthodes chimique | 9 |
| IV.3. Méthodes biologique..... | 10 |

Chapitre II : Matériels et méthodes

| | |
|---|-----------|
| I. Matériel biologique..... | 11 |
| I.1. Matériel fongique..... | 11 |
| I.1.1.Choix de souches | 11 |
| I.1.2.Choix du milieu de culture..... | 11 |
| II. Test d’agressivité des souches de <i>B. cinerea</i> | 11 |
| II.1.Production des implants mycéliens..... | 12 |
| II.1.1.Première repiquage | 12 |
| II.1.2.Deuxième repiquage | 12 |
| II.2. inoculation des feuilles | 12 |
| II.2.1. Test sur les feuilles de féverole, de laitue et d’haricot | 12 |
| a. Incubation | 14 |
| b. Suivi et quantification des lésions | 14 |
| II.2.2. Test sur les feuilles d’oignons | 14 |
| a. Incubation | 15 |
| b. Suivi et quantification des lésions..... | 16 |
| III. Traitements des données..... | 16 |
| IV. Analyse statistique..... | 16 |

Chapitre III : Résultats et discussion

| | |
|---|-----------|
| I. Résultats | 18 |
| I.1. Résultats de test d’agressivité sur les feuilles de féverole | 18 |
| I.2. Résultats de test d’agressivité sur les feuilles de laitue | 19 |
| I.3. Résultats de test d’agressivité sur les feuilles de haricot | 21 |
| I.4. Résultats de test d’agressivité sur les feuilles d’oignon..... | 23 |

| | |
|--|-----------|
| II. Discussion | 24 |
| Conclusion | 26 |
| Références bibliographiques | 27 |

Introduction

Introduction

B. cinerea, l'agent causal de la pourriture grise est un champignon phytopathogène avec un mode de vie nécrotrophique (Fekete et al., 2011). Il cause des dommages considérables dans les conditions de pré et post-récolte et a été connue pour infecter plus de 230 espèces de plantes dans le monde (Williamson et al., 2007). Le large spectre et la grande adaptabilité de ce pathogène ont suscité un grand intérêt chez les chercheurs pour en décomposer la complexité de ce champignon. En raison de son grand impact économique, il est largement adopté comme organisme modèle moléculaire et a été classé comme le deuxième pathogène fongique le plus important (Dean et al., 2012).

Ce champignon a été observé sur tomate dans pratiquement toutes les zones de production dans le monde (Blancard et al., 2009). En Algérie, *B. cinerea* est considérée comme l'un des principales pathologies sur tomate (Aissat et al., 2008 ; Adjebli et al., 2015), et même (Rami, 2007) ont montrés l'existence de *B.cinerea* sur culture de vigne. En France toutes les régions viticoles sont caractérisées par des incidences moyennes à fortes et une sévérité moyenne (Delbac, 2013). Les pertes estimées pour la vigne en France correspondent à 15-40% des récoltes selon les conditions climatiques (Cilindre et al., 2007).

Pour une meilleure gestion des dégâts causée par ce pathogène, plusieurs méthodes de lutte sont entreprises, ces dernières sont limitées par l'importante variabilité génétique et phénotypique de *B. cinerea*. Cette variabilité est due aux fongicides, au mode de culture et à la pression des facteurs cultureux et environnementaux (Agrios, 2005). Malgré les efforts consacrés au contrôle de la maladie, les pertes de cultures et de production sont susceptibles d'être beaucoup plus élevées (Dean et al., 2012).

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail afin d'évaluer l'agressivité de certains isolats de *B. cinerea* appartenant à deux groupes génotypiquement différent sur quatre plantes hôtes (feuilles de laitue, feuilles de féverole, feuilles d'haricot et feuilles d'oignon) et de vérifier les questions suivantes :

- Le niveau d'agressivité des deux groupes d'isolats de *B. cinerea* est-il identique ou différent sur ces différentes plantes hôte?

- Les deux groupes de souches de *B.cinerea* présentent' ils une spécificité d'hôte ?

Synthèse bibliographique

I-Présentation générale de *B. cinerea*

I-1-Taxonomie

Le nom *B. cinerea* a été donné par Person en 1801 à un agent pathogène de la vigne. Ce champignon comme beaucoup d'autres connaissent une double classification (**Ajouz, 2009**).

- Une forme asexuée (téléomorphe) *Botryotinia fuckeliana* (de Barry) Wetz. C'est un Ascomycète, de la classe des Discomycètes, de l'ordre des léotiales, famille de sclerotiniaceae.
- Une forme sexuée (anamorphe) *B. cinerea* Pers. C'est un Deutéromycète de la classe des Hyphomycètes, de l'ordre des Moniliales, famille des Moniliaceae.

B. cinerea est considéré comme un complexe d'espèce sympatriques. Selon de récentes analyses phylogénétiques, deux principaux groupe génétiques 'groupe I' et 'groupe II' coexistent. Le groupe I regroupe des isolats présentant une compatibilité végétative entre eux (**Fournier et al., 2005**), et une sensibilité réduite au fongicide fenhexamide (**Albertini et al., 2002 ; Fournier et al., 2003**). Le groupe II est divisé en 2 types, transposa et vacuma (**Giraud et al., 1997**). La présence de deux éléments transposables, Boty (**Diolez et al., 1995**) et Flipper (**Levis et al., 1997**), est une caractéristique de transposa. De plus, des différences phénotypiques entre les deux types 'vacuma' et 'transposa' ont été démontrées: les isolats 'transposa' ont des petites macroconidies en comparaison des isolats vacuma (**Giraud et al., 1999**), sont plus souvent résistants à la vinclozoline et au diethofencarbe (**Giraud et al., 1999**), et présentent des taux de développement mycélien plus lent lorsqu'ils sont cultivés sur un milieu riche en nutriments (**Martinez et al., 2003**).

I-2- Cycle biologique :

Le cycle de vie de *B. cinerea* comprend plusieurs phases telles qu'il est schématisé dans la **figure01** (**Agrios, 2005**).

Au cours de son cycle biologique, *B. cinerea* peut produire du mycélium, des spores sexuées, des spores asexuée ou conidies ainsi que des sclérotos. Ce champignon est un parasite polyphage facultatif (**Emmanouilidis, 1976**), c'est-à-dire qu'il se situe à la frontière du saprophytisme et de parasitisme, de sorte qu'il se développe en premier lieu par saprophytisme sur des débris végétaux avant de devenir parasite (**Dubos, 2002**). Il peut se conserver sans

peine plusieurs années dans le sol et sur la matière organique grâce à sa potentialités saprophytiques et polyphagique (Blancard et al., 2009).

Lorsque les conditions environnementales sont défavorables, il se conserve dans les débris végétaux sous forme mycélienne ou sclérotés (Amselen et al., 2011; Romanazzi et Feliziani, 2014). Lorsque les conditions climatiques redeviennent favorables au printemps, les sclérotés germent à travers l'émission de conidiophores selon un processus de reproduction asexuée, ou après un processus sexuel, l'allongement d'une apothécie. Cependant, le mode le plus fréquent de germination est la production des conidiophores (Romanazzi et Feliziani, 2014). Ces derniers libèrent des conidies, présentant la source d'inoculum primaire. La dissémination des conidies s'effectue par le biais de vent, de la pluie et des insectes (Holz et al., 2007 ; Dubos, 2002).

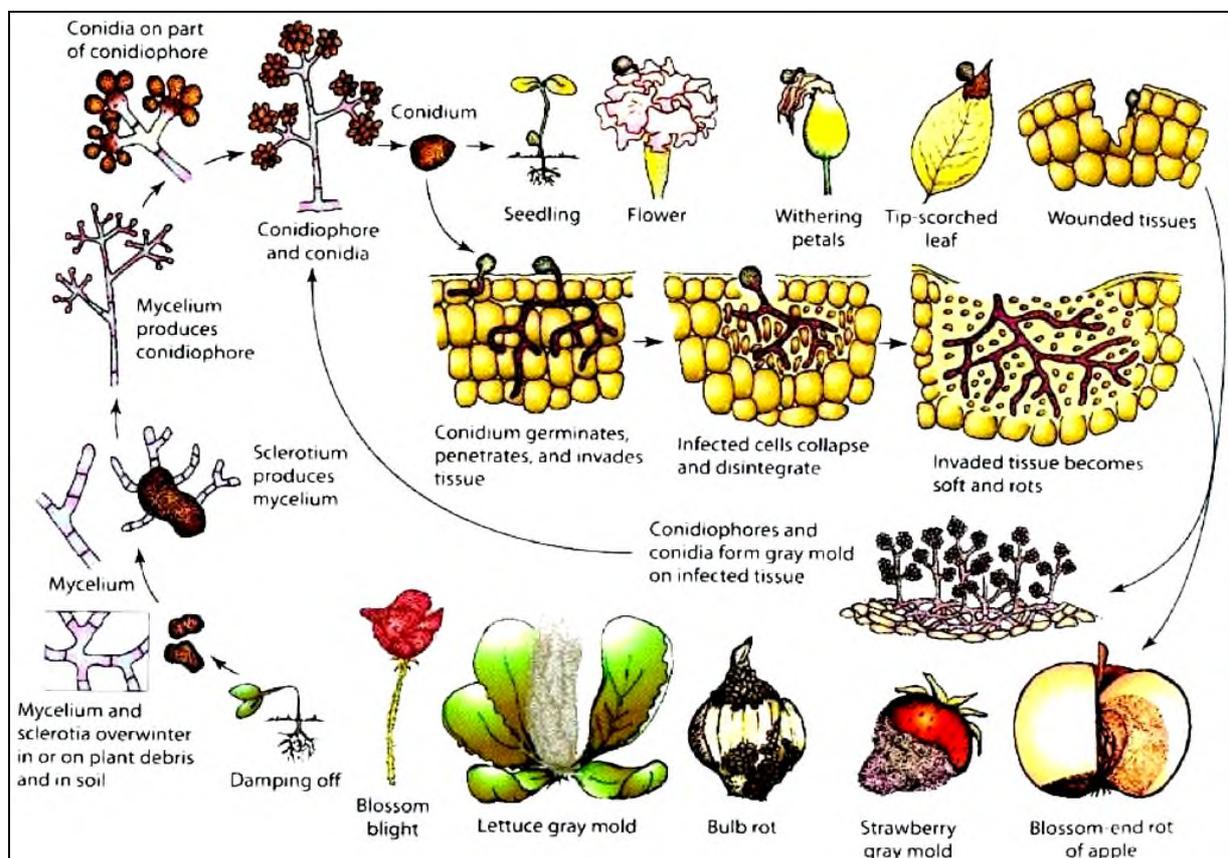


Figure1 : Cycle biologique de *B. cinerea* (Agrios, 2005)

