

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité : Écologie Microbienne



Réf :

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Évaluation de l'agressivité d'*Alternaria sp* sur
une gamme d'hôtes et essai de biocontrôle**

Présenté par :

DJERROUD YASMINE

Soutenu le 22 Juin 2023 devant le jury composé de :

Présidente	Mme. CHIBANE N.	MCB	U.A.M.Bejaia
Examineur	Mr. LADJOUZI R.	MAA	U.A.M.Bejaia
Promotrice	Mlle. BOUAOUD Y.	MCB	U.A.M.Bejaia

Année Universitaire : 2022-2023

REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie Dieu, le tout puissant, de m'avoir donné la force nécessaire et la patience qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail

*Je tiens à remercier **Mme BOUAOUD Y** pour avoir accepté de diriger ce travail, qu'elle trouve ici, l'expression de ma profonde gratitude et mon grand respect, pour tous ses efforts, son savoir, ses idées, sa confiance et ses encouragements.*

*Mes remerciements s'adressent également aux membres du jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'évaluer et de juger ce travail, **Mr LADJOUZI R** en qualité d'examineur et **Mme CHIBANE N** en qualité de présidente*

*Je tiens aussi à remercier tout le personnel du laboratoire de mycologie de l'université Abderrahmane mira de Bejaia en particulier les ingénieurs de laboratoire **Mme Tabet Souhila** et **Mme Kerrache Lydia** pour leur gentillesse et leur disponibilité*

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chère parents, symboles de courage et de volonté, qui ont consacré et sacrifié leur vie pour mon bien être

Je remercie particulièrement ma très chère maman, quoi que je fasse quoi que je dise je ne saurais te remercier comme il se doit, tu m'as comblé avec ta tendresse, et je serai reconnaissante tout au long de ma vie, pour son soutien, encouragement, sacrifice,

Amour et affection.

A mon cher frère Habib

A mon fiancé Fayçal

A mes cousines : celia, nouara, zahwa, wardia, lamia, merina, dyhia, amina, zakia, thanina et tous mes cousins sans exception

A mes chers grand père et mère pour leur présence à toutes les épreuves

A ma belle-mère et mon beau-père

A mes tantes et mes oncles

Ainsi qu'à tous ceux et celles qui me connaissent.

JASMINE

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : *Alternaria*:agent de l'alternariose

1-Caractéristique générales de l'agent pathogène..... 3

2-Conditions favorables au développement 4

3- Caractéristiques morphologiques..... 4

 3-1.Aspect macroscopique 4

 3-2. Aspect microscopique 4

4-Taxonomie 5

5-Symptômes..... 6

6-Dégâts provoqués et leurs importances économique 7

7-Cycle de développement 8

Chapitre II : Stratégies de lutte contre *Alternaria*

1-Pratiques culturales 10

2-Lutte chimique 11

3-Lutte génétique..... 13

4-Lutte biologique 13

 4-1. Les mécanismes d'action 14

5-Protection intégrée 15

1-Matériel et méthodes..... 16

1-Revivification de la souche fongique et des souches bactériennes.....	16
1-1.Souche fongique.....	16
1-2.Souches bactériennes	16
2- Aspect morphologique d' <i>Alternaria</i>	17
3-Evaluation du pouvoir pathogène de la souche <i>Alternaria</i> et son agressivité sur une gamme de végétaux.....	17
4-Evaluation de l'effet des deux bactéries « in vitro » sur la souche phytopathogènes <i>Alternaria</i>	21
4-1. Effet des bactéries sur la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> par confrontation directe.....	21
4-2. Effet des bactéries sur la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> par confrontation indirecte	22
5-Evaluation de l'effet des deux bactéries « in vivo » sur la souche phytopathogènes <i>Alternaria</i>	23
6-Analyses statistiques	25
1-Résultats et discussion	26
1-Caractéristiques morphologiques.....	26
1-1.Aspect microscopique	26
1-2.Aspect macroscopique	26
2-Evaluation du pouvoir pathogène de la souche <i>Alternaria</i> et son agressivité sur une gamme de végétaux.....	27
3--Evaluation de l'effet des deux bactéries « in vitro » sur la souche phytopathogène <i>Alternaria</i>	32
3-1.Cofrontation directe	32
3-2.Confrontation indirecte	33
4-Evaluation de l'effet des deux bactéries « in vivo » sur la souche phytopathogène <i>Alternaria</i>	35

Conclusion..... 41

Références bibliographiques

Résumé

Liste des Abréviations

CTTFL : Centre Technique Interproted.

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

BCA: Biological Control Agent (plants).

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique.

IDM : Inter Ported Difease manofemt.

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Position taxonomique <i>d'Alternaria sp</i>	05
2	Les principales matières actives efficaces contre <i>Alternaria sp</i>	12

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Aspect macroscopique d' <i>Alternaria</i> sp cultivé sur milieu Malt-Agar	4
2	Aspect microscopique de quelques espèces appartenant au genre d' <i>Alternaria</i> (a) <i>A. arborescens</i> , (b) <i>A. alternariae</i> , (c) <i>A. arrhenatheri</i> , (d) <i>A. chartarum</i>	5
3	Les symptômes provoqués par <i>Alternaria</i> sp sur les feuilles de différents végétaux (a) feuille de tomate, (b) feuille de pomme de terre, (c) feuille de poivron, (d) feuille de piment, (e) feuille d'aubergine	6
4	Taches sur les tiges de différents végétaux provoquées par <i>Alternaria</i> sp (a) sur tige de tomate, (b) sur tige de pomme de terre, (c) sur tige de poivron, (d) sur tige de piment, (e) sur tige d'aubergine provoquées par <i>Alternaria</i> sp	7
5	Lésions d' <i>Alternaria</i> sur les différents fruits (a) sur tomate, (b) sur pomme de terre, (c) sur poivron, (d) sur piment, (e) sur aubergine.	7
6	Cycle de développement d' <i>Alternaria</i> sp.	9
7	Différents moyens utilisés dans la lutte contre l'Alternariose	11
8	Repiquage d' <i>Alternaria</i> sur milieu de culture PDA	16
9	Photos des deux bactéries testées comme agents de lutte biologique potentiels ; T23 : <i>Bacillus methylotrophicus</i> et T18 : <i>Bacillus</i> sp	17
10	Observation microscopique du champignon <i>Alternaria</i> sous microscope optique avec la technique du Scotch test. (a) morceau de scotch placé à la surface de la lame (b) observation de la lame au microscope optique.	17
11	Étapes de préparation de la suspension sporale d' <i>Alternaria</i>	18
12	Étapes de prélèvement des disques fongiques <i>Alternaria</i> .	19
13	Test d'agressivité d' <i>Alternaria</i> sur fruits des différents végétaux (tomate, poivron, pomme de terre, piment, aubergine).	19
14	Test d'agressivité d'<i>Alternaria</i> sur feuilles végétales (tomate, poivron, pomme de terre, piment ; données manquantes pour l'aubergine).	20
15	Test d'agressivité d'<i>Alternaria</i> sur tiges végétales (tomate, poivron, pomme de terre, piment ; données manquantes pour l'aubergine).	21
16	Evaluation de l'effet direct des bactéries (T18 et T23) sur le développement d'<i>Alternaria</i>	22
17	Evaluation de l'effet indirect des bactéries (T18 et T23) sur le développement d'<i>Alternaria</i>	23
18	Evaluation de l'effet des bactéries (T18 et T23) à l'égard d'<i>Alternaria</i> sur les différents fruits	24
19	Evaluation de l'effet des bactéries à l'égard d'<i>Alternaria</i> sur feuilles (poivron, piment, tomate et pomme de terre, données manquantes pour l'aubergine).	24

20	Evaluation de l'effet des bactéries à l'égard d' <i>Alternaria</i> sur tiges des végétaux (tomate, poivron, piment, pomme de terre, données manquantes pour l'aubergine)	25
21	Aspect macroscopiques d' <i>Alternaria</i> sur boîte de Petri contenant le milieu PDA	26
22	Aspect microscopique d' <i>Alternaria</i> observé sous microscope optique au grossissement (×40)	26
23	Photos montrant les lésions provoquées par la souche <i>Alternaria</i> sur les différents végétaux (A) sur tomate (B) pomme de terre (C) aubergine (D) sur poivron et piment	27
24	Diamètres des lésions (mm) provoqués par <i>Alternaria</i> sur les des différents végétaux testés. Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau de l'agressivité de la souche <i>Alternaria</i> selon le test statistique de Tukey.	28
25	Photos montrant les symptômes provoqués par la souche <i>Alternaria</i> sur les feuilles des différents végétaux (A) sur pomme de terre (B) piment (D) poivron	29
26	Diamètres des lésions (mm) provoqués par <i>Alternaria</i> sur les feuilles des différents végétaux testés. Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau de l'agressivité de la souche <i>Alternaria</i> selon le test statistique de Tukey.	29
27	Photos montrant les symptômes provoqués par la souche <i>Alternaria</i> sur les tiges des différents végétaux (A) sur tomate(B) pomme de terre (C) poivron et (D) piment	30
28	Longueurs des lésions (mm) provoqués par <i>Alternaria</i> sur les feuilles des différents végétaux testés. Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau de l'agressivité de la souche <i>Alternaria</i> selon le test statistique de Tukey.	31
29	Photos montrant l'effet direct des deux bactéries sur le développement du champignon phytopathogène <i>Alternaria</i> . (A) en présence des deux bactérie T18 et T23 (B) boîte témoin en absence du traitement.	32
30	Rayons de la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> , chez le témoin et en présence des deux bactéries T18 et T23. Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau de la croissance mycélienne de la souche <i>Alternaria</i> en présence et en absence des bactéries selon le test statistique de Tukey.	33

31	Photos montrant l'effet indirect des deux bactéries sur le développement du champignon phytopathogène <i>Alternaria</i> . (A et B) en présence des deux bactérie T18 et T23 (C) boîte témoin en absence du traitement.	34
32	Diamètres de croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> , chez le témoin et en présence des deux bactéries T18 et T23. Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au	34
33	Photos des résultats du test sur fruits des différents végétaux (A) sur tomate (B) sur pomme de terre (C) sur aubergines (D) sur poivron	36
34	Diamètres des lésions (mm) provoqués par la souche d' <i>Alternaria</i> sur les différents fruits des végétaux en présence et en absence du traitement avec les deux bactérie (T18 et T23). Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau du développement d' <i>Alternaria</i> en présence et en absence des bactéries selon le test statistique de Tukey	36
35	Photos des résultats du test sur feuilles des différents végétaux (A) sur tomates (B) sur pomme de terre (C) sur poivrons et (D) sur piments	38
36	Diamètres des lésions (mm) provoqués par la souche d' <i>Alternaria</i> sur les différents feuilles des végétaux en présence et en absence du traitement avec les deux bactérie (T18 et T23). Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau du développement d' <i>Alternaria</i> en présence et en absence des bactéries selon le test statistique de Tukey.	38
37	Photos des résultats du test sur feuilles des différents végétaux (A) sur tomates (B) sur pomme de terre (C) sur piment et (D) sur poivron	39
38	Longueurs des lésions (mm) provoqués par la souche d' <i>Alternaria</i> sur les différents tiges des végétaux en présence et en absence du traitement avec les deux bactérie (T18 et T23). Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau du développement d' <i>Alternaria</i> en présence et en absence des bactéries selon le test statistique de Tukey.	39

Introduction

Introduction

L'alternariose ou brûlure Alternarienne, est une maladie cryptogamie causée par différentes espèces appartenant au genre *Alternaria* et est considérée comme l'une des maladies des plantes les plus répandues dans le monde. On la retrouve particulièrement dans les régions où les cultures de tomate, de pomme de terre, de poivrons et d'aubergine sont dominantes (**Tsedaley, 2014**).

Alternaria sp s'attaque à différents organes des plantes dont les feuilles, fruits, tiges, pétioles, et rameaux sur lesquels il provoque d'important dégâts (**Chourasiya et al., 2013**). En effet, ce phytopathogène entraîne des pertes économiques considérables avec des déficits de rendement allant jusqu'à 79% dans certains pays. La maladie de l'alternariose est donc considérée comme étant une des maladies de pré et post récolte les plus importantes (**Marwa et al., 2014**).

Différentes stratégies sont alors déployées par les agriculteurs pour lutter contre cette maladie comme le recours aux pratiques culturales, la lutte génétique et surtout la lutte chimique avec l'application de fongicides qui reste la méthode la plus utilisée de nos jours. Cependant, cette utilisation excessive des produits phytosanitaires pour traiter les cultures engendre de graves problèmes environnementaux et touche aussi la santé des consommateurs et celle des utilisateurs qui peuvent développer de nombreuses maladies, d'où l'importance de réduire l'utilisation de ces produits chimiques en agriculture (**Chourasiya et al., 2013**).

La protection biologique des cultures constitue donc une bonne alternative à la lutte chimique et suscite beaucoup d'intérêt de la part de la communauté scientifique, du fait de son efficacité à limiter de nombreuses maladies des cultures, et aussi car elle est considérée comme plus respectueuse de l'environnement et moins nocive pour la santé humaine. D'ailleurs différents agents de lutte biologique sont actuellement commercialisés dans le monde pour lutter contre les différents agents phytopathogènes dont *Alternaria* à l'image des *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Trichoderma* largement utilisés dans la lutte biologique (**Moges, 2012**).

C'est dans cette perspective que s'inscrit notre travail dont l'objectif global est d'apporter notre contribution à l'étude d'un champignon phytopathogène nommé *Alternaria* responsable de la maladie de l'alternariose sur différentes cultures. Ce mémoire a donc pour objectifs :

- D'évaluer le pouvoir pathogène et l'agressivité sur une gamme de végétaux d'une souche d'*Alternaria* récemment isolée en Algérie sur un fruit de tomate.

- Tester l'effet de deux bactéries antagonistes appartenant au genre *Bacillus* à l'égard du champignon phytopathogène *Alternaria* *in vitro* et *in vivo*.

Pour répondre à ces objectifs, on a divisé notre travail en deux parties :

Partie bibliographique : qui retrace les caractéristiques générales d'*Alternaria*, l'agent responsable de l'alternariose ainsi que les stratégies de lutte utilisées contre ce champignon.

Partie expérimentale : qui consiste dans un premier temps à étudier le pouvoir pathogène et l'agressivité de la souche *Alternaria* sur différents végétaux et différents organes du végétale ; puis dans un deuxième temps d'évaluer l'effet antagoniste de deux espèces de *Bacillus* sur le développement du champignon pathogène par des tests *in vitro* et *in vivo*.

Synthèse Bibliographique

Alternaria : Agent de l'alternariose

1- Caractéristiques générales de l'agent pathogène

Alternaria est un genre de champignon phytopathogène responsable de la maladie de l'alternariose (Early blight), dont plusieurs espèces sont connues pour être des agents pathogènes majeurs de plusieurs plantes (Wang et al., 2015).

Alternaria est un champignon ubiquiste qui incluent des espèces pathogènes, des endophytiques et des saprophytes habituellement présentes dans le sol ou les tissus végétaux en décomposition (Wang et al., 2015).

Les espèces d'*Alternaria* sont également des champignons opportunistes qui provoquent une gamme de maladies affectant une grande variété de plantes hôtes d'importance agronomique et économique majeurs comme les céréales, les oléagineux, les légumes comme le chou-fleur, le brocoli, les carottes, et les pommes de terre et fruits comme les tomates, les agrumes et les pommes (Dhaval et al., 2021).

