

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة - الحراش - الجزائر



Ecole Nationale Supérieure Agronomique. El-Harrach. Alger

Option: Biologie et génétique de l'interaction plante hôte/pathogène en protection des cultures

Thèse

Envue de l'obtention du diplôme de Magistère en Sciences Agronomiques

Thème

Recherches sur des méthodes alternatives de contrôle de *Alternaria alternata* et *A. solani*, agents de l'alternariose de la pomme de terre

Réalisée par: M. MOULAI Younes

Jury:

Présidente: P Mme Louanchi M.M

Maître de conférences à l'ENSA. Professeur à l'ENSA.

promoteur: .Bouznad Z.

Maître de conférences à l'ENSA.

Examineurs: M. Kedad A.

Maître de conférences à l'ENSA.

Mlle Boureghda H.

Maître de conférences à l'ENSA.

Dedicaces

Dédicace

Jedédiectravail:

*Auxprunellesdemesyeux, ceuxqui m'ont soutenu jour et nuit
pourqu'ilsmevoienttoujoursausommetetcommeuneétoile: A
vousmeschersparents.*

A mes frères et sœurs,

A toutlafamilleMoulaiEtFergani.

A Tousmesamis

A tousmesfrèresdelacitéuniversitaireBOURAOUIA.

A tous ceux que j'aime etje respecte

Younes

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens en premier lieu à présenter mes sincères remerciements à monsieur BOUZNAD Z., professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach, Alger. Pour avoir accepté de diriger ce travail et pour m'avoir constamment conseillé.

Je tiens aussi à présenter mes remerciements à :

- *Mme Louanchi M., maître de conférences à l'ENSAD' El Harrach, Alger, pour avoir accepté de présider mon jury.*
- *M. KEDADA., maître de conférences à l'ENSAD' El Harrach, Alger, pour avoir accepté de juger ce travail.*
- *Mlle Bouraghda H., maître de conférences à l'ENSAD' El Harrach, pour avoir accepté de juger ce travail et d'avoir nous fourni les souches de Trichoderma.*

Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail. En particulier Ouddene Abdelhafidh, Mme Ayad, Kerou Ali et les autres. Je les remercie vivement.

SOMMAIRE

Sommaire.....	II
te destableaux.....	IV
des figures.....	VI
abréviations.....	VIII
I.Introduction générale.....	1
II.Analyse bibliographique.....	04
II.1.Culture de la pomme de terre.....	04
II.1.1.Importance économique.....	04
II.1.2.Types de culture de pomme de terre pratiqués en Algérie.....	05
II.1.3.Principales zones de production.....	05
II.1.4.Les variétés cultivées.....	06
II.2.L'alternariose.....	07
II.2.1.Importance.....	07
II.2.2.Symptômes.....	07
II.2.3.Agent causal.....	07
II.2.3.1.Taxonomie.....	09
II.2.3.2.Description morphologique.....	09
II.2.4.Epidémiologie de la maladie.....	10
II.2.5.Moyens de contrôle.....	11
II.2.5.1.Lutte culturale.....	11
II.2.5.2.Cultivars résistants.....	11
II.2.5.3.Lutte chimique.....	12
II.3.Trichoderma spp.: agent de lutte biologique.....	13