I-3- Spectres d'hôte et l'importance économique

B. cinerea est un champignon polyphage capable d'attaquer plus de 230 espèces de Plantes (Jarvis, 1980). Il affecte de nombreuses productions végétales d'importance économique en culture sous serre ou en plein champ, comme par exemple: le raisin, la pomme,

la poire, la cerise, la fraise et le kiwi en production fruitière, l'aubergine, la carotte, la laitue, le concombre, le poivron, la tomate, la courgette en production légumière ou des plantes ornementales comme la rose, le gerbera ou le cyclamen. Ce champignon est responsable de lourdes pertes économiques sur de nombreuses cultures (**Gullino, 1992**). Un exemple de cette large gamme d'hôtes est présenté dans la (**figure 02**).

Sur le plan économique, ce champignon est considéré comme un problème phytosanitaire majeur en viticulture dans le monde (**Martinez, 2005**). Les pertes mondiales sont estimées à 2 milliards par ans (**Elmer et Michailides, 2004**). En culture sous abris, les risques d'attaque par ce champignon pathogène est permanent sur tomates, poivron, laitue ou fraise (**Jarvis, 1992**).

I-4- Symptômes

B. cinerea montre un mode de vie nécrotrophique, survenant comme un agent pathogène sur une gamme d'hôte très large (**Holz et al., 2007**). Ce pathogène est fréquent sur les légumes sous abris et en plein champ lorsque les conditions climatiques sont favorables, il sévit aussi bien en pépinière qu'en cours de culture, il pose aussi quelques problèmes après la récolte, au cours du transport et du stockage des fruits (**Blancard et al., 2009**). Il s'attaque aux fleurs, aux pédoncules et aux fruits à toutes les étapes de leur croissance, entraînant ainsi leur pourriture et la formation d'une couche uniforme de matière soyeuse épaisse et grise qui abrite les spores (**Agrios, 2005**).

Ce champignon est capable de coloniser les végétaux sains (parasitisme), les tissus déjà infectés (opportuniste), ou les tissus morts (saprophytisme). Ce champignon possède donc un caractère polyvalent pour l'hôte, le type d'organe infecté et le type de symptôme (**Choquer et al., 2007**).

II. Variabilité phénotypique et génétique de *B. cinerea*

II.1. Diversité phénotypique

II.1.1. Morphotype

D'après **Martinez et al. (2003)**, la diversité morphologique des souches de *B. cinerea* sur milieu artificiel gélosé de Malt-Agar est déterminée par une classification visuelle en huit types morphologiques différents, dont quatre mycéliens caractérisés par une quasi-absence de sclérotés quatre types sclérotiens. (**Tableau1**).

II.1.2. Agressivité sur plante

Les isolats de *B.cinerea* ne présentent pas le même niveau d'agressivité sur une même plante hôtes. Des différences d'agressivité ont été rapportées sur haricot vert (**Tiedemann, 1997**). **Decognet et al., (2009)** ont également remarqué une variation d'agressivité de 17 souches de *B. cinerea* sur la tomate .Sur vigne, 9 isolats sur 44 testés ne sont pas capable d'attaquer des feuilles de vigne en conditions contrôlées de laboratoire (**Mirzaei et al., 2009**).



Figure 02 : Symptômes de la pourriture grise causée par *B. cinerea* sur différente plantes hôtes. (**Agrios, 2005**).

II.1.3. Résistance aux fongicides

B.cinerea est considéré comme un agent pathogène à haut risque en terme de résistance aux fongicides (**Leroux, 2007**). Diverses études ont mis en évidence des niveaux différents de résistance aux fongicides dans les populations naturelles de *B. cinerea* (**Moorman et Lease, 1992; Raposo et al., 2000; Yourman et al., 2003**).

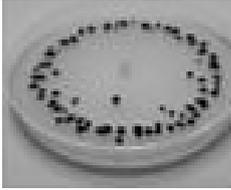
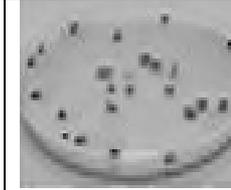
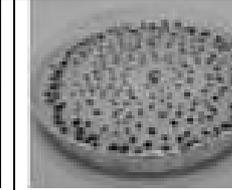
Des isolats naturels de *B. cinerea* résistants au fenhexamide ont été détectés avec une fréquence de 10% (sur 200 isolats de *B. cinerea*) alors que la population de l'agent pathogène n'avait jamais été exposée à ce fongicide (Zhang et al., 2007). Sur 712 isolats de *B. cinerea* collectés sur tomates et autres cultures, 27% sont résistants aux benzimidazoles, 37% aux dicarboximides, 3% au pyriméthanile et une résistance de l'ordre de 0,2% au fludioxonil et au fenhexamide a été observée (Korolev et al., 2011).

Tableau 1 : Classification morphologique de *B.cinerea* sur milieu Malt-Agar (Martinez et al., 2003)

Type Mycélien ‘M’

| | | | | |
|----------------|---|---|--|---|
| Représentation |  |  |  |  |
| Phénotypes | M1 | M2 | M3 | M4 |
| Mycélium | Rasant | aérien | Masses | épais et dense |
| Sporulation(1) | 0 | 1ou2 | 1ou2 | 1 |
| Sclérotés(2) | 0 | 0 | 0 | 0 |

Type Sclérotien ‘S’

| | | | | |
|----------------|---|---|--|---|
| Représentation |  |  |  |  |
| Phénotypes | S1 | S2 | S3 | S4 |
| Mycélium | plutôt rasant | Plutôt rasant | Plutôt | Plutôt rasant |
| Sporulation(1) | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Sclérotés(2) | En bordure des boîtes de Pétri | Plutôt de grande taille formant un ou des cercles | Plutôt de grandes tailles, éparpillées | Nombreux |

(1) Sporulation : 0 : absence ; 1 : sporulation peu abondante ; 2 : sporulation très abondante (2) Sclérotés : 0 : absence ; 1 : rares ; 2 : très abondantes

II.2. Diversité génétique

La biologie moléculaire a révélé une grande variabilité génétique au sein de l'espèce *B. cinerea*. Différents types de marqueurs moléculaires ont été développés chez cette espèce tels que les RAPDs, les RFLPs, les AFLPs et les marqueurs microsatellites (**Ross et al., 2007**).

Giraud et al. (1997) ont étudié la diversité génétique de *B. cinerea* en France en utilisant une gamme de marqueurs moléculaires, y compris des éléments transposables et Boty nageoire, et des polymorphismes de longueur des fragments de restriction (RFLP). Cette étude pionnière a révélé que le *B. cinerea* la population étudiée était génétiquement très diversifiée, sans lignées clonales d'importance, ce qui suggère un rôle important pour les processus recombinaisons. La population échantillonnée semblait être composée de deux sous - groupes, transposa (avec les transposons) et vacuma (sans soit transposon), qui étaient génétiquement distincts mais adopté sympatrie sur les mêmes plantes hôtes et dans la même région. Dans une étude ultérieure, **Giraud et al. (1999)** décrit qu'il y avait une différenciation génétique significative entre les isolats provenant de différentes plantes hôtes en France tandis que les niveaux distincts de la résistance aux fongicides ont été observées entre transposa et vacuma. La diversité génétique de *B. cinerea* a également été étudiée en Espagne par **Alfonso et al. (2000)**. Cette étude a montré que la population dans son ensemble était très hétérogène, mais avec peu de différenciation au sein des sous - populations isolées dans différentes serres. **Muñoz et al. (2002)** ont évalué *B. cinerea* populations infectant la vigne ou la tomate au Chili et a constaté que la population échantillonnée était génétiquement très diversifié sans l'émergence d'importantes lignées clonales, même en relation avec la pression de sélection fongicide. **Ma et Michailides (2005)** ont étudié la structure génétique de *B. cinerea* populations en Californie regardant éléments transposables et microsatellite apprêtée (MP) - PCR et trouvé aucune différence entre les populations isolées à partir de différents hôtes.

III. Facteurs influençant l'infection et le développement de *B. cinerea*

III.1. Facteurs climatiques

Les conditions environnementales, en particulier l'humidité relative et la température, jouent un rôle clef pour l'infection de la plante par *B. cinerea* et le développement de la maladie (**Ajouz, 2009**). **Elad et al., (1992)** ont rapporté que l'infection par *B. cinerea* a été favorisée par une humidité relative supérieure à 91% dans une gamme de températures comprises entre 9 et 24 °C.

III.2. Exigences de nutritives

Les nutriments sont nécessaires à la germination des spores, au développement du mycélium, et à la formation des appressorium (**Li et al., 2004**). D'après **Blakeman (1975)**, la présence à la fois de carbone et d'azote est nécessaire à la germination des spores du champignon. La germination de conidies de différents isolats de *B.cinerea* est significativement plus faible dans l'eau que dans une solution nutritive (**Clark et Lorbeer, 1977**). La concentration des éléments nutritifs influence la capacité de *B. cinerea* à provoquer la pourriture des tissus (**Yoder et Whalen, 1975**).