Le genre *Alternaria* comprend près de 299 espèces extrêmement ubiquitaires. En effet, ce genre est vaste et comprend plusieurs phytopathogènes économiquement importants comme *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tomatophila*, *Alternaria brassicicola* de nombreuses espèces d'*Alternaria* sont des motifs importants nécrose de la culture, et les stades sexuels sont absents chez la plupart des espèces y compris *Alternaria solani* (Adhikari et al., 2017).

Les espèces d'*Alternaria*, sont connues pour produire un large spectre de métabolites secondaires et de mycotoxines, constituant ainsi le groupe de champignon le plus fréquemment signalé dans la contamination des produits alimentaires. Par ailleurs, l'impact potentiel des espèces d'*Alternaria* et des mycotoxines produites par ces dernières sur les produits alimentaires en pré et post-récolte a été largement documenté dans la littérature scientifique (Lee et al., 2015 ; Lawrence et al., 2016 ; Pinto et Patriarca 2017).

2- Conditions favorables au développement

Le champignon *Alternaria* se développe à des températures de 18°C à 29°C et une humidité avoisinant les 90%. En effet, La production des spores d'*Alternaria* s'effectue à des températures comprises entre 8°C et 24°C, avec des températures optimales et maximale entre 16°C à 24°C et le temps de sporulation varie de 12 heure à 24 heure. L'humidité élevée est essentielle pour l'infection avec un minimum de 9 heure à 18 heure pour la majorité des espèces. Une humidité continue de 24 heure ou plus garantit pratiquement l'infection (Simões, ;Mamgain et al., 2013)

3- Caractéristiques morphologiques

3-1. Aspect macroscopique

Le champignon *Alternaria* a une croissance rapide sur les milieux de culture classiques (PDA, Malt Agar ...). Sur boîte de Petri, il produit des colonies d'aspect cotonneux, qui prennent une teinte brun rougeâtre au même temps que la gélose sous-jacente (Blancard, 2009).



Figure 1 : Aspect macroscopique d'*Alternaria sp* cultivé sur milieu Malt-Agar (Blancard, 2009)

3-2. Aspect microscopique

Les espèces du genre *Alternaria* possèdent un mycélium cloisonné qui produisent des spores asexuées qu'on appelle conidies, ces conidies sont septées avec des cloisons transversales et longitudinales (Figure 2). Les cellules sont ovoïdes plus ou moins allongés, de taille variable (entre 160-200µm de long), elles sont multi nucléées et de couleur foncée. Selon les espèces elles possèdent un pigment de type mélanine qui leur servent de protection contre les conditions environnementales défavorables (Achetbi et al., 2021).

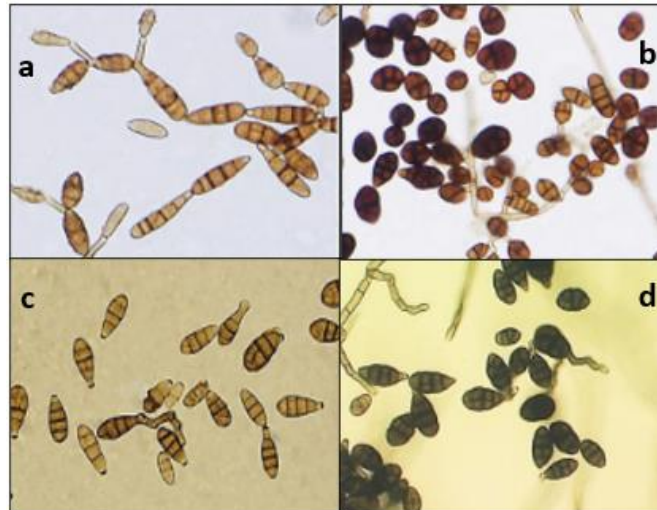


Figure 2 : Aspect microscopique de quelques espèces appartenant au genre d'*Alternaria* (a) *A. arborescens*, (b) *A. alternariae*, (c) *A. arrhenatheri*, (d) *A. chartarum* (Lawrence et al., 2016).

4- Taxonomie

La taxonomie d'*Alternaria sp* a connue plusieurs étapes d'évolutions. Au départ entre 1816-1850, il y avait confusion entre le genre *Alternaria* et les autres genres : *Macrosporium*, *Stemphylium*, *Brachycladim* et *Ulocladium*. Entre 1930 à 1960 des révision des noms *Alternaria* et *Macrosporium* ont été apporté et e, 2013 Simmons a entrepris une réévaluation et une révision complète de tous les noms et taxons du genre *Alternaria* (Lawrence et al., 2016).

Tableau 1 : Position taxonomique d'*Alternaria sp* (Mamgain et al., 2013; Thomma, 2003).

	Forme Asexuée	Forme Sexuée
Règne	Eumycota	Eumycota
Phylum	Imperfecti (Deutéromycètes)	Ascomycota
Classe	Hypomycètes	Dothediomycètes
Ordre	Moniliales	Pleosporales
Famille	Dematiaceae	Pleosporaceae
Genre	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i>

5- Symptômes

Les espèces du genre *Alternaria* s'attaquent à tous les organes aériens de la plante (fruits, tiges et feuilles) et à tous les stades de croissance provoquant ainsi la pourriture et le flétrissement de la plante, une défoliation précoce peut être causée par *Alternaria solani* qui affaiblit les plantes et expose les fruits aux brûlures. *Alternaria solani* est plus susceptible d'attaquer les baies semi-mûres que les baies mûres les baies infectées tombent avant d'atteindre leur maturité, ce qui les rend invendables (Dhaval et al., 2021) (figure 3).

- Sur feuilles

Des tâches irrégulières généralement circulaires de couleur brune à brun foncé sur les feuilles, avec des lignes concentriques à l'intérieur des taches, souvent les tâches circulaires s'assemblent pour former de grandes tâches, ce qui donne lieu à la brûlure des feuilles (Mamgain et al., 2013) (figure3).



Figure 3 : les symptômes provoqués par *Alternaria sp* sur les feuilles de différents végétaux (a) feuille de tomate, (b) feuille de pomme de terre, (c) feuille de poivron, (d) feuille de piment, (e) feuille d'aubergine (INRAE 2020).

- Sur tiges

Ce champignon est à l'origine d'*Alternariose* noire plus ou moins disséminés sur la tige, localisé à proximité du collet ou plus en hauteur. Après avoir encerclé la tige, les lésions sont capables d'entraîner assez rapidement le dessèchement des plantes et leur mort. Ces attaques sont due à la contamination des semences et ou du sol de la pépinière, des tâches assez comparable sont également constatées sur les pétioles et les pédoncules, elles ont une teinte noirâtre et ont généralement une forme plus allongée, ces lésions peuvent ceinturer l'organe atteint et provoquer le dépérissement de sa partie distale (Blancard et al., 2009) (figure 4).

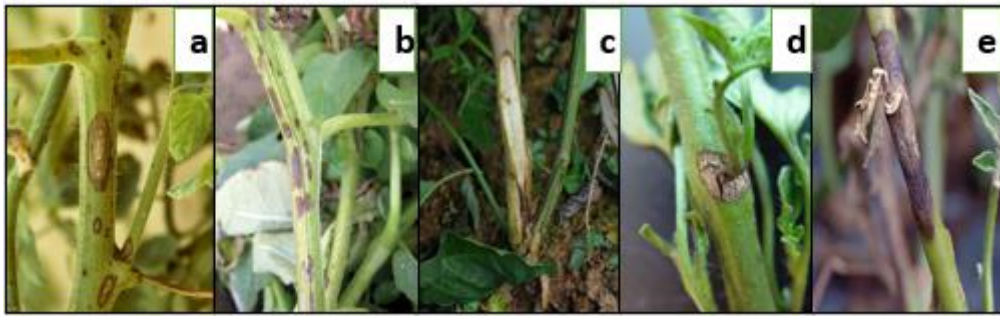


Figure 4 : Taches sur les tiges de différents végétaux provoquées par *Alternaria sp* (a) sur tige de tomate, (b) sur tige de pomme de terre, (c) sur tige de poivron, (d) sur tige de piment, (e) sur tige d'aubergine provoquées par *Alternaria sp* (INRA , 2014).

- Sur fruits

Les espèces d'*Alternaria* peuvent provoquer des pourritures sur les fruits. Ces dernières se manifestent par l'apparition à leur surface d'une couche noire et veloutée composé par le mycélium et les spores, dans le cas de la tomate une petite lésion à la surface peut monter une propagation étendue de l'infection à l'intérieur de fruit, la majorité du temps, les fruits infectés tomberont prématurément (Khelifi & Harrach, 2019) (figure 5) .

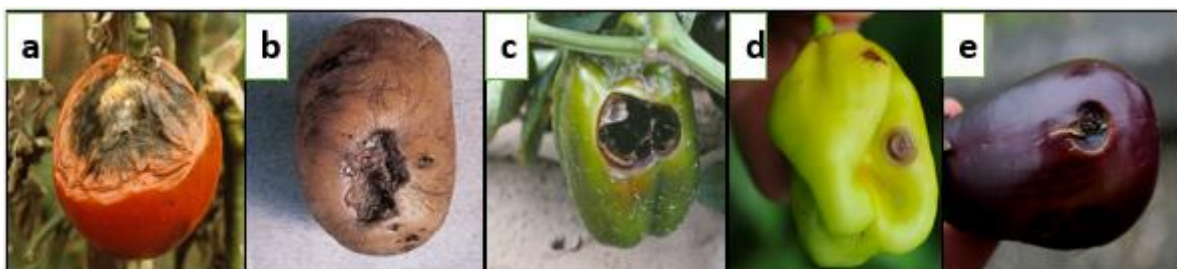


Figure 5 : Lésions d'*Alternaria* sur les différents fruits (a) sur tomate, (b) sur pomme de terre, (c) sur poivron, (d) sur piment, (e) sur aubergine. (INRA, 2014)

6- Dégâts provoqués et leurs importance économiques

L'alternariose, une maladie aérienne de la tomate répandue mondiale, on l'a trouvé sur tous les continents où ces solanacées sont cultivées, elle est présente dans de nombreuses zones climatiques, des Zones de production tropicales subtropicales et tempérées, Cette maladie est également très présente dans de nombreux jardins, provoque des dégâts considérables sur les fruits et la défoliation précoce des plantes. Ces dommages, accentués par des conditions climatiques humide (Blancard et al.,2009). En effet, les espèces d'*Alternaria* sont responsables de pertes de rendement très important peuvent atteindre jusqu'à 79% de perte de récolte signalé dans certains pays comme le Canada, Inde aux États-Unis et au Nigeria (Marwa et al.,2014).

L'Alternariose est considérée comme l'une des maladies pré- et poste-récolte les plus courantes en Australie, au Royaume-Uni où d'importants dégâts ont été enregistrés allant de 35% à 78% et en France, elle affecte l'ensemble de la production du champ, et on l'observe aussi sous tunnels plastique (Marwa et al.,2014). En Algérie et d'autres régions méditerranéennes, cette maladie est redoutée pour ses effets dévastateurs sur les cultures de la famille des solanacées, affectant non seulement la production agricole mais aussi l'industrie alimentaire (Bessadat et al.,2016). Les espèces d'*Alternaria* produisent différentes mycotoxines comme l'Alternariol (AoH),l'Alternariol méthyle éther (AME) ,l'altenuen (ALT) ainsi que l'acide tenuazonique (TeA) .Ces substance sont connus pour leurs effets toxiques sur l'animal et l'homme (Yekeler et al.,2001).

7- Cycle de développement

Alternaria se reproduit de manière asexuée et n'a pas de stades sexuels connus. Ce champignon hiverne dans le sol, dans les débris végétaux, les graines sous forme de conidies ou de mycélium, qui peuvent être la principale source d'inoculum (Figure 6) (Dhaval et al., 2021). Par ailleurs, la paroi cellulaire épaisse des conidies permet aux champignons de s'adapter aux conditions climatiques défavorables (Dhaval et al., 2021).

L'infection se produit dans des environnements chauds et humides. Les conidies germent en présence d'humidité dans des conditions fraîches et humides à une température de 8 à 32 ° C, formant des tubes germinatifs qui pénètrent directement dans les tissus de l'hôte ou pénètrent par les stomates ou les plaies, provoquant ainsi une infection. Les lésions apparaissent 2 à 3 jours après l'infection, selon les conditions environnementales, l'âge des feuilles et la sensibilité du cultivar. La sporulation a lieu 3 à 5 jours après l'apparition des lésions. En général, la production de spores nécessite une longue période humide, mais les spores sont également produites dans des conditions humides et sèches. Les conidies sont alors rapidement dispersés par le vent ou les projections d'eau, et le cycle de la maladie se poursuit sur les autres parties saines de la plante ou des plantes voisines (Dhaval et al., 2021).

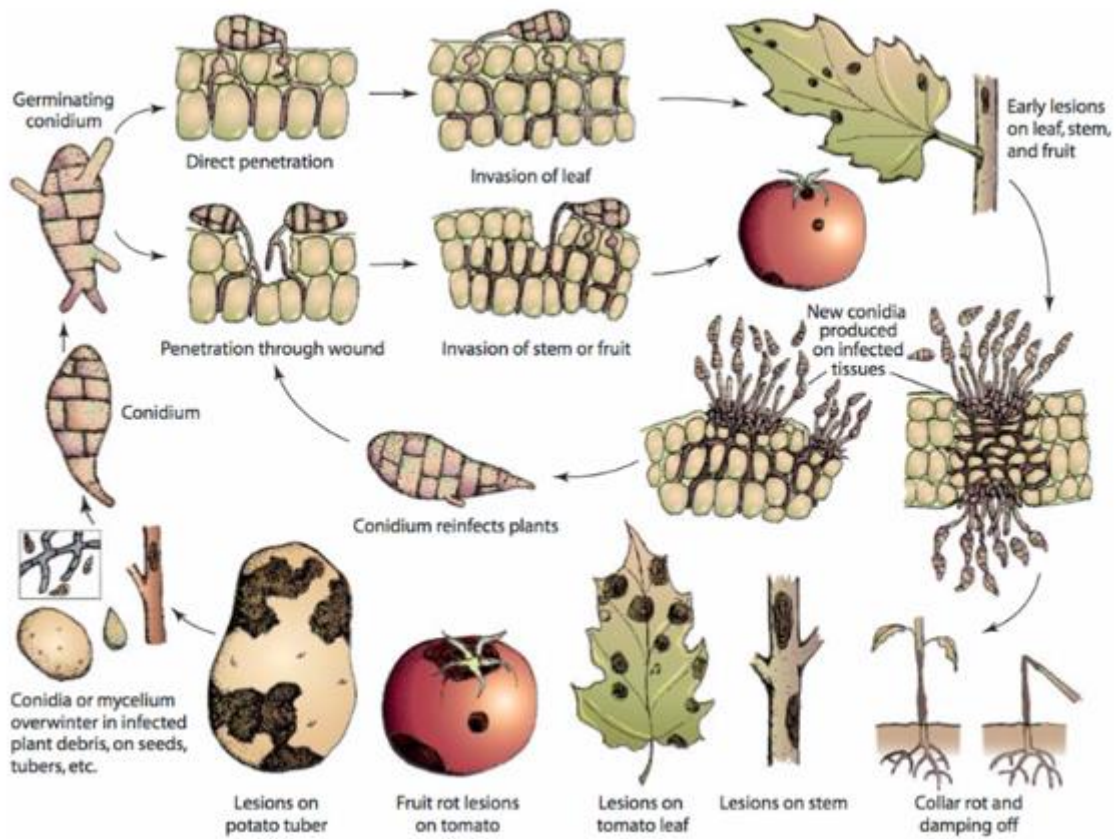


Figure 6 : Cycle de développement d'*Alternaria sp.* (Agris, 2005)

Stratégies de lutte contre *Alternaria*

Plusieurs stratégies existent pour contrôler les espèces *Alternaria* sur les différentes cultures végétales et éviter des pertes économiques considérables, parmi ces quelles : les pratiques culturales, la luttés chimique, génétique, et la protection biologique (**Mamgain et al., 2013**).