II.3.1.Introduction.....	13
II.3.2.Biodiversitédes <i>Trichodermaspp</i>	13
II.3.3.Mécanismesd'action.....	14
II.3.3.1.Mycoparasitisme.....	14
II.3.3.2.Antibiose.....	14
II.3.3.3.Compétition.....	15
II.3.3.4.Inductiondesmécanismesdedéfensedelaplante.....	15
II.3.3.5.Stimulationdecroissancedesplants.....	16
II.3.4.Application.....	16
II.3.5.Biofongicidesàbasede <i>Trichodermaspp</i>	17
II.4.Extraitsvégétaux:moyendeluttebiologique	18
II.4.1.Introduction.....	18
II.4.2.Principauxgroupesdecomposésantimicrobiens.....	18
II.4.2.1.Leshuilesessentielles.....	18
II.4.2.2.Lesmélanges(extraitsbruts).....	19
II.4.3)Biofongicidesàbased'extraitsvégétaux.....	21
III.Matérielsetméthode	23
III.1.Matérielbiologique.....	23
III.1.1.Agentpathogène: <i>AlternariasolanietA.alternata</i>	23
III.1.2.Agentsantagonistes: <i>Trichodermaspp</i>	23
III.2.Matérielvégétal.....	24
III.3.Extractiondesphénolsnonvolatilesparvoiefroideàpartirdesespècesvégétales...	25
III.4.Sélectiondesisolatsagressifsde' <i>Alternariasolanietd'A.alternata</i>	26
III.5.Techniqued'étudedel'effetantagonistede' <i>Trichodermasp</i> .àl'égarddesisolatsd' <i>Alternariasp</i>	26
III.5.1.Confrontationdirecte.....	26

III.5.2.Confrontationindirecteouàdistance.....	28
III.5.3.Mesuredelacroissancemycélienne.....	28
III.6.Etudedupouvoirantifongiquedesextraitsvégétaux.....	30
III.6.1)Test <i>invitro</i>	30
III.6.2)Test <i>invivo</i>	31
Analysesstatistiques.....	33
IV. Résultatsetdiscussions	
IV.1.Evaluationdel'agressivitédesisolatsd' <i>Alternariasolanietd'A.alternata</i>	34
IV.2.Effetantagonistedesisolatsde <i>Trichodermasp</i>	34
IV.2.1.Confrontationdirecte.....	35
IV.2.1.1.Inhibitiondelacroissancemycélienne.....	35
IV.2.1.2.Sporulationsurlemycéliumdupathogène.....	40
IV.2.2.Confrontationindirecte.....	41
Discussion.....	46
IV.3.Etudedupouvoirantifongiquedesextraitsvégétaux.....	49
IV.3.1.Test <i>invitro</i>	49
Discussion.....	55
IV.3.2)Essai <i>invivo</i>	57
Discussion.....	62
V.Conclusionetperspectives.....	63
Référencesbibliographiques.....	66
Résumé.....	80

Listedestableaux

Tableau1: Évolutiondela consommationdepommedeterre/habitant/an,etdela consommation globale.....	4
Tableau2: Évolutiondessuperficiesoccupéesparlaculturedepommedeterre de2003 à2012.	5
Tableau3: Quelquesbiofungicidesàbasede <i>Trichoderma</i> commercialisésutilisés dans le monde	17
Tableau 4: Biopesticidesàbased'extraitsvégétaux commercialisés aux Etats-Unis pourle contrôledes maladies des plantes.....	21
Tableau 5: L'origine,larégionetladated'isolementdesisolatsd' <i>Alternaria</i> spp. utilisés.....	23
Tableau6 : L'origine,larégionetladated'isolementdesisolatsde <i>Trichoderma</i> spp. utilisés.	24
Tableau7 : Echelledenotation de l'agressivitédel'alternarioseproposépar leCIP...	33
Tableau 8: Niveaud'attaquedesisolatsd' <i>A.alternata</i> etd' <i>A.solani</i> sur l'echellede notation	34
Tableau 9: Analyse de variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycéliennepourlaconfrontation directe avec <i>A.alternata</i>	38
Tableau 10: Analyse de variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycéliennepourlaconfrontation directe avec <i>A. solani</i>	38
Tableau11: RésultatsdutestdeNewmanetKeulspourlepourcentage d'inhibitionde lacroissancemycéliennepourla confrontation directe avec <i>A. alternata</i>	38
Tableau12: RésultatsdutestdeNewmanetKeulspourlepourcentage d'inhibitionde lacroissancemycéliennepourla confrontation directe avec <i>A. solani</i>	39
Tableau13: Analyse de la variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycéliennepar confrontation indirecte avec <i>A. alternata</i>	44
Tableau14: Analyse de la variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycéliennepar confrontation indirecte avec <i>A. solani</i>	44
Tableau15: RésultatsdutestdeNewmanetKeulspourlepourcentage d'inhibitionde lacroissancemycéliennepourla confrontation directe d' <i>A. alternata</i>	44
Tableau16: TestdeNewmanetKeulsdupourcentage d'inhibitiondelacroissance mycéliennepourlaconfrontationindirecte avec <i>A.solani</i>	45