III.3. Les méthodes d'irrigation

Le type d'irrigation peut également influencer sur le développement de la pourriture grise. Les méthodes d'irrigation peuvent également avoir des effets importants sur le développement des maladies des végétaux (**Rotem et Palti, 1969**). Les résultats de l'étude menée par **Aissat et al., (2008)** ont montré que le passage du système traditionnel d'irrigation à la rigole au système goutte-à-goutte dans la production de tomates sous serre pourrait avoir un effet bénéfique dans le contrôle de *B. cinerea*.

III.4. La lumière

La lumière est un facteur important dans la protection des cultures sous serre. La lumière, surtout UV augmente la sporulation de *B. cinerea* (**Dik et Wubben., 2007**). Selon **Nicot et al., (1996)**, l'absence d'UV inhibe la sporulation plutôt que de la retarder.

IV. Les moyennes de lutte contre *B. cinerea*

IV.1. Méthodes culturales

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

- L'espacement des plantes, influence le micro climat dans la culture et l'étendue des contacts directe entre les plantes (**Dik et wubben, 2007**).
- L'effeuillage dans les cultures de légumes, peuvent réduire l'infection par *B. cinerea* dans les cultures sous serres, l'effeuillage au ras de la tige sans laisser de fragments de pétioles,

diminue significativement l'incidence des chancre de la tige, même sous une pression élevée de la maladie (**Decogner et al., 2010**).

- Une aération optimale des abris est essentielle, notamment en période de temps couvert et humide, afin de diminuer l'hygrométrie ainsi que la présence d'eau libre sur les plantes (**Baptista et al., 2011**).
- D'autre part, (**Aissat et al., 2008**), ont démontré que l'irrigation par goutte à goutte réduit considérablement le développement de pourriture sur tige de tomate.

IV.2. Méthodes chimique :

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

On observe des résistances à la majorité des familles de fongicides utilisées contre *B. cinerea* (**Couderchet, 2003; Leroux, 2004**). L'apparition de résistance dans les populations de champignons (**Hmouni et al., 2003**), le coût élevé des fongicides, leurs effets sur l'environnement et leur incompatibilité avec l'agriculture durable ont fait que leur utilisation est devenue de plus en plus interdite et l'intérêt pour d'autres alternatives a ainsi augmenté (**Mouden et al., 2010; Mouria et al., 2013**)

IV.3. Méthodes biologique

La lutte biologique peut être définie comme étant l'utilisation d'organismes vivants pour supprimer un ravageur pathogène sans avoir des effets néfastes pour la plante. Ces agents naturels sont réunis sous le concept de biopesticides (**Lepoivre, 2003**). Le principe de la lutte biologique est basée sur l'exploitation par l'homme et à son profit d'une relation naturelle entre deux êtres vivants :

- **La cible** (de la protection) est un organisme indésirable, pathogène ou ravageur d'une plante cultivée, mauvaise herbe, etc.

- **L'agent de protection** (ou auxiliaire dans le cas des ravageurs) est un organisme différent, le plus souvent un parasite (ou parasitoïde), un prédateur ou un agent pathogène du premier, qui

le tue à plus ou moins brève échéance, éventuellement en s'en nourrissant, ou tout au moins qui limite son développement.

De nombreux travaux se sont intéressés à l'étude des agents de lutte biologique pour surmonter les problèmes de résistance associés aux fongicides, un grand nombre de bactéries et champignon antagonistes de *B.cinerea* ont ainsi été mis en évidence mais les résultats les plus établis ont été obtenus avec des *Trichodermaspp* (**Caron et al., 2002 ; Bardin et al., 2008 ; Kohl et al., 2011**)

Matériels et Méthodes

I. Matériel biologique

I.1. Matériel fongique

I.1.1. Choix de souches

Les souches de *B. cinerea* utilisées dans ce travail appartiennent à la collection du laboratoire d'écologie microbienne, Faculté des sciences de la Nature et de la Vie. L'isolement a été effectué sur les plantes de tomate (feuilles, tiges, fruits) cultivées sous serre dans la région de Tichy, Bejaïa durant la saison de 2010. Elles ont été caractérisées par 9 marqueurs microsattellites. Un total de 10 souches ont été retenues. Selon leur profil haplotypique les isolats sélectionnés appartiennent à deux groupes distincts (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Profil haplotypique des souches de *B. cinerea* caractérisées avec neuf marqueurs microsattellites.

| Souche | MS1 | MS2 | MS3 | MS4 | MS5 | MS6 | MS7 | MS8 | MS9 | |
|--------|------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| ALG168 | 235 ^a | 158 | 157 | 148 | 186 | 219 | 124 | 122 | 122 | |
| ALG173 | 235 | 158 | 157 | 148 | 186 | 219 | 124 | 122 | 122 | |
| ALG177 | 235 | 158 | 157 | 148 | 186 | 219 | 124 | 122 | 122 | H1 |
| ALG188 | 235 | 158 | 157 | 148 | 186 | 219 | 124 | 122 | 122 | |
| ALG191 | 235 | 158 | 157 | 148 | 186 | 219 | 124 | 122 | 122 | |
| ALG164 | 231 | 160 | 155 | 148 | 186 | 221 | 124 | 122 | 124 | |
| ALG171 | 231 | 160 | 155 | 148 | 186 | 221 | 124 | 122 | 124 | |
| ALG174 | 231 | 160 | 155 | 148 | 186 | 221 | 124 | 122 | 124 | H2 |
| ALG175 | 231 | 160 | 155 | 148 | 186 | 221 | 124 | 122 | 124 | |
| ALG193 | 231 | 160 | 155 | 148 | 186 | 221 | 124 | 122 | 124 | |

MS=Microsattellite, ^a: Taille en paire de base, ^H: Haplotype

I.1.2. Choix du milieu de culture

Le milieu de culture gélose à l'extrait de Malt (**annexe 1**) est utilisé tout au long de l'étude pour l'obtention des cultures jeunes des isolats de *B. cinerea* par des repiquages successifs.

II. Test d'agressivité des souches de *B. cinerea*

L'agressivité des isolats de *B. cinerea* a été étudiée sur les feuilles détachées de différentes plantes (oignon, laitue, féverole, haricot). L'objectif de ce test était de comparer le niveau d'agressivité des souches de *B. cinerea* sur différentes plantes hôtes autre que la plante sur laquelle ces souches ont été isolées.

II.1. Production des implants mycéliens

II.1.1. Premier repiquage

Pour chaque souche, 2µl d'une suspension de spores ont été déposés sur des boîtes de pétri contenant le milieu gélose à l'extrait de malt (chaque souche dans une boîte). Les boîtesensemencées ont été placées dans l'étuve pendant 3 jours à 21°C.

II.1.2. Deuxième repiquage

Un deuxième repiquage a été réalisé lorsque la souche ne présente pas une bonne croissance mycélienne dans le premier repiquage. Des implants mycéliens ont été découpés puis déposés au centre de chaque boîte de Pétri contenant une gélose à l'extrait de Milieu malt. Les boîtesensemencées ont été incubées 3 jours à 21°C.

II.2. Inoculation des feuilles avec les implants mycéliens

II.2.1. Test sur les feuilles de féverole, de laitue, d'haricot.

Des feuilles de taille homogène, ont été prélevées sur les plantes, puis placés dans des boîtes en plastique transparentes avec un fond humidifié avec du papier absorbant bleu. Un implant mycélien de 5 mm de diamètre, a été prélevé d'une culture jeune de chaque isolat de *B. cinerea*, a été déposé au centre de feuille (1 disque par feuille). Un total de 30 feuilles de chaque plante, et 03 feuilles pour chaque isolat (**Figure 03**).

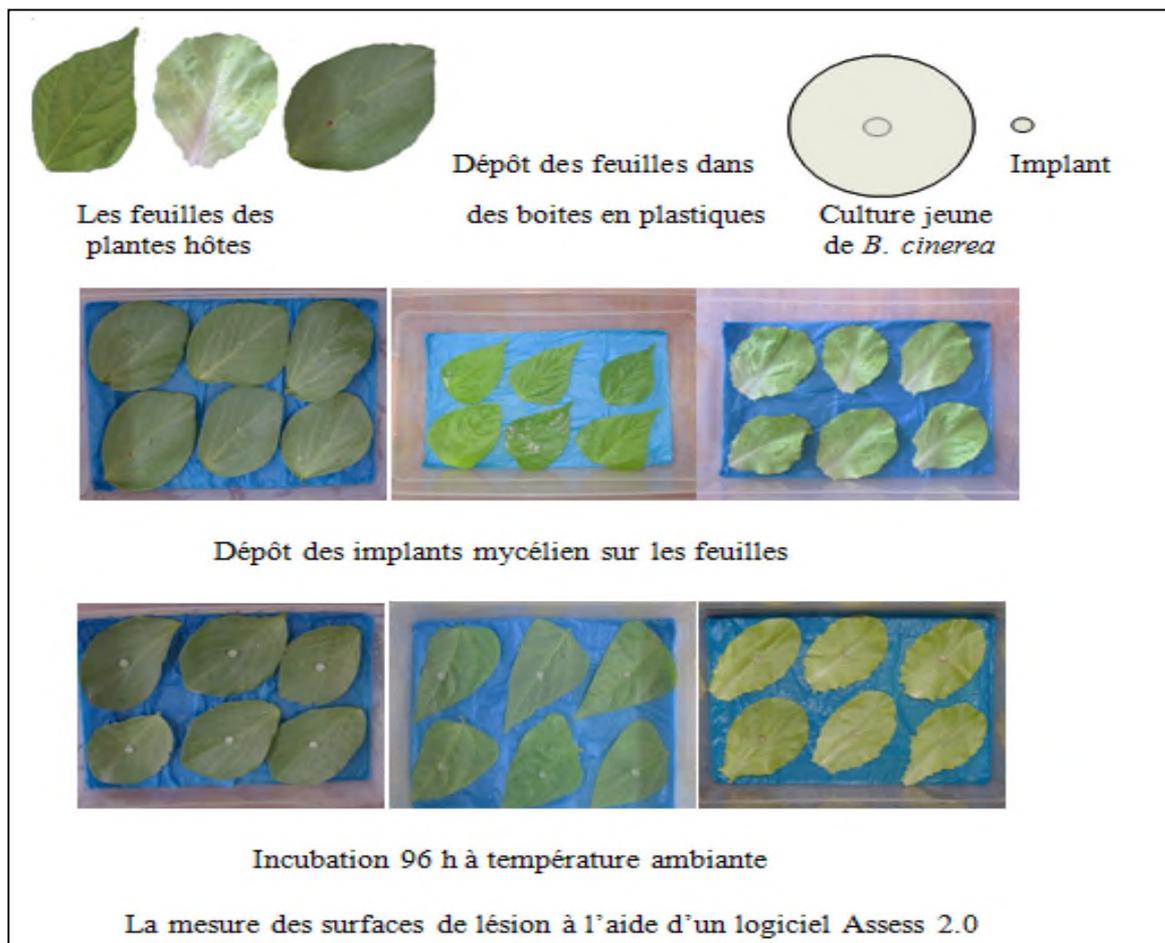


Figure 03 : Test d'agressivité des souches de *B. cinerea* sur les feuilles de féverole, laitue, haricot.