1- Pratiques Culturales

➤ Rotation des cultures

La rotation des cultures est une pratique efficace pour prévenir certaines maladies. Elle est utilisé pour la gestion de ce pathogène est nécessaire pendant 3 à 5 ans en utilisant des plantes exemptes d'agents pathogènes (**Dhaval et al., 2021**).

➤ Irrigation

Le système d'irrigation peut avoir une influence sur le développement de l'aletrnariose. Plusieurs études ont montré que l'irrigation par goutte à goutte réduit considérablement le développement de certaines maladies comme l'alternariose. (**Jindo et al., 2021**).

➤ Rayonnement ultraviolet

Le blocage des rayons UV par des toiles ou couvertures végétales peut retarder le développement des infections par l'aletrnariose. La sporulation est affectée par l'exposition aux radiations, car les conidiophores sont formés sous humidité élevée et lumière. Il est important de noter que cette méthode peut inhiber non seulement le développement de l'alternariose mais également inhibent d'autre maladies causées par d'autres microorganismes pathogènes (**Jindo et al., 2021**).

D'autres pratiques peuvent également s'ajouter pour limiter le développement de la maladie comme l'élimination des débris végétaux et l'utilisation des semences saines (**Figure 7**).

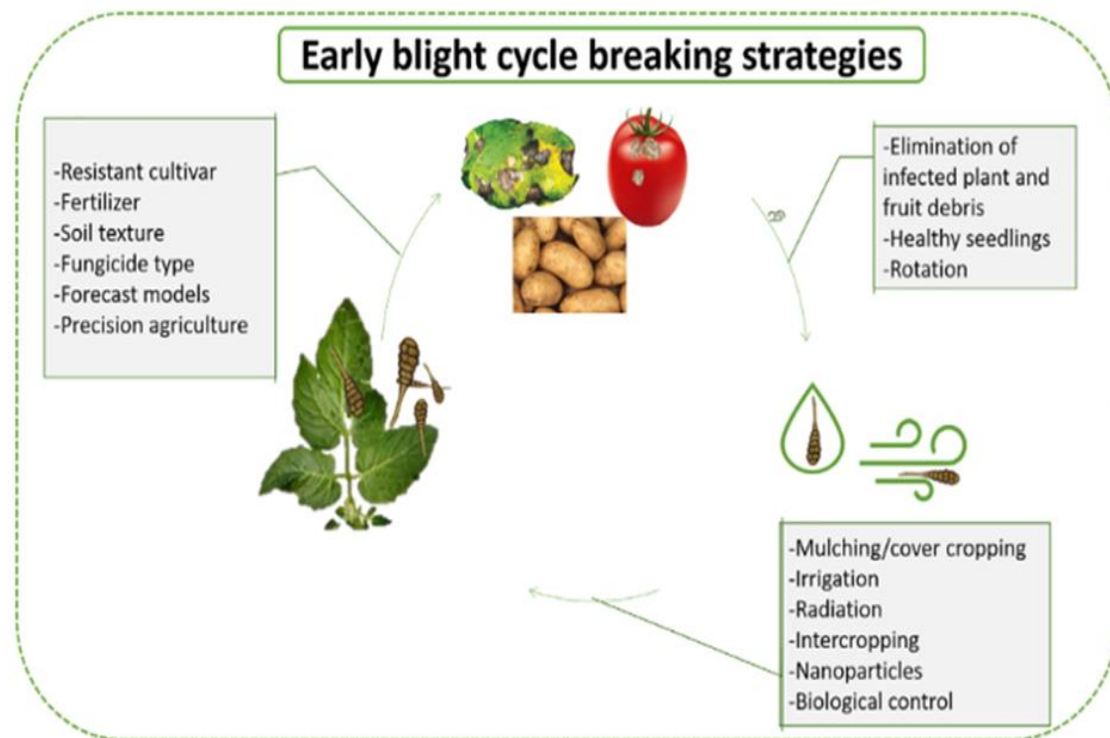


Figure 7 : Différents moyens utilisés dans la lutte contre l’Alternariose (Jindo et al., 2021)

2- Lutte chimique

Plusieurs fongicides sont utilisés à la fois pour le traitement des semences et pour la pulvérisation du feuillage dont Iprodione, l’hexaconazole, mancozèbe, carbendazime, ridomil MZ, chlorothalonil, captan et la strobilurine etc. pour limité la maladie (Saqib et al., 2020).

Dans certaines zones de production, l’application de fongicide est indispensable pour contrôler de façon adéquate l’Alternariose. Par exemple, l’iprodione est appliqué tous les 14 jours, et selon le CTIFL, il est nécessaire de l’appliquer de façon préventive.

Pour que le traitement soit actif, plusieurs paramètres de la culture sont à prendre en compte, en particulier, le choix des matières actives et la durée d’application en fonction du calendrier des travaux culturaux. D’autres produits comme le mancozèbe et le chlorothalonil sont des fongicides de contact qui sont également utilisés régulièrement à des intervalles de 7 à 10 jours pour protéger les nouvelles pousses et pour prévenir le lessivage de ces produits par les pluies (Lecomte, 2013). Les inhibiteurs mitochondriaux ou QoI (“Quinone Outside Inhibitors”) comme l’azoxystrobine, la pyraclostrobine, la trifloxystrobine, la fenamidone et la famoxidone se sont montrés très efficace à l’égard des espèces d’*Alternaria* inféodées à la pomme de terre et à la tomate (Lecomte, 2013).

Ces fongicides présentent les bénéfices suivants : une efficacité intégrée et un mode d'action multi-site qui réduit le danger d'apparition de souches résistantes dans les populations d'*Alternaria* spp. Cependant, parmi les inconvénients de ces produits de synthèse, on peut mentionner que la nécessité de leur utilisation régulière et leur taux d'application relativement élevé accroît les coûts et augmente la pollution environnementale et l'apparition des phénomènes de résistance (Lecomte, 2013).

Tableau 2 : Les principales matières actives efficaces contre *Alternaria* sp (Achetbi et al., 2021).

Matière active	Référence
Difenoconazole	Farooq et al., (2018); Schutte et al., (1994); Eckert et Bretschneider, (1981); Stuart et al., (2009)
Mancozèbe	Krause et al., (1999); Farooq et al., (2018); Stuart et al., (2009); Swart et al., (1998)
Composés à base de cuivre	Krause et al., (1999); Stuart et al., (2009); Vicent et al., (2007)
Tebuconazole	Schutte et al., (1994); Stuart et al., (2009); Swart et al., (1998)
Azoxystrobine	Sadowsky et al., (2002); Farooq et al., (2018); Miles et al., (2005).
Procymidone	Krause et al., (1999); Swart et al., (1998)
Métalaxyl + Mancozèbe ; Azoxystrobine + Difénoconazole; Chlorothalonil, Hexaconazole et Dodine	Farooq et al., (2018)
Imazalil, 2,4-D	Eckert et Bretschneider, (1981)
Pyraclostrobine	Sadowsky et al., (2002)

3- Lutte génétique

Les variétés résistantes employées pour gérer la maladie de l'alternariose constituent un autre moyen proposé dans certains cas pour lutter contre cette maladie fongique. Il existe chez certaines espèces végétales dont les crucifères sauvages, des sources potentielles de résistance. Ainsi des niveaux de résistance élevés ont été rapportés chez plusieurs espèces de *Sinapsis* (*S. alba*, *B. juncea*, *B. carinata*, *B. nigra*, *B. maurorum*). Certaines espèces sont principalement importantes car elles présentent des résistances multiples à plusieurs agents pathogènes (Ma, 2011).

Par ailleurs, deux génotypes de piments très résistants, CA 87-4 et CA 748 ont été identifiés contre la pourriture des fruits causée par *Alternaria*, alors que les génotypes de tomate viz. Arka Alok, Arka Abha, Arka meghali, Arka Saurabh, IHR-305, IHR-308, IHR-2266, IHR-2285 et IHR-2288 se sont avérés résistants contre l'alternariose (Mamgain et al, 2013).

4- Lutte biologique

La lutte biologique est l'une des alternatives les plus intéressantes notamment face à la surutilisation des fongicides de synthèse, d'autant plus que l'utilisation de micro-organismes pour lutter contre les pathogènes en pré et post-récolte s'est avérée fructueuse (Chacón et al., 2022).

Plusieurs études basées sur les micro-organismes antagonistes tels que les champignons et les bactéries dans le but de contrôler les champignons phytopathogènes ont démontré l'importance de ces derniers pour inhiber la croissance fongique et d'améliorer le bon développement des plantes (Carrascal-Hernández et al., 2022).

Les *rhizobactéries* (PGPR) qui favorisent la croissance des sembleraient intéressantes comme agents de lutte biologique (BCA) à l'égard de différents agents pathogènes (Boyno et al., 2022).

Trichoderma spp. est un bon exemple d'agents de lutte biologique fongique efficace et a été largement étudié et est développé partout à travers le monde. D'ailleurs, les enzymes dégradantes de la paroi cellulaire qu'il produit, y compris la chitinase et la glucanase, qui semblent jouer un rôle important dans l'action antagoniste de *Trichoderma* contre un large éventail de phytopathogènes fongiques, ce champignon présente aussi un effet antagoniste contre, *Alternaria sp* (Kushwaha et al., 2014).

Les souches appartenant au genre *Bacillus* ont été développées commercialement sous la forme d'une formulation à base de talc et testées vis à vis de nombreuses maladies des plantes dont l'alternariose. Elles peuvent soit agir directement sur l'agent pathogène soit induire une résistance systémique chez les plantes hôtes, et activer les multiples mécanismes de défense de la plante (Latha et al., 2009).

4-1. Les mécanismes d'action

Les agents de lutte biologique limitent les maladies des plantes, habituellement par un ou divers modes d'action suivants : antibiose, hyperparasitisme, compétition, et induction d'une résistance de l'hôte (Prajapati et al., 2020).

➤ **Antibiose**

Il s'agit de la production des composés de faible poids moléculaire ou d'un antibiotique par des micro-organismes qui ont un effet direct sur la croissance des pathogènes des plantes. Un agent de biocontrôle efficace est celui qui produit des quantités suffisantes d'antibiotiques à proximité de phytopathogènes (Junaid et al., 2013).

➤ **Hyperparasitisme**

L'hyperparasitisme est un mécanisme d'antagonisme important qui implique une croissance de l'agent de lutte biologique vers l'organisme cible, l'enroulement, l'attaque et la dissolution de la paroi cellulaire ou de la membrane de l'agent pathogène cible par l'activité des enzymes. C'est l'un des principaux mécanismes impliqués chez le genre *Trichoderma* comme *Trichoderma harzianum* présente une meilleure activité mycoparasitaire (Junaid et al., 2013)

➤ **La compétition**

La compétition pour l'espace et les sources nutritifs comme le carbone est considéré parmi les mécanismes antagonistes fondamentaux exercés par les bactéries à l'égard des phytopathogènes. La capacité des bactéries à coloniser le végétal atteint dépend de son aptitude d'adaptation et d'assimilation des sources nutritives nécessaires qui sont également essentiels à la survie et à la multiplication des champignon phytopathogène (Carmona-Hernandez et al., 2019).

➤ **Induction de la résistance**

L'induction de résistance implique la capacité d'une bactérie antagoniste à causer une réponse de défense chez l'hôte par nombreuses réactions chimiques ou biochimiques, y compris des changements dans la structure des tissus et la production de protéines liée à la pathogenèse, exprimée localement ou systémiquement. La production des phytohormones, comme l'acide salicylique, l'acide jasmonique, l'éthylène et l'acide abscisique et leur interaction, permettant l'activation des défenses immunitaires en réponses à l'égard des pathogènes. (Carmona-Hernandez et al., 2019).

5- Protection intégrée

Une approche durable de la lutte contre les maladies consiste à fusionner plusieurs stratégies de lutte, appelées aussi gestion intégrée des maladies (IDM) (Achetbi et al., 2021).

Selon Cooley (1996), le concept de l'IDM comprend les aspects suivants :

- Le perfectionnement de la lutte contre les maladies d'une manière écologique, économique et rationnel exemple : Rotation des cultures, l'utilisation des prédateurs naturels et la sélection de variétés résistantes.
- Mettre l'accent sur l'utilisation coordonnée de multiples tactiques pour améliorer la production agricole exemple : irrigation.
- Maintenir les dégâts causés par la maladie en dessous des niveaux nuisibles tout en minimisant les risques pour l'homme, les animaux, les plantes et l'environnement exemple : l'utilisation des produits biologiques.
- Le développement de techniques de production économiques et prévenir la résistance des maladies aux produits chimiques (Achetbi et al., 2021).

Cette stratégie repose sur le principe que le pesticide diminue le pathogène ou supprime sa population tout en donnant à l'antagoniste un avantage concurrentiel pour coloniser et se multiplier sur l'hôte. La lutte biologique est utilisée dans de nombreuses situations et elle vise souvent la destruction de l'inoculum existant, la suppression du pathogène après infection et l'exclusion du pathogène de l'hôte. Cela pourrait conduire à l'utilisation d'une concentration plus faible de produits chimiques dans la lutte contre les maladies, un facteur souhaitable en termes de protection de l'environnement et de la santé humaine. Les pratiques culturales, y compris la fertilisation et l'irrigation adéquate, sont autant intéressantes. Les blessures des fruits et la récolte tardive doivent être évitées. Dans le cas d'*Alternaria*, ce système pourrait inclure la mise en place des brise-vent et l'emploi des agents antagonistes, selon leur compatibilité (Achetbi et al., 2021).

Matériel et Méthodes

Notre travail a été réalisé dans laboratoire de mycologie de l'Université Abderrahmane mira de Bejaïa, durant la période allant mars a juin 2023.

1-Revivification de la souche fongique et des souches bactériennes

1-1. Souche fongique

La souche fongique utilisée dans cette étude appartient au genre *Alternaria*. Elle provient de la collection du laboratoire d'écologie microbienne de l'université de Bejaia. Cette souche a été collectée en 2022 et isolée à partir du fruit de tomate (en Algérie) infecté par l'alternariose. Elle a été purifiée par la technique de monospore et conservé au frigo à -4 °C sous forme de suspension sporale. La revivification a été faite en prélevant 20 µl de suspension sporale d'*Alternaria* et en la déposant sur boite de Petri contenant le milieu de culture PDA. Les boites de Petri ont été incubées à 25°C pendant 4 jours. A chaque besoin expérimental, des implants mycéliens sont prélevés à partir de la boite mère à l'aide d'une flashe lancéolée stérile et sont repiquées dans de nouvelles boite de Petri et mis à incubation à 25°C pendant 4 jours pour l'obtention du mycélium et jusqu'à 10 jours pour la suspension de spores (**Figure 8**).