a. Incubation

Les boites contenant les feuilles inoculées avec les implants mycéliens de chaque isolat ont été incubées au laboratoire à une température ambiante pendant quatre jours.

b. Suivi et quantification des lésions

Les notations ont été effectuées à partir du deuxième jour et pendant quatre jours suivant l'inoculation. Chaque boite a été photographiée chaque 24h pour estimer la progression des lésions causées par chaque isolat. La surface (mm²) des lésions présentes sur chaque feuille de chaque plante a été déterminée en utilisant le logiciel ASSESS 2.0 (APS Press, St Paul, Minnesota) (**Voir Annexe 2**).

II.2. 2. Test sur les feuilles d'oignons

Des feuilles de taille homogène (10 cm), ont été prélevées sur les plantes d'oignons, puis placés dans des boîtes en plastique transparentes avec un fond humidifié avec du papier absorbant. Un total de 30 feuilles a été utilisé à raison de 03 feuilles par souches.

Les feuilles ont été inoculées avec un implant mycélien d'un diamètre de 5 mm de chaque souche, ils ont été disposés à la périphérie de chaque feuille (1implant par feuille) (**Figure 04**). Au total, 30 feuilles ont été inoculées à raison de trois feuilles par isolat.

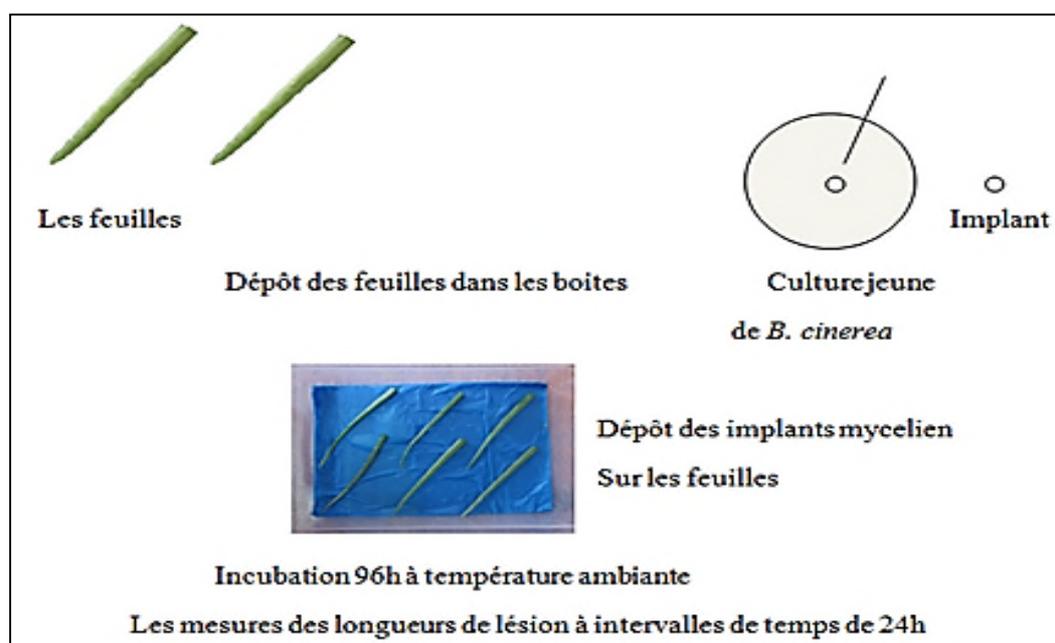


Figure 04: Test d'agressivité des souches de *B. cinerea* sur les feuilles de l'oignon.

a. Incubation

Les boîtes contenant les feuilles inoculées avec les implants mycéliens de chaque isolat ont été incubées au laboratoire à une température ambiante pendant quatre jours.

b. Suivi et quantification des lésions

La longueur (cm) des lésions présentes sur chaque feuille a été mesurée à l'aide d'une règle, chaque 24h pendant quatre jours suivant l'inoculation.

III. Traitement des données

Les données obtenues pour chaque test ont été transformées en AUDPC (Area Under the Disease Progress Curves) qui correspond à la surface sous la courbe de progression de la maladie en utilisant la formule suivante :

$$\text{AUDPC} = [Y_1 / 2 + \sum_2^{n-1} Y_j + Y_n / 2] [I]$$

Avec :

Y_j: la surface de la lésion (en mm²) au temps d'observation j ;

n: le nombre total d'observations ;

I : l'intervalle de temps entre chaque observation (en heures).

VI. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le module approprié du logiciel STATISTICA (Statsoft Inc., Tulsa, USA). Le test de Newman Keuls' a été utilisé pour les comparaisons des moyennes des niveaux d'agressivité des isolats de *B. cinerea* sur différentes plantes hôtes.

Résultats et Discussion

I. Résultats

I.1. Résultats de test d'agressivité sur les feuilles de féverole

Tous les isolats de *B. cinerea* testés dans cette étude ont causés des infections sur les feuilles de féverole (**Figure 05**). Il est à noter que les isolats de *B. cinerea* testés agissent d'une manière différente sur les feuilles de féveroles. Les isolats ALG 173 et ALG 188 ont eu un comportement plus agressif que les autres isolats avec une AUDPC moyenne de 560 et 448 respectivement. Les isolats ALG 191, ALG 193, ALG 175 et ALG 171 ont montré une faible agressivité par rapport aux autres isolats avec une AUDPC moyenne de 106, 111, 112 et 114 respectivement (**Figure 06**). L'analyse statistique a montré une grande variabilité entre les isolats testés ($P < 0.05$).



Figure05 : Exemple de lésions causées par les isolats de *B. cinerea* sur les feuilles de féverole après 96 h d'incubation

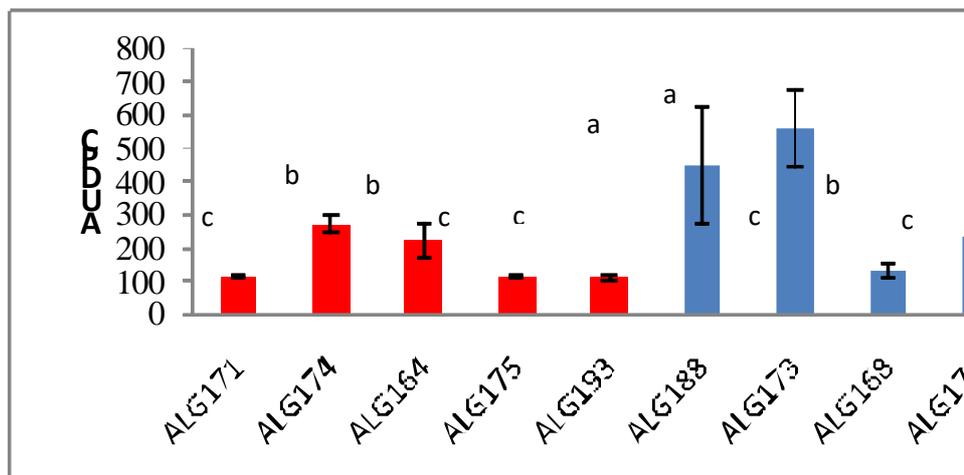


Figure06: Agressivité des isolats de *B. cinerea* sur les feuilles de féverole exprimée en AUDPC. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significative selon le test de Newman & keuls ($P < 0.05$). Les barres représentent les erreurs standards.

La comparaison entre les deux groupes de *B. cinerea* H1 et H2 (cités dans le tableau 01) a montré que les isolats appartenant au groupe H1 sont plus agressives que ceux de groupe H2 avec une AUDPC moyenne de 296,31 et 167,61 respectivement. L'analyse statistique a montré une différence significative entre les deux groupes d'isolats de *B. cinerea* ($P < 0.05$) (**Figure 07**).