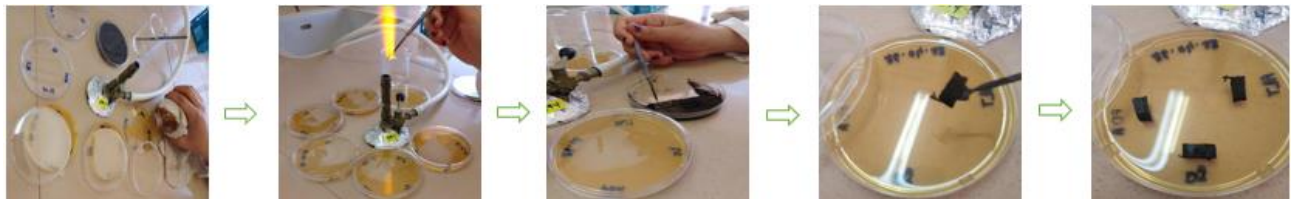


Figure 8 : Repiquage d'*Alternaria* sur milieu de culture PDA

1-2. Souches bactériennes

Dans cette étude, deux bactéries appartenant au genre *Bacillus* (Souche *Bacillus methylotrophicus* T23 et *Bacillus sp* T18) ont été utilisées comme agents de lutte biologiques potentiel à l'égard de la souche *Alternaria*. Ces souches ont été isolées en Algérie au cours des travaux de thèse de M^{me} Bouaoud yousra et ont été identifiées sur la base du séquençage de l'ADNr 16s. A des fins expérimentales, ces souches ont été repiqués à partir des tubes de conservations et cultivés sur milieu de culture gélose nutritive (GN) à 25°C.



Figure 9 : Photos des deux bactéries testées comme agents de lutte biologique potentiels ; T23 : *Bacillus Bacillus methylotrophicus* et T18 : *Bacillus sp*

2- Aspect morphologique d '*Alternaria*

L'aspect microscopique du champignon *Alternaria* est vérifié en utilisant la technique du « scotch test ». Le matériel fongique est prélevé à l'aide d'un morceau de scotch et placé à la surface de la lame puis est observé directement au microscope optique (grossissement $\times 10$ puis $\times 40$) pour observer les caractéristiques microscopiques d'*Alternaria*. L'aspect macroscopique est déterminé en observant directement l'aspect du champignon sur boîte de Petri contenant PDA.

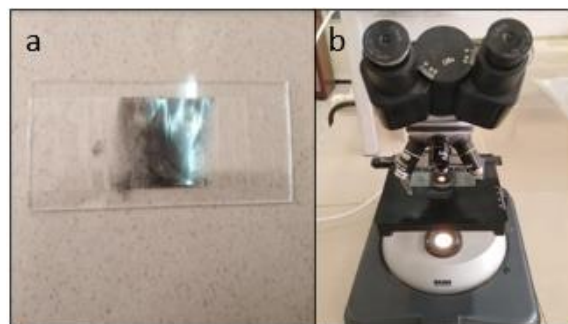


Figure 10 : Observation microscopique du champignon *Alternaria* sous microscope optique avec la technique du Scotch test. (a) morceau de scotch placé à la surface de la lame (b) observation de la lame au microscope optique.

3- Evaluation du pouvoir pathogène de la souche *Alternaria* et son agressivité sur une gamme de végétaux

L'agressivité de la souche *Alternaria* est testée à l'égard de plusieurs végétaux (tomate, pomme de terre, aubergine, poivron et piment) et sur différents organes du végétal (fruit, feuille et tige), en s'inspirant du protocole de l'INRA dont voici les principales étapes :

- Préparation du matériel végétal

Les fruits testés (tomate, aubergine, poivron et piment) et tubercule de pomme de terre dans cette étude ont été achetés du commerce et ont été lavés avec de l'eau de javel et rincés plusieurs fois avec de l'eau de robinet, puis séchés avant d'être déposés dans des boîtes en plastiques qui contiennent du papier absorbant préalablement imbibé.

Les feuilles et tiges de pomme de terre âgées de 3 mois, de poivron variété « Hyparé », piment variété « 4 coin », et tomate variété « Joker » âgées d'un mois (récupérée à la pépinière de Bejaia) et non traités avec des produits phytosanitaires sont directement inoculées avec le champignon phytopathogène après avoir été placées dans des boîtes en plastiques contenant du papier absorbant préalablement imbibé.

- Préparation de la suspension sporale et des disques fongiques

La suspension sporale d'*Alternaria* a été préparée en ajoutant 4 ml d'eau distillée stérile dans une boîte de Petri contenant la culture fongique d'*Alternaria* âgée de 10 jours. Les spores sont raclées à l'aide d'un râteau étaleur et mis dans un tube eppendorf. L'ajustement de la concentration de spores à 10^5 spores/ml est réalisé en prélevant $17\mu\text{l}$ de cette suspension et en la déposant dans la cellule mallassez. Le dénombrement est effectué à l'aide du microscope optique en comptant le nombre de spores présentes dans le quadrillage de la cellule selon la formule suivante : $C = (N/n) * 10^5$ spores/ml (**Figure 11**).

C : Concentration de la suspension de spores (spores/ml)

N : nombre totale de spores comptées

n : nombre de rectangles dénombrés



Figure 11 : Etapes de préparation de la suspension sporale d'*Alternaria*

Les disques fongiques de 5mm de diamètre sont formés avec un embout jaune stérile à partir des boîtes contenant le champignon *Alternaria* cultivée sur milieu PDA et âgée de 4 jours.

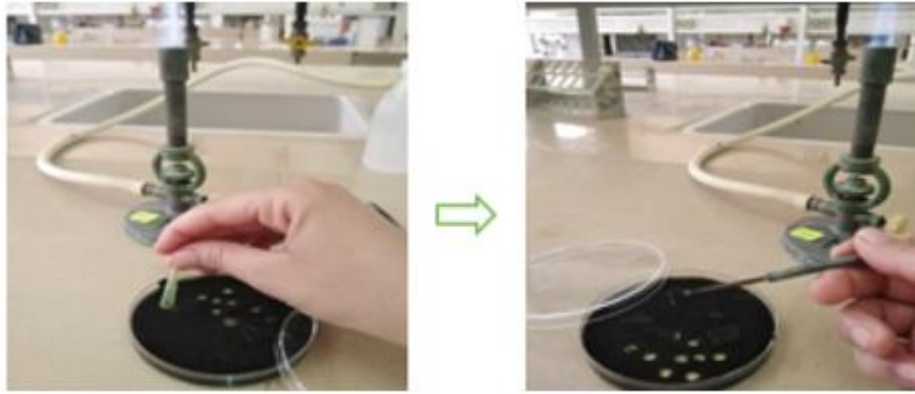


Figure 12 : Etapes de prélèvement des disques fongique d'*Alternaria*.

- **Inoculation sur différents organes**

Sur fruits : des blessures de 2 mm de diamètre sont provoquées sur les différents fruits de tomates variété (joker), tubercules pommes de terre, fruits d'aubergines, poivrons variété (hyparé) et piments variété (4 coin) sur chaque côté du fruit à l'aide de la pointe d'un cône stérile. 20 μ l de suspensions sporales ajusté à 10^5 spores/ml sont ensuite inoculés au niveau des blessures. Cinq répétitions de fruits avec deux blessures de chaque côté sont prévues. Un témoin sans champignon est également réalisé. Les boîtes en plastiques inoculées sont incubées à 25°C pendant 7 jours (tomate, pomme de terre et aubergine) et 10 jours (piment et poivron). La notation est effectuée quotidiennement à partir du 3^{ème} jours jusqu'au 10^{ème} jours en mesurant les diamètres des lésions en millimètres.



Figure 13 : Test d'agressivité d'*Alternaria* sur fruits des différents végétaux (tomate, poivron, pomme de terre, piment, aubergine).

Sur feuilles : les feuilles des végétaux tomate, pomme de terre, poivron et piment sont inoculées avec des disques fongiques déposés au centre de chaque feuille à raison d'un disque par feuille.

Trois feuilles minimums sont à chaque fois inoculées par *Alternaria* pour chaque végétale. Un témoin avec l'eau distillée sans la présence de champignon est également réalisé pour chaque végétal. Les boîtes en plastiques contenant les feuilles végétales inoculées sont ensuite incubées à 25°C pendant 10 jours. La notation est effectuée quotidiennement à partir du 3^{ème} jours jusqu'au 10^{ème} jours en mesurant les diamètres des lésions en millimètres.



Figure 14 : Test d'agressivité d'*Alternaria* sur feuilles végétales.

Sur tiges : l'inoculation des tiges végétales (tomate, pommes de terre, poivron et piment) est réalisée au niveau des chicots de pétioles après retrait des feuilles. Deux chicots par tige et une tige par boîte sont réalisés. L'inoculation s'effectue avec 20 μ l de suspension sporale dosée à 10⁵ spores/ml pour chaque chicot. Un témoin sans *Alternaria* est également réalisé. Les boîtes en plastique sont ensuite incubées à 25°C pendant 10 jours. La notation est effectuée quotidiennement à partir du 3^{ème} jours jusqu'au 10^{ème} jours en mesurant les diamètres des lésions en millimètres.



Figure 15 : Test d'agressivité d'*Alternaria* sur tiges végétales.

4- Evaluation de l'effet des deux bactéries « *in vitro* » sur la souche phytopathogène *Alternaria*

4-1. Effet des bactéries sur la croissance mycélienne d'*Alternaria* par confrontation directe

Le test a été réalisé sur boîtes de Petri contenant du milieu de culture PDA, en mettant en confrontation les souches bactériennes (T18 et T23) avec le champignon phytopathogène *Alternaria*. Un disque fongique d'*Alternaria* de 5 mm de diamètre âgé de 4 jours a été prélevé et déposé au centre de la boîte de Petri. Des disques bactériens de 5 mm de diamètres et âgées de 48 h ont été également prélevées à l'aide de cones stériles et placés à une distance de 2.5 cm du disque fongique. Trois disques bactériens ont été placés par boîte pour chaque souche bactérienne. Le témoin sans bactéries a également été réalisé (Petatán-Sagahón et al., 2011). L'ensemble des boîtes sont mis à incubation à 25°C pendant 10 jours. La notation est effectuée en mesurant les rayons de croissance mycélienne et les pourcentages d'inhibitions de la croissance mycélienne (PGI%) ont été ensuite calculés en appliquant la formule suivante :

$$\text{PGI}\% = (\text{R}_1 - \text{R}_2) / \text{R}_1 \times 100$$

Avec, R1 : correspond aux rayons du mycélium d'*Alternaria* dans la boîte témoin et R2 : qui correspond aux rayons de croissance mycélienne en présence des bactéries.



Figure 16 : Evaluation de l'effet direct des bactéries (T18 et T23) sur le développement d'*Alternaria*

4-2. Effet des bactéries sur la croissance mycélienne d'*Alternaria* par confrontation indirecte

L'effet des deux souches bactériennes (T18 et T23) a également été évalué par confrontation indirecte pour évaluer l'effet des substances volatiles sur le développement du champignon *Alternaria*. Les bactéries antagonistes sont ensemencées sur des boîtes de Petri contenant le milieu de culture PDA. Un disque de champignon (5 mm de diamètre) est déposé au centre d'une autre boîte de Petri contenant le même milieu. L'assemblage est ensuite réalisé par superposition des deux boîtes en utilisant une double couche de parafilm (**Figure 17**). Le témoin contenant juste le disque mycélien d'*Alternaria* seul sans les bactéries a été effectué. (Jamalizadeh et al., 2008). L'incubation des boîtes de Pétri a été faite à une température 25°C pendant 10 jours. La croissance mycélienne a été suivie et comparée avec le témoin sans bactérie. La notation a été faite en mesurant les diamètres de la croissance mycélienne, le calcul des pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne (PGIv%) a été ensuite réalisé selon la formule suivante :

$$\text{PGIv}\% = (\text{D}_1 - \text{D}_2) / \text{D}_1 \times 100$$

D1 : Diamètre de croissance mycélien d'*Alternaria* dans la boîte témoin, (D2) : Diamètre de croissance mycélien de *B. cinerea* en présence des bactéries.

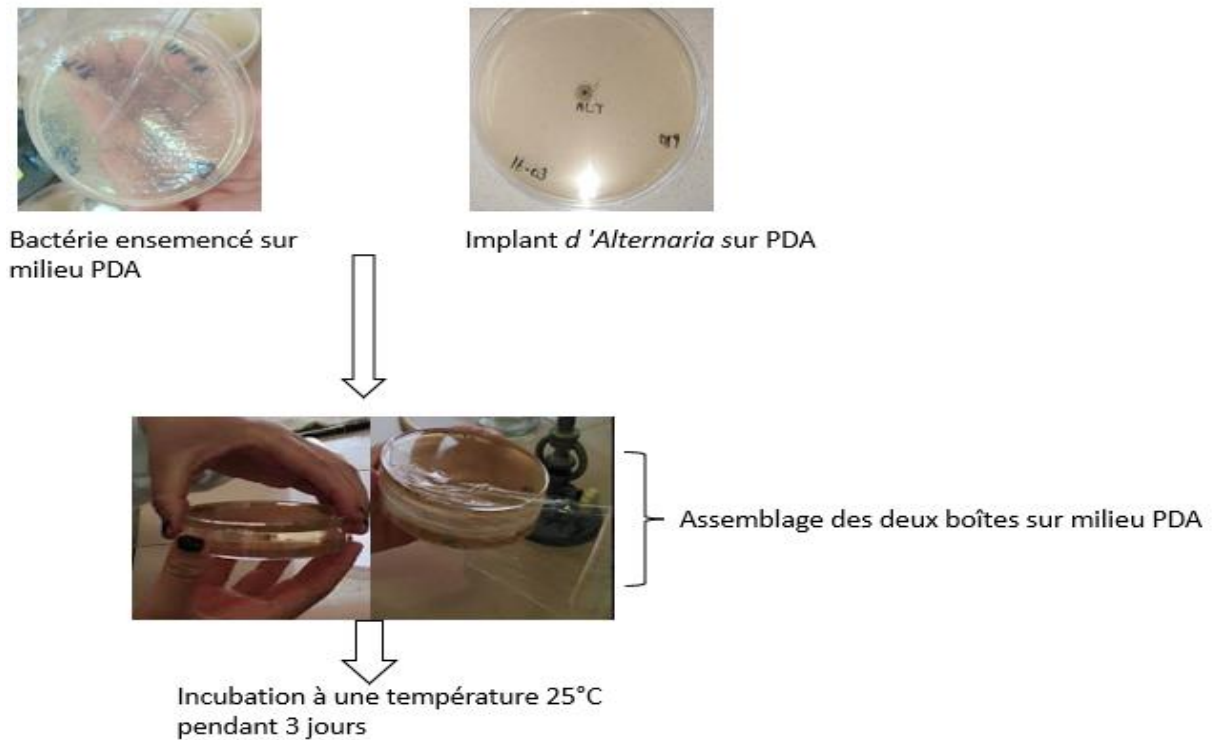


Figure 17 : Evaluation de l'effet indirect des bactéries (T18 et T23) sur le développement d'*Alternaria*

5- Evaluation de l'effet des deux bactéries « *in vivo* » sur la souche phytopathogènes *Alternaria*

L'effet des deux agents de lutte biologique potentiels (T18 et T23) a été testé à l'égard d'*Alternaria* sur différents végétaux (Tomate, pomme de terre, aubergine, poivron et piment) et différents organes végétales (fruits, feuilles et tiges) en suivant le même principe que le test d'agressivité et en appliquant le protocole de l'INRA.

Sur fruits : Après avoir provoqué des blessures de 2 mm de diamètre sur les différents fruits de tomates, pommes de terre, aubergines, poivrons et piments à l'aide d'un cône stérile, 20 μ l de suspensions sporales ajustés à 10^5 spores/ml ont été inoculés suivi de l'inoculation de 20 μ l de suspensions bactériennes ajustées à 10^8 UFC/ml. Quartes répétitions par modalité ont été prévus pour ce test. Un témoin en absence des bactéries a été également réalisé. Les boites en plastique sont incubées à 25°C pendant 7 jours. La notation est effectuée quotidiennement à partir du 3^{ème} jours jusqu'au 10^{ème} jours en mesurant les diamètres des lésions en millimètres.