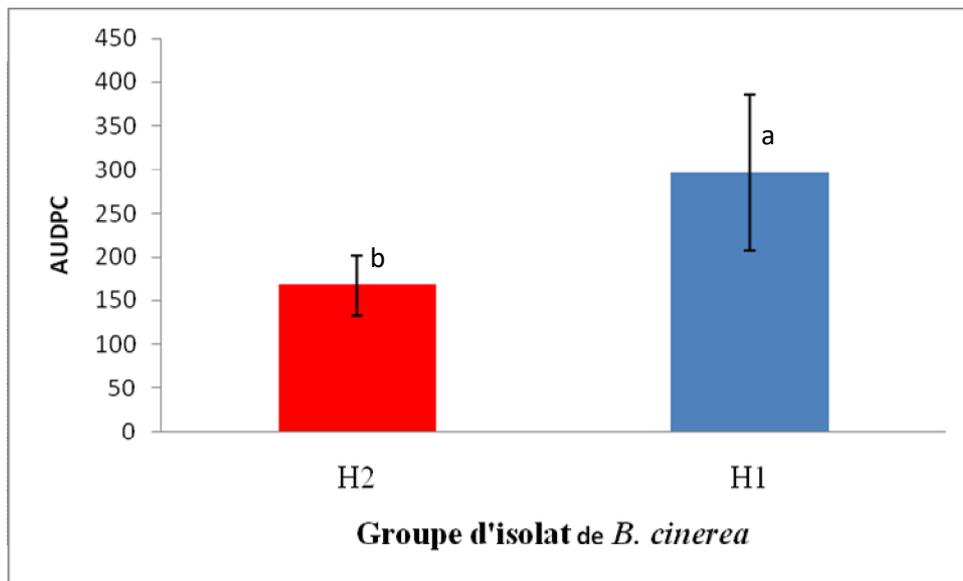


Figure 07 : Agressivité moyenne des deux groupes d'isolats de *B. cinerea* exprimée en AUDPC sur les feuilles de féverole. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P < 0.05$). Les barres représentent les erreurs standards.

I.2. Résultats de test d'agressivité sur les feuilles de laitue

Tous les isolats de *B. cinerea* testés dans cette étude ont causés des infections sur les feuilles de laitue (**Figure 08**). Il est à noter que les isolats de *B. cinerea* testés agissent d'une manière différente sur les feuilles de laitue. Les isolats ALG 175 a eu un comportement plus agressif que les autres isolats avec une AUDPC moyenne de 2101. Les isolats ALG 168 et ALG 195 ont montré une faible agressivité par rapport aux autres isolats avec une AUDPC moyenne de 1004 et 1060 respectivement (**Figure 09**). L'analyse statistique a montré une grande variabilité d'agressivité entre les isolats tests ($P < 0,05$).



Figure08: Exemple de lésions causées par les isolats de *B. cinerea* sur les feuilles de laitue après 96 h d'incubation

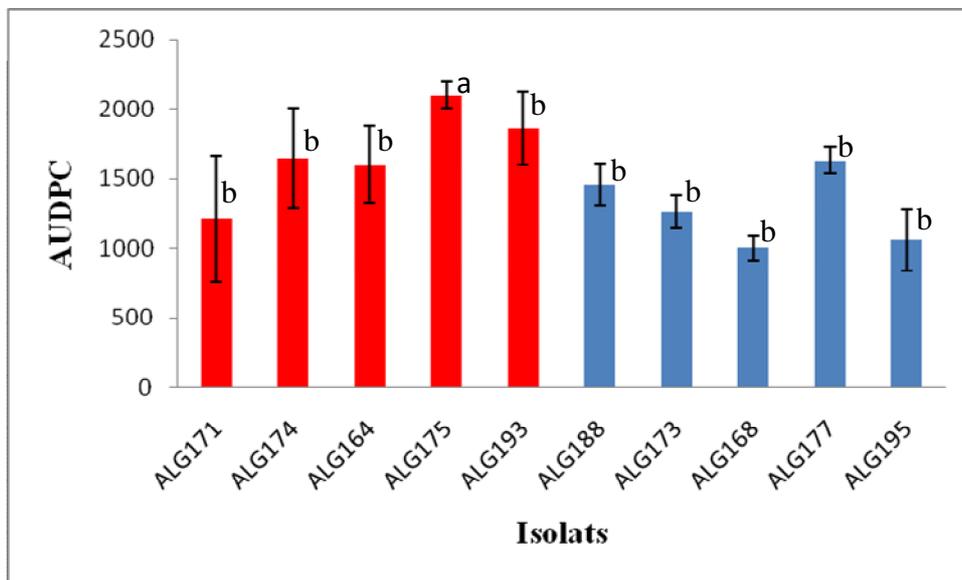


Figure 09: Agressivité des isolats de *B. cinerea* sur les feuilles de laitue exprimée en AUDPC. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significative selon le test de Newman & keuls ($P < 0.05$). Les barres représentent les erreurs standards.

La comparaison entre les deux groupes de *B. cinerea* H1 et H2 (cités dans le tableau 01) a montré que les isolats appartenant au groupe H2 sont plus agressives que ceux de groupe H1 avec une AUDPC moyenne de 1685 et 1284 respectivement. L'analyse statistique a montré une différence significative de l'agressivité entre les deux groupes d'isolats de *B. cinerea* ($P < 0.05$) (**Figure 10**).

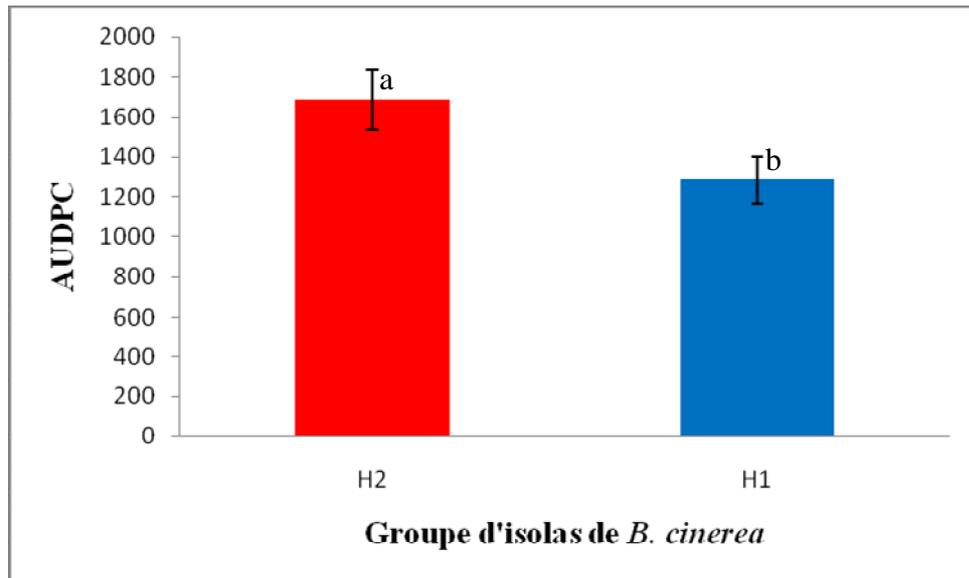


Figure 10 : Agressivité moyenne des deux groupes d'isolats de *B. cinerea* exprimée en AUDPC sur les feuilles de laitue. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significative selon le test de Newman & keuls ($P < 0.05$). Les barres représentent les erreurs standards.

I.3. Résultats de test d'agressivité sur les feuilles de haricot

Tous les isolats de *B. cinerea* testés dans cette étude ont causés des infections sur les feuilles d'haricot (**Figure 11**). Il est à noter que les isolats de *B. cinerea* testés agissent d'une manière différente sur les feuilles d'haricot. Les isolats ALG 164, ALG 188, ALG 175 et ALG 177 ont eu un comportement plus agressif que les autres isolats avec une AUDPC moyenne de 615, 611, 608 et 592 respectivement. L'isolat ALG 173 a montré une faible agressivité par rapport aux autres avec une AUDPC moyenne de 72 (**Figure 12**). L'analyse statistique a montré une grande variabilité entre les isolats testés ($P < 0,05$).



Figure 11: Exemple de lésions causées par les isolats de *B. cinerea* sur les feuilles de haricot après 96 h d'incubation

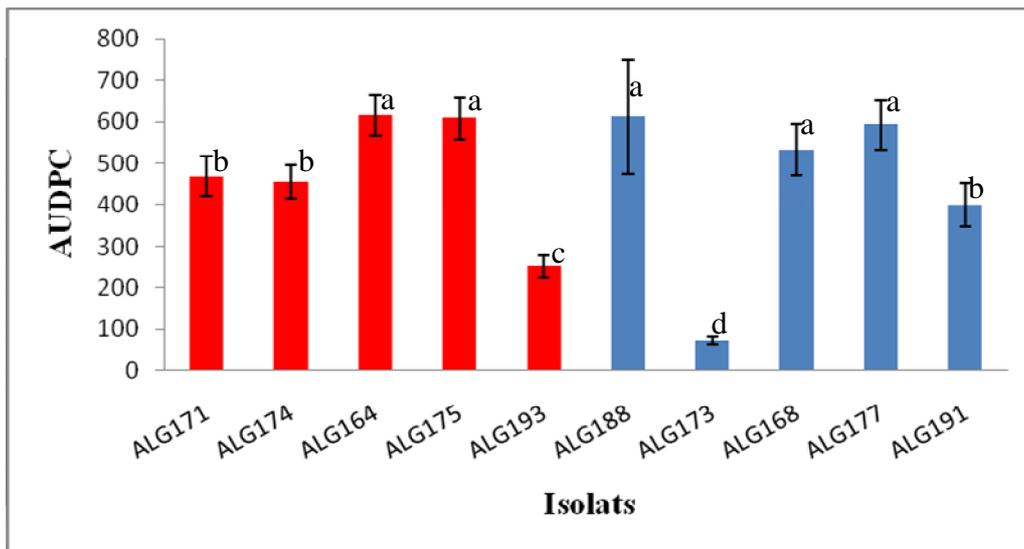


Figure12: Agressivité des isolats de *B. cinerea* sur les feuilles de haricot exprimée en AUDPC. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P < 0.05$). Les barres représentent les erreurs standards

La comparaison entre les deux groupes de *B. cinerea* H1 et H2 (cités dans le tableau 01) a montré que les isolats appartenant au groupe H2 sont plus agressives que ceux de groupe H1 avec une AUDPC moyenne de 480 et 441 respectivement. L'analyse statistique n'a montré aucune différence significative entre les deux groupes d'isolats de *B. cinerea* ($P > 0.05$) (**Figure 13**).

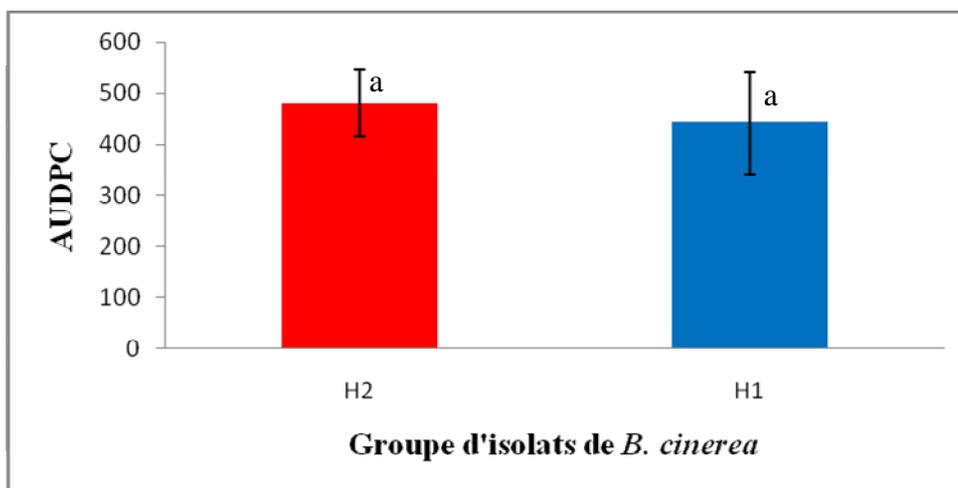


Figure 13 : Agressivité moyenne des deux groupes d'isolats de *B. cinerea* exprimée en AUDPC sur les feuilles de haricot. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P > 0.05$). Les barres représentent les erreurs standards.

I.4. Résultats de test d'agressivité sur les feuilles de l'oignon

Tous les isolats de *B. cinerea* testés dans cette étude ont causés des infections sur les feuilles de l'oignon (**Figure 14**). Il est à noter que les isolats de *B. cinerea* testés agissent d'une manière différente sur les feuilles de l'oignon. L'isolat ALG 188 a eu un comportement plus agressif que les autres isolats avec une AUDPC moyenne de 5. Les isolats ALG 168 et ALG 164 ont montré une faible agressivité par rapport aux autres isolats avec une AUDPC moyenne de 3.10 et 3.12 (**Figure 15**). L'analyse statistique a montré une grande variabilité entre les isolats testés ($P < 0,05$)



Figure14 : Exemple de lésions causées par les isolats de *B. cinerea* sur les feuilles de l'oignon après 96 h d'incubation

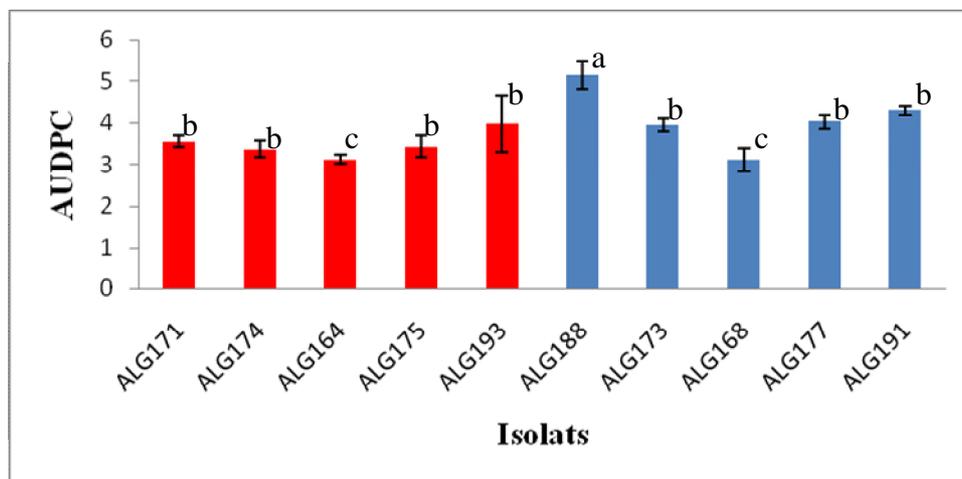


Figure15: Agressivité des isolats de *B. cinerea* sur les feuilles de l'oignon exprimée en AUDPC. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P < 0,05$). Les barres représentent les erreurs standards

La comparaison entre les deux groupes de *B. cinerea* H1 et H2 (cités dans le tableau 01) a montré que les isolats appartenant au groupe H1 sont plus agressives que ceux de groupe H2

avec une AUDPC moyenne de 4,10 et 3,49 respectivement. L'analyse statistique a montré une différence significative entre les deux groupes d'isolats de *B. cinerea* ($P < 0.05$) (**Figure 16**).

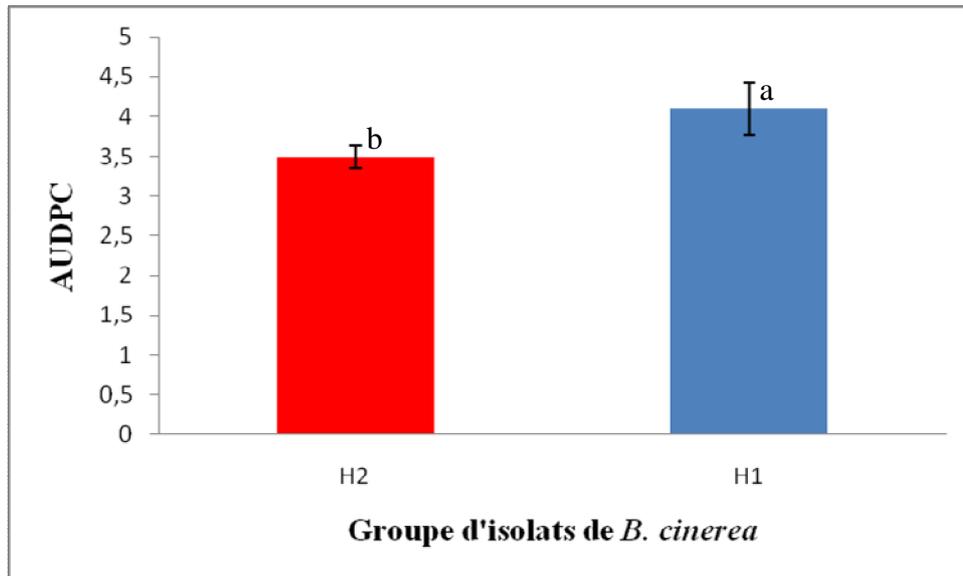


Figure 16 : Agressivité moyenne des deux groupes d'isolats de *B. cinerea* exprimée en AUDPC sur les feuilles de l'oignon. Les mêmes lettres indiquent aucune différence significatives selon le test de Newman & keuls ($P < 0.05$). Les barres représentent les erreurs standards.

Discussion

Les résultats obtenus pour les tests d'agressivité des isolats de *B. cinerea* sur les différentes plantes ont montré une variabilité entre les isolats et entre deux groupes haplotypiques.

Des études se sont penchées sur ce sujet en réalisant des tests d'agressivité. **Cotoras et Silva (2005)** ont suggéré l'existence d'une spécificité d'hôtes chez *B. cinerea* en inoculant des souches génétiquement différentes issues de tomate et de vigne, sur des feuilles de tomate. Les souches provenant de tomate sont beaucoup plus agressives que les souches provenant de vigne. Des résultats similaires ont été obtenus par **Mouria et al (2013)** en inoculant 22 souches de *B. cinerea* issue de (feuilles, tige, fruits) infectés de tomate et de fruits de concombre sur les feuilles de tomate. Les souches isolées à partir de tomates se sont révélées les plus virulentes que les souches isolées de concombre. **Mirzaei et al (2009)** ont également détecté une différence significative de l'agressivité de 44 isolats de *B. cinerea* provenant de différentes régions géographiques d'Iran sur les feuilles de vigne. **Shen et al (2009)**, qui ont réalisés une étude sur la pathogénicité de 26 souches de *B. cinerea* sur les feuilles de concombre. **Adjebli et al.,**

(2014) a étudié le niveau d'agressivité des isolats de *B. cinerea* sur des folioles de tomate. Cette étude inclut une dimension comparative géographique entre des isolats collectés en Algérie, en France et en Norvège. Le test d'agressivité a révélé une grande variabilité entre les isolats. **BRYONE (2011)** a réalisé une étude d'agressivité de certains isolats issus de tomates et de laitues qui ont été inoculées sur des chicots de plantes entières de tomate, des feuilles détachées de laitue et des pommes. Ce test à montré que les isolats pouvaient attaquer ces plantes hôtes mais elles ne montrent pas le même degré d'agressivité. **Derckel et al., (1999)** ont réalisé des tests d'agressivité sur des feuilles de vigne. Les souches prélevées sur vigne ont été virulentes tandis que celles provenant d'hôtes différents étaient avirulentes. Des résultats similaires ont été obtenus par **Pie et Brower, (1993)** Ces auteurs ont remarqué une différence importante de pathogenicité entre les souches testées.