Figure 18 : Evaluation de l'effet des bactéries (T18 et T23) à l'égard d'*Alternaria* sur les différents fruits

Sur feuilles : les feuilles des végétaux de tomate, pomme de terre, poivron et piment sont d'abord pulvérisées avec les suspensions bactériennes dosées à 10^8 UFC/ml. Après séchage des feuilles, des disques fongiques de 5 mm diamètres sont déposés au centre de chaque feuille à raison d'un disque par feuille. Trois répétitions sont réalisées par modalité. Un témoin sans inoculation des bactéries est également réalisé pour chaque végétal. Les boîtes en plastiques contenant les feuilles végétales inoculées sont ensuite incubées à 25°C pendant 10 jours. La notation est effectuée quotidiennement à partir du 3^{ème} jours jusqu'au 10^{ème} jours en mesurant les diamètres des lésions en millimètres.



Figure 19 : Evaluation de l'effet des bactéries à l'égard d'*Alternaria* sur feuilles (poivron, piment, tomate et pomme de terre, données manquantes pour l'aubergine).

Sur tiges : l'inoculation des tiges végétales (tomate, pommes de terre, poivron et piment) est réalisée au niveau des chicots des pétioles après retrait des feuilles. L'inoculation s'effectue avec 20 μl de suspension sporale dosée à 10^5 spores/ml pour chaque chicot suivi d'une inoculation de 20 μl de suspensions bactériennes dosées à 10^8 UFC/ml. Deux chicots par tige sont réalisés pour chaque modalité (témoin, traitement avec T18 et T23). Un témoin sans

bactéries est réalisé. Les boîtes en plastique sont ensuite incubées à 25°C pendant 10 jours. La notation est effectuée quotidiennement à partir du 3^{ème} jours jusqu'au 10^{ème} jours en mesurant les diamètres des lésions en millimètres.



Figure 20 : Evaluation de l'effet des bactéries à l'égard d'*Alternaria* sur tiges des végétaux (tomate, poivron, piment, pomme de terre, données manquantes pour l'aubergine)

6- Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel GraphPad Prism (version 8). Des analyses Anova ont été réalisées pour tester l'effet d'*Alternaria* sur la gamme de végétaux et pour tester l'effet de chacune des bactéries (T18 et T23) sur le développement *in vitro* (Rayons et diamètres mycéliens) et *in vivo* (diamètres de lésions mm) de la souche *Alternaria*. Dans le cas où des différences significatives sont détectées, le test de comparaison multiple des moyennes de Tukey est réalisé.

Résultats et discussions

1- Caractéristiques morphologiques

1-1. Aspect macroscopique

Après 5 jours d'incubation du champignon phytopathogène cultivé sur boîtes de Petri contenues le milieu de culture PDA, on a pu observer un mycélium d'aspect cotonneux et de couleur beige qui devient foncé au fur et à mesure que le champignon vieillit. Cet aspect est semblable à celui des souches appartenant au genre *Alternaria* (Figure 21).

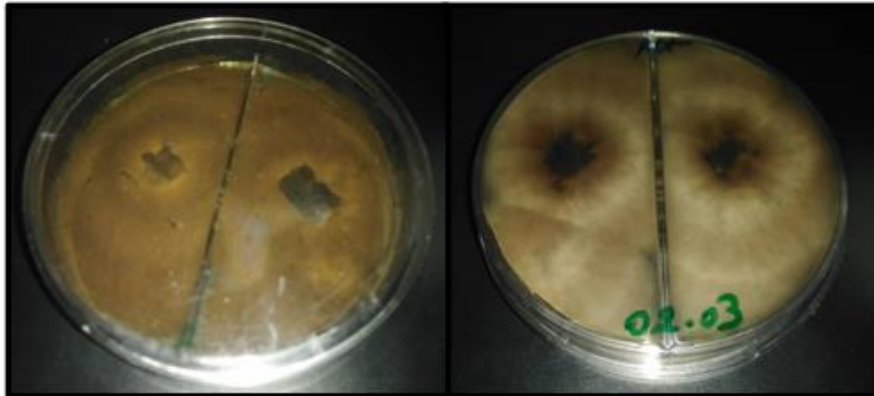


Figure 21 : Aspect macroscopiques d'*Alternaria* sur boîte de Petri contenant le milieu PDA

1-2. Aspect microscopique

L'observation microscopique au grossissement $\times 40$ a permis de montrer un mycélium cloisonné avec des conidiophores qui produisent des conidies, de forme piriforme à ovoïde possédant des cloisons transversales et longitudinales de couleur brunes très caractéristique du genre *Alternaria* (Figure 22)



Figure 22 : Aspect microscopique d'*Alternaria* observé sous microscope optique au grossissement ($\times 40$)

2- Evaluation du pouvoir pathogène de la souche *Alternaria* et son agressivité sur une gamme de végétaux

Sur fruits :

Les résultats du test du pouvoir pathogène d'*Alternaria* testée dans cette étude montre que cette souche est capable d'induire des lésions sur les différents végétaux testés à savoir les fruits de tomate, tubercules de pomme de terre, fruits d'aubergine, poivron et piments comme l'illustre la figure 23, ce qui confirme le pouvoir pathogène de ce champignon et sa capacité à provoquer la maladie chez les végétaux.

Cependant, le niveau d'agressivité de la souche *Alternaria* est différent en fonction du végétal testé selon le test Anova (P-value = 0.0011), spécialement entre l'aubergine et les autres végétaux testés (Figure 24). En effet, la souche fongique semble être plus agressive sur poivron et tomate avec des diamètres moyens de lésion de 54 et de 48.10 mm respectivement, suivi de la pomme de terre et du piment avec des diamètres moyens de lésion de 40.38 et 36.81 mm respectivement. L'aubergine semble être la moins touchée par la maladie provoquée par la souche d'*Alternaria* testée (diamètre moyen de lésion 16.25mm), ce qui implique que ce champignon n'attaque pas d'une même manière les différents végétaux.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Pahnwar et al., 2021) qui ont également démontré différents niveaux d'agressivités de leur souche *Alternaria sp* vis-à-vis des deux végétaux testés à savoir le piment et la tomate.

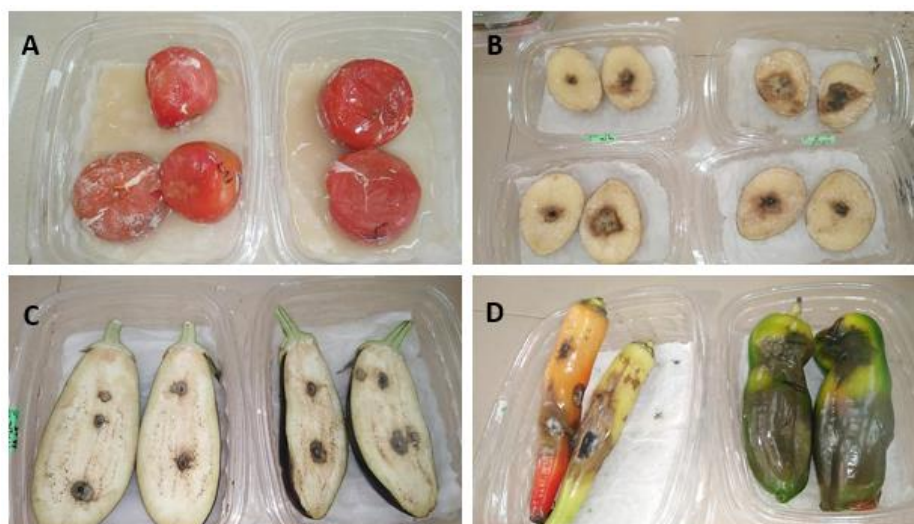


Figure 23 : Photos montrant les lésions provoquées par la souche *Alternaria* sur les différents végétaux (A) sur tomate (B) pomme de terre (C) aubergine (D) sur poivron et piment

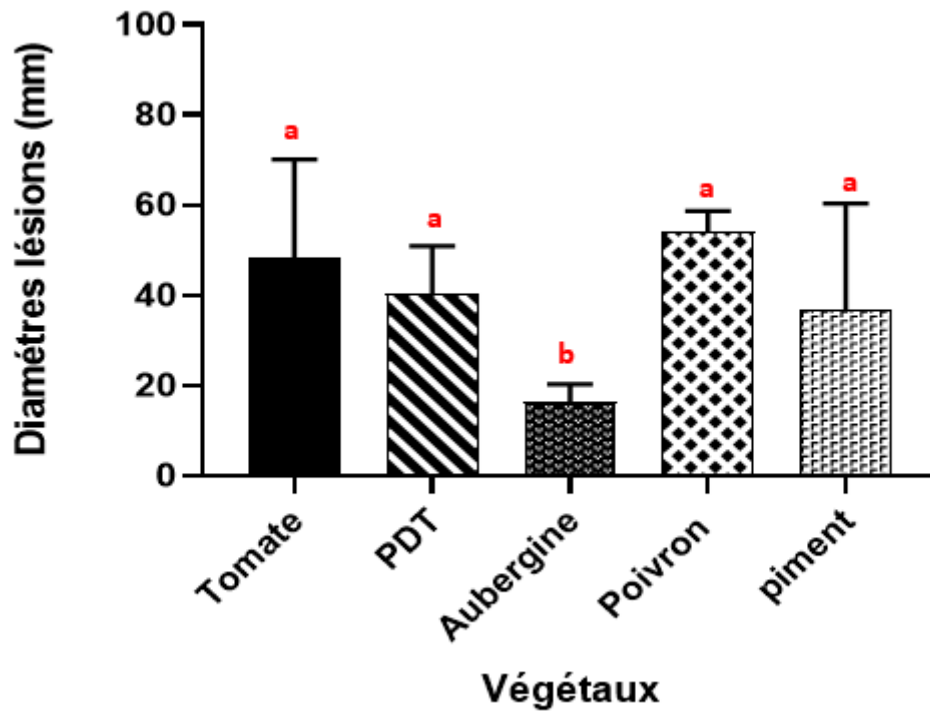


Figure 24 : Diamètres des lésions (mm) provoqués par *Alternaria* sur les des différents végétaux testés. Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau de l'agressivité de la souche *Alternaria* selon le test statistique de Tukey.

Sur feuilles :

Les résultats du test du pouvoir pathogène sur feuilles végétales montrent que la souche *Alternaria* testée est capable de provoquer des symptômes sur les différents végétaux testés qui sont la pomme de terre, la tomate, le poivron et le piment (Figure 25), ce qui confirme la aussi que ce champignon peut avoir un pouvoir pathogène sur les feuilles végétales.

Par ailleurs, cette agressivité est significativement différente en fonction du végétal selon le test Anova (P value < 0.0001). La souche d'*Alternaria* semble plus agressive sur feuilles de pomme de terre (diamètre moyen de lésion 79.17 mm), suivi ensuite des feuilles de piments, poivron et tomate avec des diamètres de lésion de 42,50 ; 40.83 et 28,75 mm respectivement (Figure 26).

Ces résultats sont similaire avec ceux de (Tymon et al., 2016) qui ont évalué l'effet de plusieurs souches d'*Alternaria* sur feuilles de pomme de terre et ont montré un fort pouvoir pathogène du champignon phytopathogène.

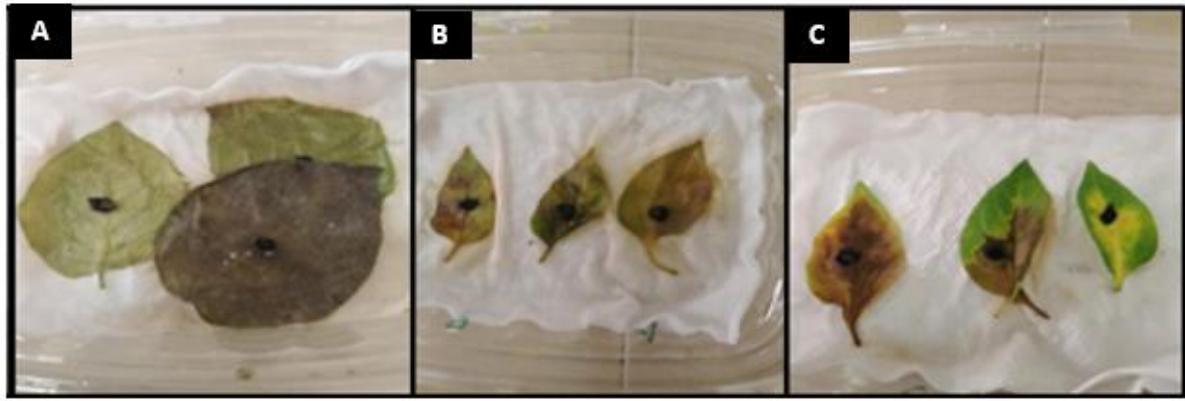


Figure 25 : Photos montrant les symptômes provoqués par la souche *Alternaria* sur les feuilles des différents végétaux (A) sur pomme de terre (B) piment (D) poivron

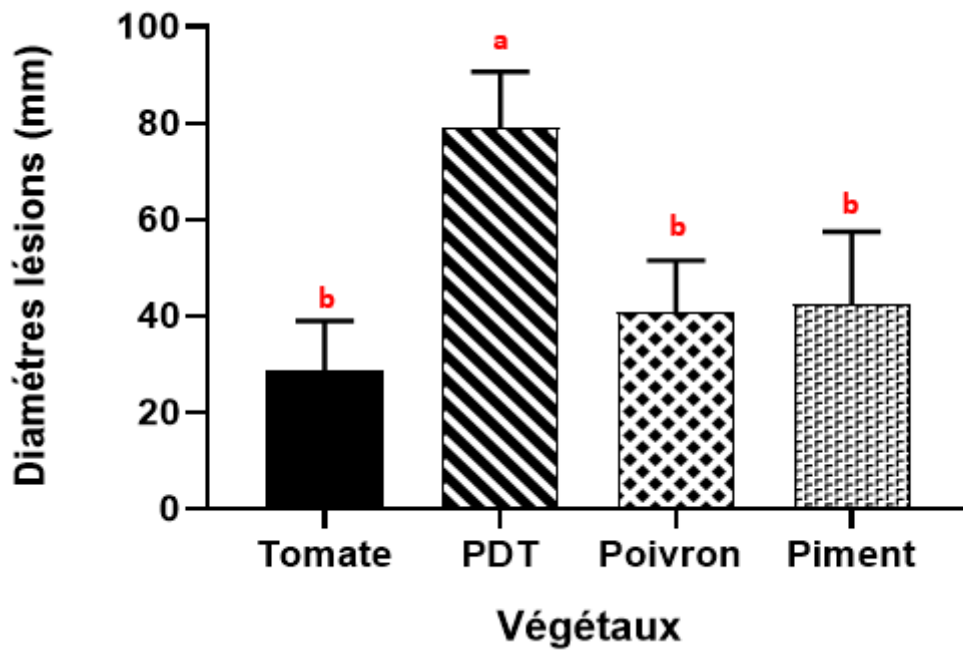


Figure 26 : Diamètres des lésions (mm) provoqués par *Alternaria* sur les feuilles des différents végétaux testés. Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau de l'agressivité de la souche *Alternaria* selon le test statistique de Tukey.

Sur tiges :

Les résultats de l'évaluation du pouvoir pathogène *d'Alternaria* sur les tiges des différents végétaux ont montré que la souche fongique était capable de provoquer les symptômes sur les différents végétaux en particulier la pomme de terre et la tomate (Figure 27). Selon le test statistique d'Anova, on distingue une différence significative (P-value = 0.0068) entre les longueurs moyennes des lésions sur tige de pomme de terre et sur tige de tomate avec des longueurs moyenne de 83.33 et 72.50 mm respectivement, et la longueur moyenne des lésions sur tiges de poivron et piment qui semblent faiblement affecté par le champignon phytopathogène (longueurs moyennes de 10 mm) (Figure 28).

Ces résultats indiquent que le champignon phytopathogène *Alternaria* affecte différemment les végétaux et privilégiait certains organes plus que d'autres.

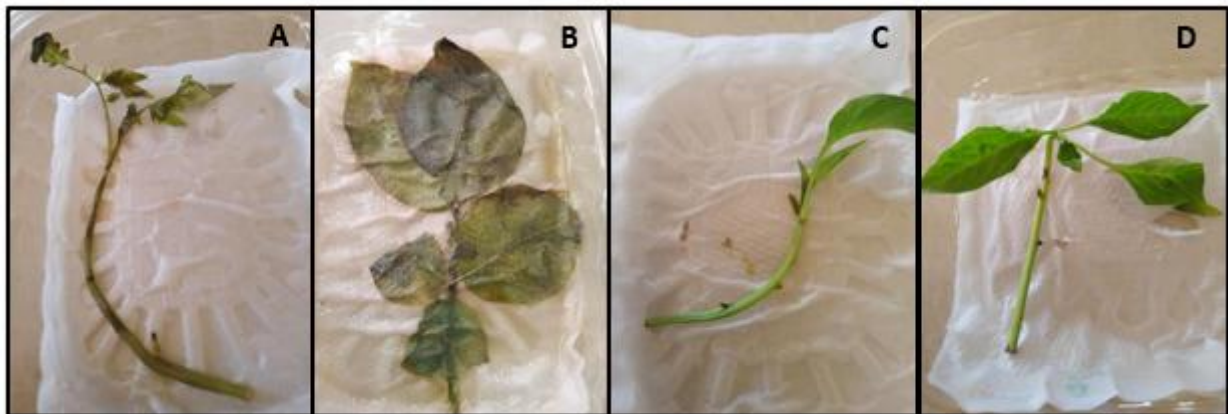


Figure 27 : Photos montrant les symptômes provoqués par la souche *Alternaria* sur les tiges des différents végétaux (A) sur tomate(B) pomme de terre (C) poivron et (D) piment

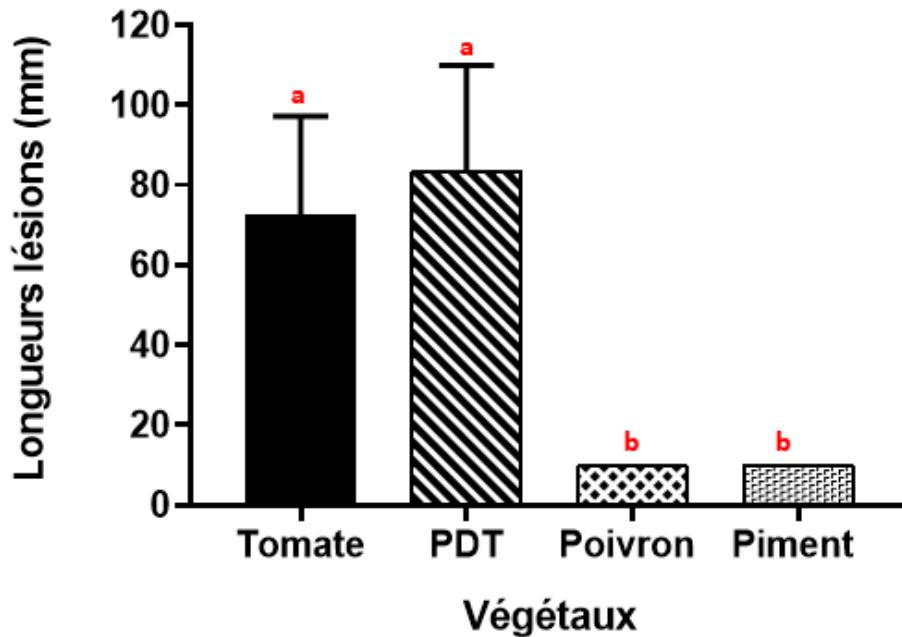


Figure 28 : Longueurs des lésions (mm) provoqués par *Alternaria* sur les feuilles des différents végétaux testés. Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau de l'agressivité de la souche *Alternaria* selon le test statistique de Tukey.

Ces résultats ont donc montré une bonne capacité du champignon *Alternaria* à infecter plusieurs végétaux et sur différents organes. Cette capacité est due aux faits que ce champignon produit plusieurs métabolites secondaires, essentiellement des phycotoxines qui joue un rôle majeur dans le pouvoir pathogène du champignon et le rend apte à infecter les différentes parties de la plante (fruits, feuille et tiges). De nombreuses études ont également montré l'implication de d'autres mycotoxines tels que l'alternariol, l'alternariol monométhyl ether et l'acide tenuazonique dans l'infection des végétaux par ce champignon comme c'est le cas *Alternaria alternata* (Logrieco et al., 2009).

Par ailleurs, différentes espèces d'*Alternaria* dont *A. solani* peuvent produire des toxines dites non spécifiques comme le zinniol, altersolanol et la macrosporin et produisent également d'autres toxines plus spécifiques à l'hôte induisant les symptômes sur tomate et pomme de terre seulement (Waals et al., 2001).

3- Evaluation de l'effet des deux bactéries « *in vitro* » sur la souche phytopathogène *Alternaria*

3-1. Confrontation directe

L'étude de l'effet des souches bactériennes *Bacillus sp* T18 et *B. methylotrophicus* T23 sur la croissance mycélienne d'*Alternaria sp* a été réalisé *in vitro* par confrontation directe et les résultats illustrés dans la figure 29 montre que les deux bactéries testées ont un bon effet inhibiteur à l'égard du champignon *Alternaria* avec des pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne (PGI%) égales à 73% et 72% pour les bactéries T18 et T23 respectivement.

En effet, l'analyse statistique d'Anova menée sur les rayons de croissance mycélienne montre une différence significative (P-value <0.0001) entre la croissance du champignon traités avec les deux bactéries T18 et T23 (rayons moyens de la croissance mycélienne 10.67 et 11 mm respectivement) et la croissance du champignon dans la boîte témoin non traitée avec un rayon moyen de 39 mm (Figure 30). Par ailleurs, les résultats statistiques de Tukey indique qu'il n'y pas de différence significative (P-value = 0.9501) entre le traitement avec les deux bactéries T18 et T23, ce qui signifie que les deux bactéries ont la même efficacité contre la souche *Alternaria* testée.

Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux à l'instar de ceux obtenus par (Shiva et al., 2014) qui ont démontré une bonne efficacité de la souche bactérienne *Bacillus sp* SRB 27 contre *Alternaria solani* avec des pourcentages d'inhibitions de la croissance mycélienne avoisinant les 78 %.

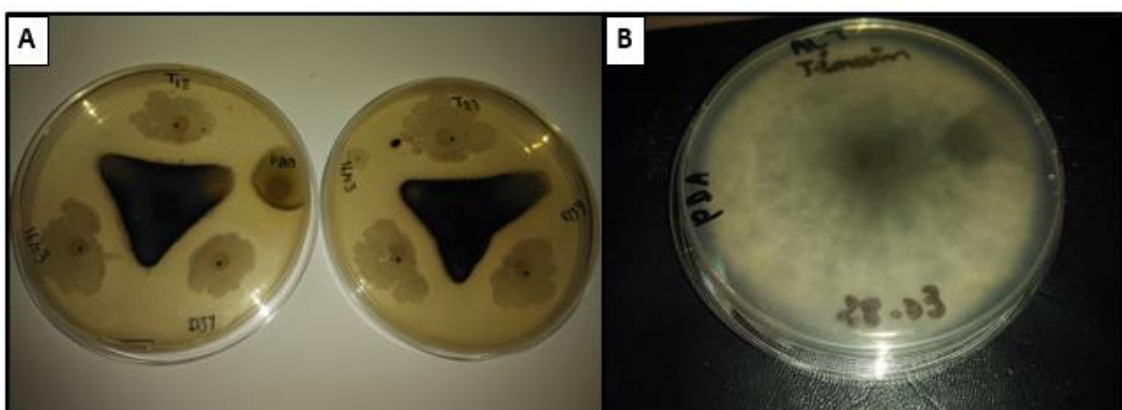


Figure 29 : Photos montrant l'effet direct des deux bactéries sur le développement du champignon phytopathogène *Alternaria*. (A) en présence des deux bactérie T18 et T23 (B) boîte témoin en absence du traitement.

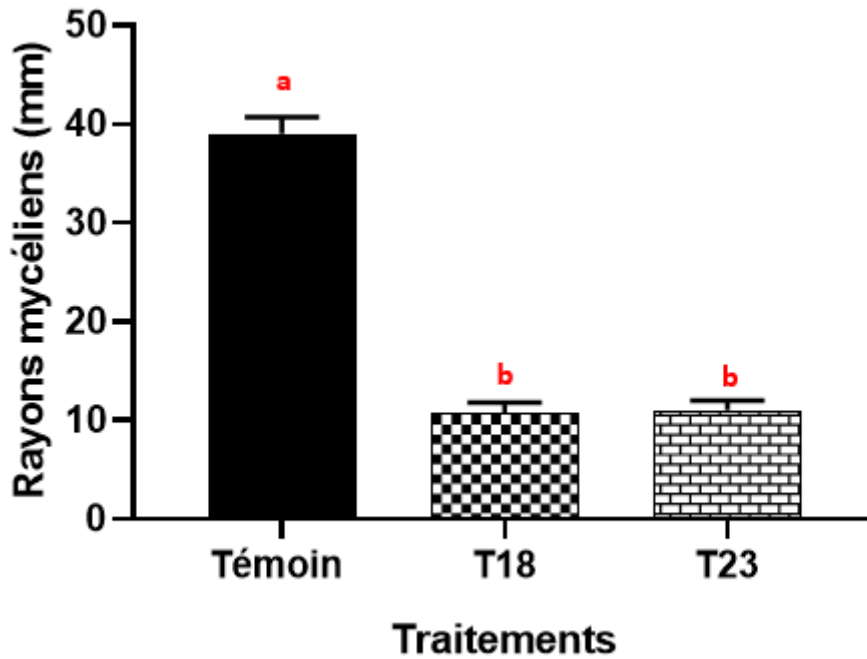


Figure 30 : Rayons de la croissance mycélienne d'*Alternaria*, chez le témoin et en présence des deux bactéries T18 et T23. Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau de la croissance mycélienne de la souche *Alternaria* en présence et en absence des bactéries selon le test statistique de Tukey.

3-2 Confrontation indirecte

L'effet des deux bactéries a également été évalué *in vitro* par confrontation indirecte et les résultats ont montré que les deux bactéries testées n'ont pas le même effet sur la croissance mycélienne du champignon phytoapathogène *Alternaria*. En effet, la bactérie *B. methylotrophicus* T23 montre un bon effet inhibiteur sur le développement du champignon avec un pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (PGIv%) égale à 84%, et cet effet est dû probablement à la production de substances volatiles ayant un effet sur le développement du pathogène (Figure 31). D'ailleurs l'analyse statistique d'Anova a révélé une différence significative (P-value = 0.0131) entre la croissance mycélienne en présence de la bactérie T23 (diamètre moyen de croissance mycélienne 11mm) et la croissance mycélienne chez le témoin sans bactérie (diamètre moyen de 69.50 mm).

En revanche, bien qu'une réduction de la croissance mycélienne d'*Alternaria* (PGIv% = 42%) a été observé en présence de la bactérie *Bacillus sp* T18, aucune différence significative n'a été enregistré selon le test d'Anova (P-value = 0.0815) ce qui indique que cette bactérie ne produit

pas ou pas suffisamment de substances volatiles qui permettrait d'avoir un d'effet significatif contre *Alternaria*.

Des résultats similaires ont également été obtenu par (Tozlu et al., 2018) qui ont testé deux souches bactériennes appartenant au genre *Bacillus* (ET57 et ET58) contre *Alternaria alternata* avec des pourcentages d'inhibitions allant de 26.87 % à 87.68%.



Figure 31 : Photos montrant l'effet indirect des deux bactéries sur le développement du champignon phytopathogène *Alternaria*. (A et B) en présence des deux bactérie T18 et T23 (C) boîte témoin en absence du traitement.

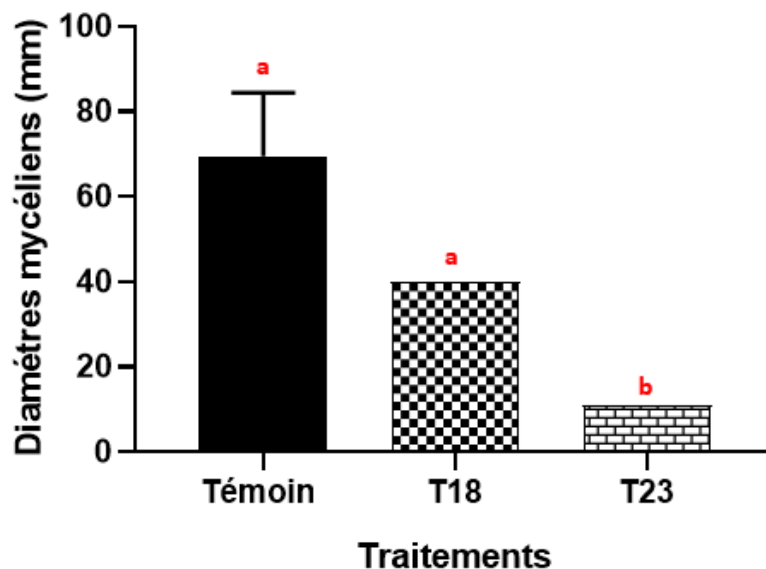


Figure 32 : Diamètres de croissance mycélienne d'*Alternaria*, chez le témoin et en présence des deux bactéries T18 et T23. Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau de la croissance mycélienne de la souche *Alternaria* en présence et en absence des bactéries selon le test statistique de Tukey.

Plusieurs souches appartenant au genre *Bacillus*, comme *Bacillus subtilis* et *Bacillus amyloliquefaciens* ont été rapporté comme étant efficaces pour lutter contre de nombreuses

maladies des plantes dont l'alternariose. La production de métabolites diffusibles et volatiles est d'ailleurs connue comme jouant un rôle important dans la suppression des maladies.

En effet, le genre *Bacillus* produit diverses molécules antibactériennes et antifongiques tels que les zwitteriels, la kanosamine, les lipopeptides, la mycosubtiline, la zwittermycine, des iturines et des fengycine (Kim et al., 2008). Les iturines et les fengycines présentent d'ailleurs de fortes activités antifongiques et inhibent la croissance d'un large éventail d'agents pathogènes des plantes (Kim et al., 2013).

Des études ont démontré que certains composés volatiles tels que des alcools, des aldéhydes, des cétones, des éthers, des esters, des terpènes, et des dérivés terpéniques peuvent aussi avoir une influence sur la croissance des champignons phytopathogènes comme *Alternaria* (Alstrom, 2001 ; Wheatley, 2002 ; Schalchli et al. 2011).