Tous ces résultats viennent appuyer l'existence d'une spécificité d'hôte des isolats de *B. cinerea*

Conclusion et perspective

Conclusion et perspective

La pourriture grise est une maladie cryptogamique causée par *B. cinerea*. Cette pathologie est l'une des principales maladies aériennes fongiques de diverses cultures d'importance agronomique. Notre travail a porté sur l'étude de l'agressivité de dix isolats de *B. cinerea* sur les feuilles de quatre plantes hôtes (féverole, laitue, haricot et l'oignon). Les résultats des tests d'agressivité ont montré une grande diversité entre les isolats testés pour chaque plante hôte. Sur les feuilles de féverole, les isolats ALG173 et ALG188 ont un comportement plus agressif avec une AUDPC moyenne de 560 et 448 respectivement. Les isolats ALG191, ALG193, ALG175 et ALG171 ont montré une faible agressivité avec une AUDPC moyenne de 106, 111, 112 et 114 respectivement. Sur les feuilles d'haricots, les isolats ALG 164, ALG 188, ALG 175 et ALG 177 ont un comportement plus agressif que les autres isolats avec une AUDPC moyenne de 615, 611, 608 et 592 respectivement. L'isolat ALG 173 a montré une faible agressivité par rapport aux autres isolats avec une AUDPC moyenne de 72. Sur les feuilles de laitue, l'isolat le plus agressive est ALG175 avec une AUDPC moyenne de 2101. Les isolats moins agressive sont ALG168 et ALG195 avec une AUDPC moyenne de 1004 et 1060 respectivement. Sur les feuilles d'oignons, l'isolat ALG 188 a eu un comportement plus agressif que les autres isolats avec une AUDPC moyenne de 5. Les isolats ALG 168 et ALG 164 ont montré une faible agressivité par rapport aux autres isolats avec une AUDPC moyenne de 3.10 et 3.

L'étude de la comparaison entre les deux groupes de souches de *B. cinerea* a montré que les souches de groupe H1 sont plus agressive sur les feuilles de féverole et l'oignon. Par contre les souches de groupe H2 sont plus agressive sur les feuilles de laitue et haricot.

Il serait intéressant d'aborder les points suivants dans l'avenir afin d'affiner ce présent travail :

- Elargir le nombre d'isolats de *B. cinerea*,
- Réaliser des tests d'agressivité sur les plantes entières,
- Etudier le profil de résistance des isolats de *B. cinerea* aux différents fongicides,

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Adjebli A., Leyrons C., Aissat K et Nicot PC. (2015). Comparaison of *Botrytis cinerea* populations collected from Tomato Green houses in Northern Algeria. *Journal of phytopathology*.163:123-132.

Adjebli A., Leyronas C., Aissat K., Nicot P.C (2014). Comparison of *Botrytis cinerea* populations collected from tomato greenhouses in Northern Algeria. *J. Phytopathol. In press.*

Aissat K., Nicot P.C., Guechi A., Bardin M., Chibane M (2008). Grey mould development in greenhouse tomatoes under drip and furrow irrigation. *Agron. Sustain. Dev.* 28: 403-409.

Agrios G.N (2005). *Plant pathology.* Elsevier Academic Press, Oxford, UK, p. 922.

Ajouz S (2009). Estimation du potentiel de résistance de *Botrytis cinerea* à des biofongicides. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des pays de Vaucluse. France

Albertini C., Thebaud G., Fournier E., Leroux P (2002). Eburicol 14 [alpha]-demethylase gene (CYP51) polymorphism and speciation in *Botrytis cinerea*. *Mycol. Res.* 106: 1171-1178.

Alfonso C., Raposo R., Melgarejo P (2000). Genetic diversity in *Botrytis cinerea* populations on vegetable crops in greenhouses in southeastern Spain. *Plant. Pathol.* 49: 243-251.

Amselem J., Cuomo Ca., van Kan Jal., Viaud Met Benito Ep.(2011). Genomic Analyse of the Necrotrophic Fungal Pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. pp.1-27.

B

Baptista F.J., Bailey B.J., Meneses J.F (2011). Development of a warning system for controlling *Botrytis cinerea* in unheated tomato greenhouses. *Acta. Hort.* 893:1263-1269.

Bardin, M., Fargues, J., and Nicot, P.C. (2008). Compatibility between biopesticides used to control grey mould, powdery mildew and whitefly on tomato. *Biological Control* 46:476-483.

Bernard, J.L., and Bugaret, Y. (2002). Prophylaxie et mesures indirectes: clarifier les définitions pour mieux mettre en oeuvre la protection. *Phytoma-La Défense des Végétaux* 549: 14-19

Blakeman J.P (1975). Germination of *Botrytis cinerea* conidia in vitro in relation to nutrient conditions on leaf surfaces. *T. Brit. Mycol. Soc.* 65: 239-247.

Blancard D., Laterrot H., Marchoux G. et Cetresse T. (2009). Les maladies de la tomate, identifier, connaître maîtriser. Ed. Quae, Paris, 691p.

C

Choquer M, Fournier E, Kunz C, Levis C, Pradier JM, Simon A, Viaud M (2007). *Botrytis cinerea* virulence factors: new insights into a necrotrophic and polyphagous pathogen. *FEMS Microbiol Lett.* 277:1-10.

Clark C.A., Lorbeer J.W (1977). Comparative nutrient dependency of *Botrytis squamosa* and *Botrytis cinerea* for germination of conidia and pathogenicity on onion leaves. *Phytopathol.* 67: 212-218

Couderchet, M. (2003). Benefits and problems of fungicide control of *Botrytis cinerea* in vineyards of Champagne. *Vitis* 42: 165-171.

Cotoras M., Evelyn S (2005). Differences in the initial events of infection of *Botrytis cinerea* strains isolated from tomato and grape. In *Mycologia*. 485-492.

D

Decognet V., Bardin M., Trottin-Caudal Y., Nicot P.C (2009). Rapid change in the genetic diversity of *Botrytis cinerea* populations after the introduction of strains in a tomato glasshouse. *Phytopathologie.* 99: 185-193.

Decognet V., Ravetti F., Martin C., Nicot P.C (2010). Improved leaf pruning reduces development of stem cankers caused by grey mould in greenhouse tomatoes. *Agron. Sustain. Dev.* 30: 465-472.

Dean R., Kan J.A.L.V., Pretorius Z.A., Hammond-Kosack K.E., Pietro A.D., Spanu P.D., Rudd J.J., Dickman M., Kahmann R., Ellis J., Foster G.D (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant. Pathol.* 13:414-430.

Derckel J.P., Baillieul F., Manteau S., Audran J.C., Haye B., Lambert B., Legendre L (1999). Differential Induction of Grapevine Defenses by Two Strains of *Botrytis cinerea*. *Phytopathol.* **89**:197-203.

Dik A.J., Wubben J.P (2007). Epidemiology of *Botrytis cinerea* diseases in greenhouses. In *Botrytis: biology, pathology and control*. Elad Y., Williamson B., Tudzynski P. and Delen N. Ed. Springer, Dordrecht, The Netherlands. pp.319-333.

Diolez A., Marches E., Fortini D., Brggoo Y., (1995). Boty, a long-Terminal-Repeat Retro element in the phytopatogenic fungus *Botrytis cinerea*. *Applied and Environnemental Microbiology.* 61(1):103-108.

Dubos B. (2002). Maladies cryptogamiques de la vigne, champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne. Ed. Féret, Bordeaux. 207pp

E

Elmer P.A.G., Michailides T.J (2004). Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine crops. 243-272 pp, in: *Botrytis: biology, pathology and control*. Elad Y., Williamson B., Tudzynski P., Delen N., eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Emmanouilidis I., (1976). Initiation à la pathologie des plantes .Cours de phytopathologie, pp :15-18 .

F

Fournier E., Giraud T., Albertini A., Brygoo Y (2005). Partition of the *Botrytis cinerea* complex in France using multiple gene genealogies. *Mycologia.* 97: 1251-1267.

Fournier E., Levis C., Fortini D., Leroux P., Giraud T., Brygoo Y (2003). Characterization of Bc-hch, the *Botrytis cinerea* homolog of the *Neurospora crassa* het-c vegetative incompatibility locus, and its use as a population marker. *Mycologia.* 95: 251-261.

G

Giraud T., Fortini D., Levis C., Lamarque C., Leroux P., Lobuglio K., Brygoo Y (1999). Two sibling species of the *Botrytis cinerea* complex, *transposa* and *vacuata*, are found in sympatry on numerous host plants. *Phytopathol.* 89: 967-973.

Giraud T., Fortini D., Levis C., Leroux P., Brygoo Y (1997). RFLP markers show genetic recombination in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) and transposable elements reveal two sympatric species. *Mol. Biol. Evol.* 14: 1177-1185.

Gullino M.L (1992). Chemical control of *Botrytis spp*, in: Recent advances in Botrytis research. Verhoeff K., Malathrakis N.E., Williamson B., eds. Pudoc, Scientific Publishers, Wageningen, The Netherlands. 217-222 pp

H

Hmouni A., Oihabi L., Badoc A. et Douira A. (2003). Étude de la résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles, dicarboximides et dithiocarbamates dans les cultures abritées de tomate de la région du Gharb (Maroc). *Bulletin - Société de Pharmacie de Bordeaux.* 142, 79-100.

Holz G., Coertze S. et Williamson B. (2007). The Ecology of Botrytis on Plant Surfaces in Botrytis: biology, pathology and control. In: Elad Y, Williamson B, Tudzynski P et Delen N. Published by Springer, Dordrecht, the Netherlands. pp. 9-24.

J

Jarvis W.R (1980). Epidemiology, in: The biology of Botrytis. J. R. Coley-Smith, K. Verhoeff and W. R. Jarvis, eds. Academic Press, London, UK. 219-50 pp.

Jarvis W.R (1992). Managing diseases in greenhouse crops American Phytopathological Society, St Paul, MN.

K

Kohl J., Postna J., Nicot P., Ruocco Met Blum B. (2011). Stepwise screening of microorganism for commercial use in biological control of plant pathogenic fungi and bacteria. *Biological control.* 57:1-12.

Korolev N., Mamiev M., Zahavi T., Elad Y (2011). Screening of *Botrytis cinerea* isolates from vineyards in Israel for resistance to fungicides. Eur. J. Plant. Pathol. 129: 591-608.

ℒ

Lepoivre, P. (2003). Phytopathologie: bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. De Boeck Université, Bruxelles, Belgium, p. 432

Leroux, P. (2004). Chemical control of Botrytis and its resistance to chemical fungicides, in: Botrytis: biology, pathology and control. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, p.195-222.

Leroux P. (2007). Chemical control of Botrytis and its resistance to chemical fungicides, in: Botrytis: biology, pathology and control. Elad Y., Williamson B., Tudzynski P. and Delen N. 2007. Ed. Springer, Dordrecht, the Netherlands, 402:195-222.

Levis C., Giraud T., Dutertre M., Fortini D., Brygoo Y. (1997). Telomeric DNA of *Botrytis cinerea*: a useful tool for strain identification. F.E.M.S. Microbiology letters. 157:267-272.

Li, G.Q., Huang, H.C., Acharya, S.N., and Erickson, R.S. (2004). Biological control of blossom blight of alfalfa caused by *Botrytis cinerea* under environmentally controlled and field conditions. Plant Disease 88: 1246-1251.

ℳ

Ma Zh et Michailides Tj, (2005). Genetic structure of *Botrytis cinerea* populations from different host plants in California. Plant Disease, 89, 1083-9.

Martinez F., Blancard D., Lecomte P., Levis C., Dubos B., Fermaud M (2003). Phenotypic differences between vacuina and transposa subpopulations of *Botrytis cinerea*. Eur. J. Plant. Pathol. 109: 479-488.

Martinez F., Dubos B., Fermaud M (2005). The role of saprotrophy and virulence in the population dynamics of *Botrytis cinerea* in vineyards. Phytopathol. 95: 692-700.

Mirzaei S., Goltapeh E.M., Shams-Bakhsh M., Safaie N., Chaichi M (2009). Genetic and phenotypic diversity among *Botrytis cinerea* isolates in Iran. J. Phytopathol. 157: 474-482.

Moorman G.W., Lease R.J (1992). Benzimidazole and dicarboximide resistant *Botrytis cinerea* from Pennsylvania greenhouses. Plant. Dis. 76: 477-480.

Mouden N., Benkiran R., Ouazzanitouhami A., Badoc A. et Douira A. (2010). Effet de six fongicides sur le développement de six souches de *Botrytis cinerea* isolées de fraises.

Mouria B., Ouazani-Touhami A., Mouria A et Douira A (2013). Mise en évidence d'une variation intra spécifique chez *Botrytis cinerea* et lutte biologique in vitro par l'extrait de compost. J. Appl. Biosci. 64:4797-4812.

Muñoz G., Hinrichsen P., Brygoo Y., Giraud T (2002). Genetic characterization of *Botrytis cinerea* populations in Chile. Mycol. Res. 106: 594-601.

N

Nicot P.C., Mermier M., Vaissière B.E., Lagier J (1996). Differential spore production by *Botrytis cinerea* on agar medium and plant tissue under near-ultraviolet light-absorbing polyethylene film. Plant. Dis. 80:555-558.

P

Pie K., Brower Y (1993). Susceptibility of cut rose flower cultivars to infections by different isolates of *Botrytis cinerea*. J. Phytopathol. 137: 233-44.

R

Rami K. (2007). Contribution à l'étude de *Botrytis cinerea* sur la vigne. Thèse. D'ing. I.N.A. El. Harrach.

Raposo R., Gomez V., Urrutia T., Melgarejo P (2000). Fitness of *Botrytis cinerea* associated with dicarboximide resistance. Phytopathol. 90: 1246-1249.

Romanazzi G., Feliziani E. (2014). *Botrytis cinerea* (Gray Mold). In: Bantista-Banicas. Spostharvest Decay Control Strategies. Elsevier. Ine, pp:133-136.

Ross E. Beeveret Pauline L. (2007). Weeds Taxonomy and Genetic Variation of *Botrytis* and *Botryotinia* in *Botrytis*: biology, pathology and control. In: Elad Y, Williamson B, Tudzynski Pet Delen N. Published by Springer, Dordrecht, the Netherlands. pp. 29-34.

S

Shen D., Li B., Li X., Song J., Shi Y., Wang H., Shen D., Li B.J., Li X. X., Song J. P., Shi Y. X., et Wang H. P. (2009). Pathogenicity analysis of different *Botrytis cinerea* strains incucumber. China Vegetables. 25-28.

T

Tiedemann A (1997). Evidence for a primary role of active oxygen species in induction of host cell death during infection of bean leaves with *Botrytis cinerea*. Physiol. Mol. Plant. Pathol. 50: 151-166.

W

Williamson B., Tudzynski B., Tudzynski P., Van Kan J (2007). *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. Mol. Plant. Pathol. 8:561-580.

Y

Yourman L.F., Jeffers S.N., Dean R.A. (2003). Studies on the inherent resistance risk to fenhexamid in *Botrytis cinerea*. Eur. J. Plant. Pathol. 109: 311-317.

Yoder O.C., Whalen M.L (1975). Factors affecting postharvest infection of stored cabbage tissue by *Botrytis cinerea*. Can. J. Bot. 53: 691-699

Z

Korolev N., Mamiev M., Zahavi T., Elad Y (2011). Screening of *Botrytis cinerea* isolates from vineyards in Israel for resistance to fungicides. Eur. J. Plant. Pathol. 129: 591-608.

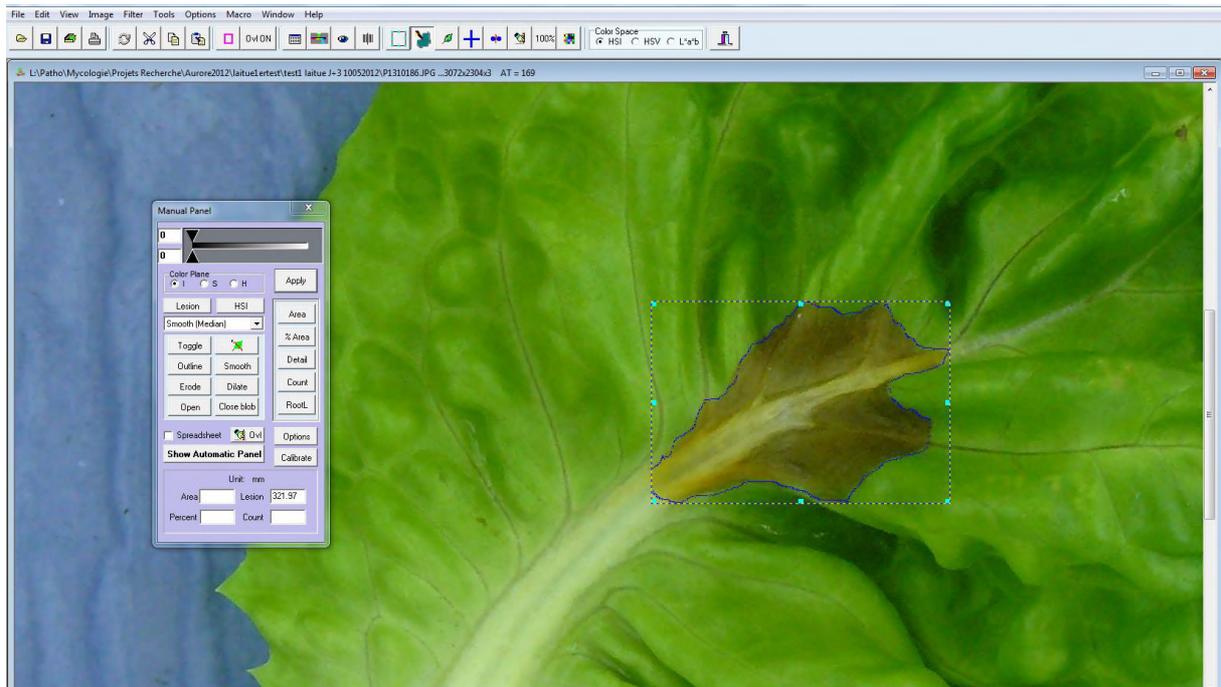
Annexes

Annexe 01 : Milieux de culture

Gélose à extrait de malt (MEA)

| | |
|---------------------------|-----------|
| Extrait de malt | 30g |
| Peptone mycologique | 05g |
| Agar agar | 15g |
| Eau distillée | 1l |
| PH..... | 5,40 ±0,2 |

Annexe 02 : Analyse d'une photographie avec le logiciel ASSESS 2.0



Résumé

B. cinerea est l'agent causal de la pourriture grise qui est l'une des principales maladies aériennes fongique sur diverses cultures d'importance économique. Ce travail s'intéresse à l'étude de l'agressivité des isolats de *B. cinerea* sur quelques plantes hôtes. Un total de 10 isolats de *B. cinerea* ont été testé sur les feuilles de (féverole, laitue, haricot, l'oignon) pour suivre le niveau d'agressivité de chaque isolat sur chaque feuille. Les résultats obtenus montrent une grande diversité d'agressivité entre les isolats de *B. cinerea* étudiés et entre les feuilles des quatre plantes hôtes. Les isolats de groupe H1 sont plus agressives sur les feuilles de féverole et les feuilles d'oignon que celles de groupe H2. Sur les feuilles de laitue, les isolats de groupe H2 sont plus agressives. En exploitant les résultats de ce présent travail, on peut suggérer une spécificité d'hôte de *B. cinerea*.

Mots clés : *Botrytis cinerea*, Féverole, Laitue, Haricot, Oignon, Agressivité.

Abstract

B. cinerea is the causal of gray mold which is one of the most significant fungal diseases on various important crops. The present work aiming to evaluate the aggressiveness of *B. cinerea* isolates on some host plants. A total of 10 isolates of *B. cinerea* divided on two haplotypic group, were tested on leaves of four host plant (Faba bean, Lettuce, Bean, Onion) to monitor the level of aggressiveness. The results obtained show a great diversity of aggressiveness between the isolates of *B. cinerea* studied and between the leaves of the four host plants. *B. cinerea* isolates from the H1 group were more aggressive than the H2 group isolates on faba bean leaves and onion leaves. On the leaves of lettuce, isolates of the H2 group were the most aggressive. No difference in aggressiveness was found between the two groups on the bean leaves. Host specificity was discussed in this study.

Key-words: *Botrytis cinerea*, Faba bean, Lettuce, Bean, Onion, Aggressiveness.