4- Evaluation de l'effet des deux bactéries « *in vivo* » sur la souche phytopathogène *Alternaria*

Sur fruits :

L'évaluation de l'effet des deux bactéries *Bacillus sp* T18 et *B. methylotrophicus* T23 a été réalisée *in vivo* sur différents fruits de tomate, poivron, aubergine, piments et sur tubercules de pommes de terre, et les résultats sont illustrés dans la figure 33. D'une manière globale, les résultats de l'analyse statistique d'Anova n'ont pas montré de différences significatives entre les végétaux traités avec les bactéries T18 et T23 et les végétaux non traités (témoins). Les seuls effets significatifs ont été détectés pour la souche *Bacillus sp* T18 sur tomate et poivron, et la souche *Bacillus methylotrophicus* T23 sur poivron (P-value <0.05) (Figure 34).

Ces résultats montrent que les deux bactéries n'ont pas une bonne efficacité sur fruits et de ce fait ne sont pas capables d'inhiber le développement du pathogène sur cet organe.



Figure 33 : Photos des résultats du test sur fruits des différents végétaux (A) sur tomate (B) sur pomme de terre (C) sur aubergines (D) sur poivron

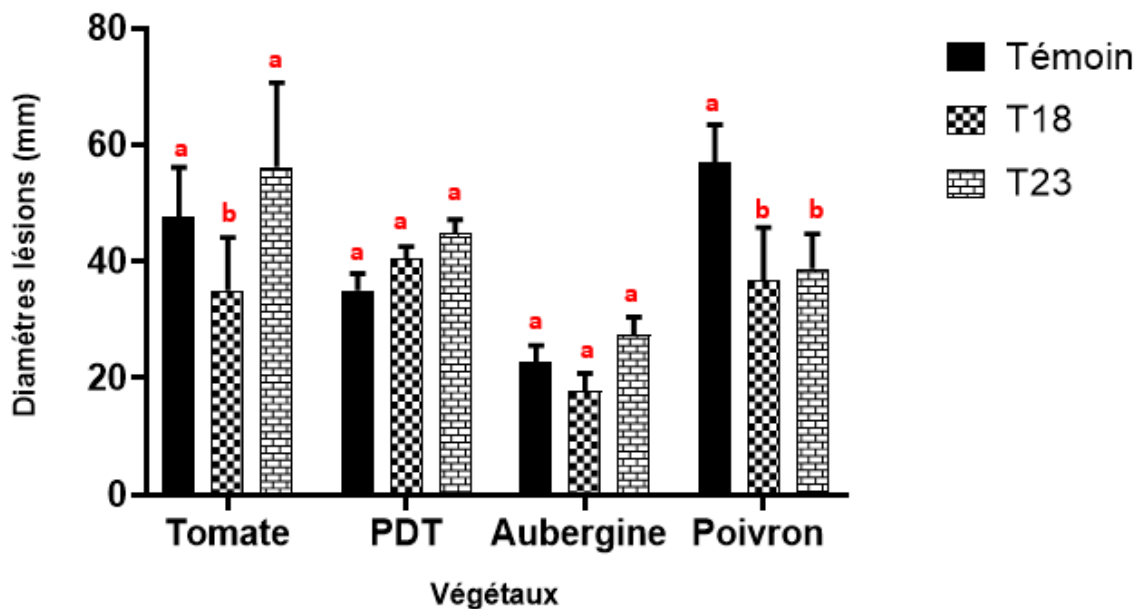


Figure 34 : Diamètres des lésions (mm) provoqués par la souche d'*Alternaria* sur les différents fruits des végétaux en présence et en absence du traitement avec les deux bactérie (T18 et T23). Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau du développement d'*Alternaria* en présence et en absence des bactéries selon le test statistique de Tukey

Sur feuilles :

L'étude de l'évaluation de l'effet des deux bactéries *B. sp* T18 et *B. methylotrophicus* T23 a également été testé sur feuilles de tomate, pomme de terre, poivron et piment et les résultats d'Anova ont montré que les deux bactéries T18 et T23 avaient un effet significatif contre *Alternaria* sur feuilles de tomate et feuilles de poivron (P-value<0.05), ce qui signifie que ces deux bactéries peuvent inhiber ou réduire la maladie causée par *Alternaria* sur les feuilles de ces végétaux. En effet, sur tomate on a pu observer une inhibition totale des lésions provoquées par le champignon phytopathogène par les deux bactéries T18 et T23 (diamètre moyen des lésions égale à 0 mm, contre 28.75mm pour le témoin). De même la bactérie T18 a été capable d'inhiber complètement le développement du champignon sur piment (diamètre moyen des lésions égale à 0 mm, contre 45 mm pour le témoin). Cela souligne le fort potentiel de ces deux bactéries à inhiber la maladie de l'alternariose sur certaines feuilles végétales, et cela a également été constaté dans d'autres études comme celle de **(Chohan et al., 2015)** qui ont mis en évidence une bonne efficacité des souches de *Trichoderma* sur les feuilles de tomate infecté par *Alternaria solani*. **(Abdel-Kader et al., 2012)** ont également évalué l'effet de quelques antagonistes dont *Trichoderma harzianum*, et *T. viridae*, *B subtilis* et *P. fluorescens* et *Saccharomyces cerevisia* à l'égard de quelques maladies comme l'alternariose par pulvérisation foliaires sur les quatre végétaux : concombre, tomate, poivron, cantaloup, et ils ont observé que les agents de lutte biologique testés ont un effet antagonistes important contre les phytopathogènes.

Cet effet est probablement dû aux faits que les bactéries antagonistes déploient des mécanismes d'actions agissant contre le champignon phytopathogène l'empêchant de se développer. L'un de ces mécanismes d'action pourrait être l'antibiose d'autant plus que ce mécanisme a été mis en évidence dans notre étude par le test de confrontation *in vitro*, mais il est également possible que ces bactéries utilisent d'autres modes d'actions comme l'hyperparasitisme, la compétition et l'interférence avec le pouvoir pathogène.

En revanche, aucun effet significatif n'a été enregistré à l'égard d'*Alternaria* sur feuilles de pomme de terre et de poivron, ce qui veut dire que ces deux bactéries ne sont pas capable d'inhiber la maladie sur ces deux végétaux.

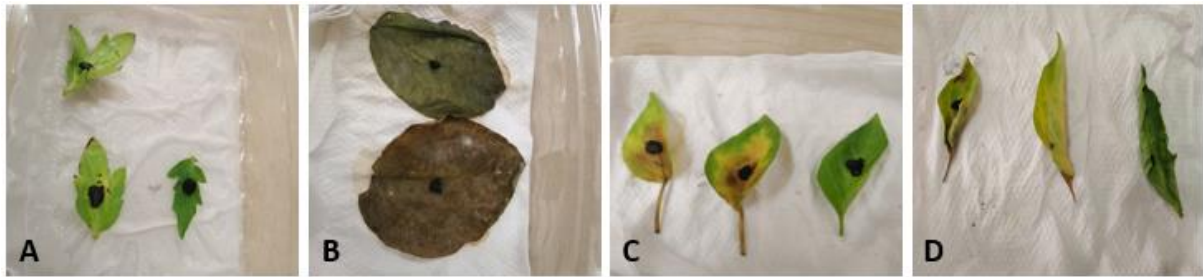


Figure 35 : Photos des résultats du test sur feuilles des différents végétaux (A) sur tomates (B) sur pomme de terre (C) sur poivrons et (D) sur piments

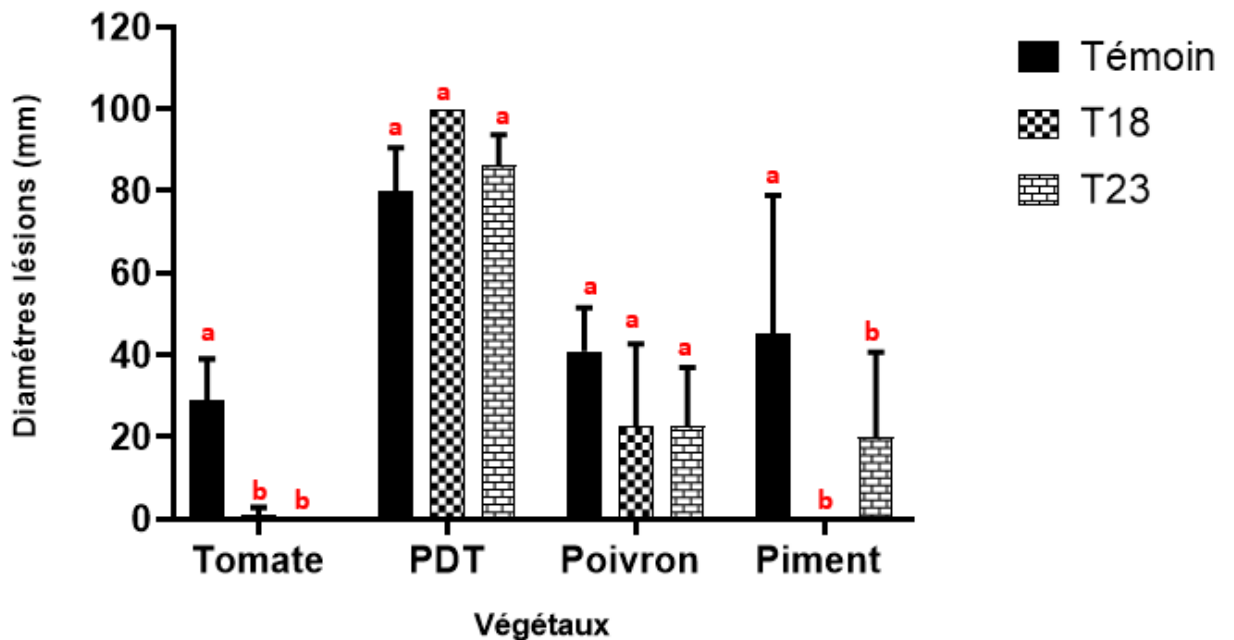


Figure 36 : Diamètres des lésions (mm) provoqués par la souche d'*Alternaria* sur les différents feuilles des végétaux en présence et en absence du traitement avec les deux bactérie (T18 et T23). Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau du développement d'*Alternaria* en présence et en absence des bactéries selon le test statistique de Tukey.

Sur tiges :

Les résultats du test de l'effet des bactéries sur le développement d'*Alternaria* sur les tiges des différents végétaux (tomate, pomme de terre, poivron et piments) ont révélé une différence significative des deux bactéries (T18 et T23) sur le développement du champignon phytopathogène *Alternaria* sur tiges de tomate (P-value <0.05) (Figure 37). En effet, les

bactéries ont été capable de réduire la maladie sur tige de tomate avec des longueurs moyennes de lésions faibles égales à 2.5 mm et 16 mm respectivement pour les bactéries T23 et T18, en comparaison avec le témoin non traité dont la longueur moyenne de lésion dépasse les 72 mm.

Les deux bactéries n'ont en revanche montré aucun effet significatif à l'égard d'*Alternaria* sur les tiges d'autres végétaux selon l'analyse statistique d'Anova (Figure 38).



Figure 37 : Photos des résultats du test sur feuilles des différents végétaux (A) sur tomates (B) sur pomme de terre (C) sur piment et (D) sur poivron

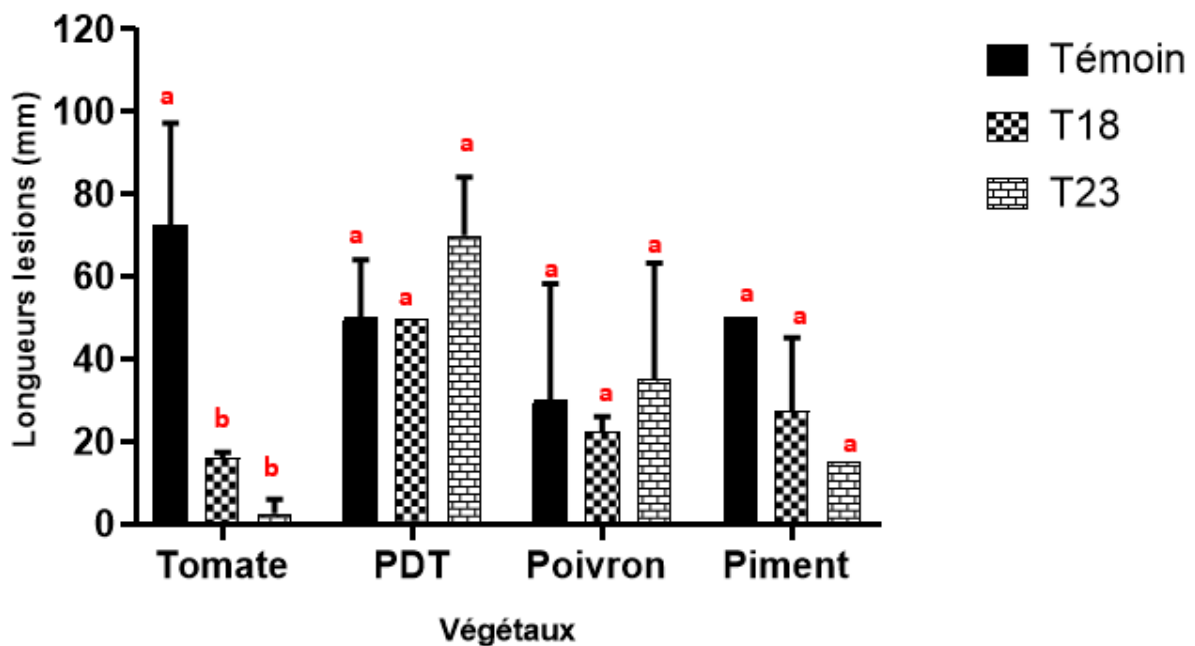


Figure 38 : Longueurs des lésions (mm) provoqués par la souche d'*Alternaria* sur les différentes tiges des végétaux en présence et en absence du traitement avec les deux bactérie (T18 et T23). Les lettres (a) et (b) indique une différence significative au niveau du développement d'*Alternaria* en présence et en absence des bactéries selon le test statistique de Tukey.

Les bactéries antagonistes testées dans cette étude ont donc montré une bonne capacité de protection de la tomate sur les différents organes (fruits, feuilles et tiges) contre le champignon phytopathogène *Alternaria*, ce qui nous encourage à recourir à une étude plus poussée de ces bactéries avant d'envisager une éventuelle application sur le terrain.

Conclusion et perspectives

Conclusion

Au cours de ce travail nous nous sommes intéressés à l'évaluation du pouvoir pathogène et l'agressivité sur une gamme d'hôte d'une souche d'*Alternaria* récemment isolée sur tomate à Bejaia, et nous avons réalisé ensuite des essais de biocontrol *in vitro* et *in vivo* à l'égard de ce champignon phytopathogène en utilisant deux bactéries appartenant au genre *Bacillus*.

À l'issue de cette étude, nous avons pu confirmer le pouvoir pathogène de la souche d'*Alternaria* étudiée dans ce mémoire sur les différents végétaux testés et qui appartiennent tous à la famille des solanacées à savoir ; la tomate, la pomme de terre, l'aubergine, le poivron et le piment. La souche d'*Alternaria* est donc capable d'attaquer les différents végétaux et sur tous les organes testés (fruits, feuilles et tiges) ce qui indique le pouvoir pathogène élevé de cette souche d'*Alternaria*. Néanmoins, cette dernière a également montré différents niveaux d'agressivité en fonction du végétal et de l'organe testé. En effet, le champignon a été plus agressif sur fruits et tiges de tomate, poivron et pomme de terre en comparaison avec les autres végétaux. Tandis qu'il s'est montré plus agressive sur feuilles de pomme de terre et piment.

Cette étude a également mis en avant le potentiel antagoniste des deux bactéries *Bacillus sp T18* et *Bacillus metylotrphicus T23* dans la réduction du développement d'*Alternaria in vitro*. En effet, les deux bactéries ont montré des pourcentages d'inhibitions de la croissance mycélienne significativement élevés pour le test de confrontation directe dépassent les 70% pour les deux bactéries, ce qui permis de déduire que ces bactéries ont la capacité de sécréter des substances diffusibles efficaces contre le champignon phytopathogène *Alternaria*. Le test de confrontation indirecte à quant à lui révéla une bonne inhibition de la croissance mycélienne avec un pourcentage d'inhibition dépassant les 80% pour la souche bactérienne T23, ce qui indique aussi une bonne aptitude de la bactérie à produire des substances volatiles efficaces dans la lutte contre le champignon.

L'évaluation *in vivo* des bactéries à l'égard du champignon phytopathogène a révéla principalement une bonne efficacité des bactéries antagonistes sur fruits, feuilles et tiges de tomate mais pas sur les autres végétaux hormis les feuilles de piment et les fruits de poivron.

Ces résultats suggèrent que les deux espèces de *Bacillus* peuvent constituer des agents de lutte biologique potentiels intéressants pour lutter contre le champignon phytopathogène *Alternaria*. Ceci étant des investigations supplémentaires doivent être menées pour étudier davantage cet effet.

Ce travail mérite donc d'être complété avec des études plus approfondies comme :

- Confirmer l'identification de la souche phytopathogène *Alternaria* par séquençage d'ADN et les gènes de virulence.
- Tester le pouvoir pathogène et l'agressivité de la souche d'*Alternaria* sur une gamme d'hôtes plus large
- Évaluer l'effet des deux bactéries à l'égard du champignon phytopathogène sur plantes entières
- Caractériser les molécules produites par les bactéries antagonistes et impliquées dans le contrôle du champignon
- Étudier les autres mécanismes d'actions déployés par les bactéries dans le biocontrôle du champignon phytopathogène.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Achetbi, H., Amiri, S., Lahlali, R. (2021). *Les Alternarioses (Alternaria spp.) des Agrumes : Diagnostic et Méthodes de lutte*. revue marocaine des Sciences Agronomiques , 9(2)158-169.

Adhikari, P., Oh, Yeonyu, Panthee,. (2017). Current Status of Early Blight Resistance in Tomato : An Update. International Journal of Molecular Sciences, 18(10), 2019.

Alstrom, S. (2001). Characteristics of Bacteria from Oilseed Rape in Relation to their Biocontrol Activity against *Verticillium dahliae*. Journal of Phytopathology, 149(2), 57-64.

B

Bessadat, N., Berruyer, R., Hamon, B., Bataille-Simoneau, N., Benichou, S., Kihal, M., Henni, D. E., & Simoneau, P. (2016). *Alternaria* species associated with Early Blight Epidemics on Tomato and other Solanaceae Crops in Northwestern Algeria. European Journal of Plant Pathology, 148(1), 181-197.

Blancard, D., Laterrot, H., Marchoux, G., Candresse, T. (2009). Les Maladies de la Tomate : Identifier, Connaître, Maîtriser.1(1),696.

Boyno, G., Demir, S., Danesh, Y. R. (2022). Effects of Some Biological Agents on the Growth and Biochemical Parameters of Tomato Plants Infected with *Alternaria solani* (Ellis & Martin) Sorauer. European Journal of Plant Pathology,162(1),19-29.

C

Carmona-Hernandez, S., Reyes-Pérez, J., Chiquito-Contreras, R., Rincon-Enriquez, G., Cerdan-Cabrera, C., & Hernandez-Montiel, L. (2019). Biocontrol of Postharvest Fruit Fungal Diseases by Bacterial Antagonists : A Review. Agronomy, 9(3), 121.

Carrascal-Hernández, D. C., Flórez-López, E., Peralta-Ruiz, Y., Chaves-López, C., & Grande-Tovar, C. D. (2022). Eco-Friendly Biocontrol Strategies of *Alternaria* Phytopathogen Fungus: A Focus on Gene-Editing Techniques. *Agriculture*, 12(10), 1722.

Chacón, F. I., Sineli, P. E., Mansilla, F. I., Pereyra, M. M., Diaz, M. A., Volentini, S. I., Poehlein, A., Meinhardt, F., Daniel, R., Dib, J. R. (2022). Native Cultivable Bacteria from the Blueberry Microbiome as Novel Potential Biocontrol Agents. *Microorganisms*, 10(5), 969.

Chohan, S., Perveen, R., Mehmood, M. A., Naz, S., & Akram, N. (2015). Morpho-physiological Studies, Management and Screening of Tomato Germplasm Against *Alternaria solani*, the Causal Agent of Tomato Early Blight. *International Journal of Agricultural And Biolog.*, 17(1), 118.

Chourasiya, P. K., Lal, A. A., Simon, S. (2013). Effect of Certain Fungicides and Botanicals Against Early Blight of Tomato Caused by *Alternaria solani* (ellis and martin) Under Allahabad Uttar Pradesh, India Conditions. *International Journal of Agricultural*, 9(3)151-156

D

Dhaval, P., Shete, P. P., Faraaz, M., Dhaval, D. D., Shete, P. P., Faraaz, M., & Dholu, D. (2021). Early blight (*Alternaria solani*) Etiology, Morphology, Epidemiology and Management of Tomato : Review article, *The Pharma Innovation Journal* 10(5),1423-1428

I

Jamalizadeh, M., Etebarian, H. R., Alizadeh, A., Aminian, H. (2008). Biological Control of Gray Mold on Apple fruits by *Bacillus licheniformis* (EN74-1). *Phytoparasitica*, 36(1), 23-29.

Jindo, K., Evenhuis, A., Kempenaar, C., Pombo Sudré, C., Zhan, X., Goitom Teklu, M., Kessel, G. (2021). Review : Holistic Pest Management Against Early Blight Disease Towards Sustainable Agriculture. *Pest Management Science*, 77(9), 3871-3880.

Junaid, J. M., Dar, N. A., Bhat, T. A., Bhat, A. H., & Bhat, A. (2013). Commercial Biocontrol Agents and Their Mechanism of Action in the Management of Plant Pathogens. *Journal of Pharmacognosy and Photochemistry* 2020;9(2)1514-1523.



Khelifi, M. L., Harrach, E. (2019). Recherche sur les Agents Responsables de l'Alternariose de la Pomme de Terre et de la Tomate en Algérie. Analyse Comparative de leur Diversité Phénotypique et Génotypique selon les Systèmes de Culture et les Étages Bioclimatiques, 127.

Kim, W. G., Weon, H. Y., Seok, S. J., Lee, K. H. (2008). In Vitro Antagonistic Characteristics of *Bacilli* Isolates Against *Trichoderma* spp. And three Species of Mushrooms. *Mycobiology*, 36(4), 266-269.

Kim, Y.-S., Song, J.-G., Lee, I.-K., Yeo, W.-H., & Yun, B.-S. (2013). *Bacillus* sp. BS061 Suppresses Powdery Mildew and Gray Mold. *Mycobiology*, 41(2), 108-111.

Kushwaha, M., Verma, A. K., Tech, M. (2014). Antagonistic Activity of *Trichoderma* Spp, (A Bio- Control Agent) Against Isolated and Identified Plant Pathogens. Biological Science Department National Botanical Research Institute Lucknow, India 1(1),7.



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(2), 85-93.

Lawrence, D. P., Rotondo, F., Gannibal, P. B. (2016). Biodiversity and Paxonomy of the pleomorphic Genus *Alternaria*. *Mycological Progress*, 15(1), 3.

Lecomte, M. (2013). Analyse des Mécanismes de Défense de la Carotte (*Daucus carota*) face au Champignon Pathogène *Alternaria dauci*, Responsable de l'alternariose ou Brûlure Foliaire,155.

Lee, H. B., Patriarca, A., Magan, N. (2015). *Alternaria* in Food : Ecophysiology, Mycotoxin Production and Toxicology. *Mycobiology*, 43(2), 93-106.

Logrieco, A., Moretti, A., Solfrizzo, M. (2009). *Alternaria* Toxins and Plant Diseases : Anoverview of Origin, Occurrence and Risks. *World Mycotoxin Journal*, 2(2), 129-140.



M. Abdel-Kader, M., S. El-Mougy, N., D. E. Aly, M., M. Lashin, S., Abdel-Kareem, F. (2012). Greenhouse Biological Approach for Controlling Foliar Diseases of Some Vegetables. *Advances in Life Sciences*, 2(4), 98-103.

Mamgain, A., Roychowdhury, R., Tah, J. (2013). Review *Alternaria* Pathogenicity and its Strategic Controls. *Reasearch Journal of Biologie*,1:1-09.

Ma,M.E .(2011). Reponses Adaptatives d'*Alternaria Brassicicola* au Stress Oxydatif lors de L'interaction avec les *Brassicacees* .Benoit Calmes,1164.

Marwa, H., Rania, A-B. A., Hayfa, J.-K., & Mejda, D.-R. (2014). *Pouvoir antifongique des Penicillium sp. Et des Gliocladium spp. Contre Alternaria solani* in vitro et sur Fruits de Tomato. *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products* ,12 :9-28.

Moges, M. M., Tanta, V.S., Mitiku, T.J. (2012). Influence of Some Antagonistic Bacteria Against Early Blight (*Alternaria solani* (Ell. and Mart.) Jones and Grout.) of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). The African of Plant Science and Biotechnology, 6(1), 40-44.

P

Pahnwar, S., Khaskheli, M. I., Khaskheli, A. J., Wagan, K. H., Thebho, G. M., Khaskheli, A. A., Khaskheli, S. A., Jiskani, A. M. (2021). Isolation and Identification of Different Fungal Species from Major Kharif Vegetables of Sindh Province, Pakistan. Agricultural Science Digest- A Research Journal, 1-6.

Petatán-Sagahón, I., Anducho-Reyes, M. A., Silva-Rojas, H. V., Arana-Cuenca, A., Tellez-Jurado, A., Cárdenas-Álvarez, I. O., & Mercado-Flores, Y. (2011). Isolation of Bacteria with Antifungal Activity Against the Phytopathogenic Fungi *Stenocarpella maydis* and *Stenocarpella macrospora*. International Journal of Molecular Sciences, 12(9), 5522-5537.

Pinto., Patriarca, A., Virginia E.F. (2017) *Alternaria* Species and their Associated Mycotoxines. Methods in Molecular Biology ,1542,31 .

Prajapati, S., Kumar, N., Kumar, S., Maurya, S. (2020). Biological Control a Sustainable Approach for Plant Diseases Management: A review .Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 9(2); 1514-1523.

R

Ramezani, Y., Taheri, P., Mamarabadi, M. (2019). Identification of *Alternaria spp.* Associated with tomato early blight in Iran and investigating some of their virulence factors. Journal of Plant Pathology, 101(3), 647-659.



Saqib, H. M., Chohan, S., Abid, M. (2020). Chemical Management of *Alternaria* Leaf Blight of Sunflower. *International Journal of Phytopathology*, 9(3), 173-178.

Schalchli, H., Hormazabal, E., Becerra, J., Birkett, M., Alvear, M., Vidal, J., Quiroz, A. (2011). Antifungal Activity of Volatile Metabolites Emitted by Mycelial Cultures of Saprophytic Fungi. *Chemistry and Ecology*, 27(6), 503-513.

Shiva, S. A., Pavankumar, P., Gouri, V.S. (2014). Characterization of effective bio-control agent *Bacillus sp.* SRB 27 with high Salt Tolerance and Thermostability Isolated from Forest Soil Sample. *African Journal of Biotechnology*, 13(25), 2547-2555.

Simões, C. P., *Alternaria* Toxins in Processed Tomato Products. Quality Control Manager Campil Agro Industiral do Campo do Tejo , Vale da Pedra -Cartaxo,Portugal.



Thomm.,Bant,P.H.J.(2003).*Alternaria sp.*: from General Saprophyte to Specific Parasite. *Molecular Plant Pathology*, 4(4),2254-236.

Tozlu, E., TekiNer, N., Kotan, R., Örtücü, S. (2018). Investigation on the Biological Control of *Alternaria alternata*. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, 88(8), 1241-1247.

Tsedaley, B. (2014). Review On Early Blight (*Alternaria spp.*) of Potato Disease and its Management Options. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*,4(27)2224-3208

Tymon, L. S., Cummings, T. F., Johnson, D. A. (2016). Pathogenicity and Aggressiveness of Three *Alternaria* spp. on Potato Foliage in the U.S. Northwest. *Plant Disease*, 100(4), 797-801.

W

Wang, J., Ding, W., Wang, R., Du, Y., Liu, H., Kong, X., & Li, C. (2015). Identification and Bioactivity of Compounds from the Mangrove Endophytic Fungus *Alternaria sp.* Marine Drugs, 13(7), 4492-4504.

Wheatley, R. E. (2002). The Consequences of Volatile Organic Compound Mediated Bacterial and Fungal Interactions.

Y

Yekeler, H., Bitmiş, K., Özçelik, N., Doymaz, M. Z., & Çalta, M. (2001). Analysis of Toxic Effects of *Alternaria* Toxins on Esophagus of Mice by Light and Electron Microscopy. Toxicologic Pathology, 29(4), 492-497.

Résumé

Alternaria sp est un champignon responsable de l'*alternariose* qui est considérée parmi les maladies aériennes les plus courantes et les plus importantes sur les cultures végétales. Ce travail a pour premier objectif d'évaluer le pouvoir pathogène et l'agressivité d'une souche d'*Alternaria* récemment isolée sur fruits de tomate, sur plusieurs végétaux et sur différents organes (fruits, feuilles et tiges).

Les résultats ont révélé une forte capacité de la souche fongique à s'attaquer et à provoquer des symptômes sur les différents végétaux, à des niveaux d'agressivités variables avec une agressivité plus importante chez la tomate et la pomme de terre. Les tests ensuite menés pour évaluer l'effet des deux bactéries apparentant au genre *Bacillus* T18 et T23 sur le développement d'*Alternaria* ont montré une bonne efficacité des bactéries *in vitro* avec des pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne dépassant les 70% pour l'effet direct, et une inhibition dépassant les 80% pour l'effet indirect dans le cas de la souche *Bacillus metylotrophicus* T23.

L'efficacité des deux bactéries *in vivo* a surtout été mise en évidence sur les différents organes de la tomate, ce qui souligne le fort potentiel de ces deux bactéries dans la lutte biologique contre *Alternaria*.

Mots clés : *Alternaria*, Agressivité, pouvoir pathogène, végétaux, *Bacillus*, Biocontrôle

Summary

Alternaria sp is a fungus responsible for early blight, which is considered among the most common and important airborne diseases on plant crops. The first objective of this work is to evaluate the pathogenicity and aggressiveness of a strain of *Alternaria* recently isolated on tomato fruits, on several plants and on different organs (fruits, leaves and stems).

The results revealed a strong ability of the fungal strain to attack and cause symptoms on different plants, at variable levels of aggressiveness with greater aggressiveness in tomatoes and potatoes. The tests then carried out to evaluate the effect of the two bacteria related to the genus *Bacillus* T18 and T23 on the development of *Alternaria* showed good efficacy of the bacteria *in vitro* with percentages of inhibition of mycelial growth exceeding 70% for the direct effect, and an inhibition exceeding 80% for the indirect effect in the case of the *Bacillus metylotrophicus* T23 strain.

The effectiveness of the two bacteria *in vivo* has mainly been demonstrated on the different organs of the tomato, which underlines the strong potential of these two bacteria in the biological control of *Alternaria*.

Keywords: *Alternaria*, Aggressiveness, pathogenicity, plants, *Bacillus*, Biocontrol