Tableau 17: Analyse de la variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d' <i>A. alternata</i> par les extraits végétaux.....	54
Tableau 18: Analyse de la variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d' <i>A. solani</i> par les extraits végétaux.....	54
Tableau 19: Résultats du test de Newman et Keuls pour le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d' <i>A. alternata</i> par les extraits végétaux.....	54
Tableau 20: Test de Newman et Keuls pour le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d' <i>A. solani</i> par les extraits végétaux.....	55
Tableau 21: Analyse de variance de la valeur estimée des pourcentages d'attaque <i>in-vivo</i>	61
Tableau 22: Résultats du test de Newman et Keuls pour la valeur estimée des pourcentages d'attaque <i>in vivo</i>	61

Listedesfigures

Fig. 1: Les lésions causées par <i>A. alternata</i>	8
Fig. 2: Les lésions causées par <i>A. solani</i>	8
Fig. 3: Spores d' <i>Alternariasolani</i>	10
Fig. 4: Conidiophores d' <i>A. alternata</i> avec des chaînes de conidies.....	10
Fig. 5: Les différentes étapes de l'extraction alcoolique des phénols par voie froide.....	26
Fig. 6: Schéma de la confrontation directe entre <i>Trichoderma</i> spp. et <i>Alternariaspp</i>	29
Fig. 7: Schéma de la confrontation indirecte entre <i>Trichoderma</i> spp. et <i>Alternaria</i> spp.	29
Fig. 8: Dispositif expérimental pour le test <i>in vivo</i> des extraits végétaux.....	32
Fig. 9: Plants de pomme de terre recouverts d'un sac plastique transparent durant 48h après inoculation	33
Fig. 10: Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats d' <i>Alternariaspp.</i> confrontés aux isolats de <i>Trichoderma</i> sp. pour la confrontation directe	35
Fig. 11: Résultats de la confrontation directe de <i>Trichoderma</i> avec <i>A. alternata</i>	36
Fig. 12: Les résultats de la confrontation directe de <i>Trichoderma</i> et <i>A. solani</i>	37
Fig. 13: Représentation des isolats sporulant et non sporulant du <i>Trichoderma</i> sur le mycélium d' <i>Alternariasolani</i> et d' <i>A. alternata</i>	40
Fig. 14: Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d' <i>Alternariasolani</i> et d' <i>A. alternata</i> par la confrontation indirecte avec les isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....	41
Fig. 15: Les résultats de confrontation indirecte de <i>Trichoderma</i> et <i>A. alternata</i>	42
Fig. 16: Les résultats de confrontation indirecte de <i>Trichoderma</i> et <i>A. solani</i>	43
Fig. 17: Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d' <i>Alternariaspp.</i> de chaque extrait végétal	49
Fig. 18, a: Résultats des traitements non dilués des extraits végétaux sur la croissance mycélienne d' <i>A. alternata</i>	50
Fig. 18, b: Résultats des traitements dilués des extraits végétaux sur la croissance mycélienne d' <i>A. alternata</i>	51
Fig. 19, a: Résultats des traitements non dilués des extraits végétaux sur la croissance mycélienne d' <i>A. solani</i>	52
Fig. 19, b: Résultats des traitements dilués des extraits végétaux sur la croissance mycélienne d' <i>A. solani</i>	53
Fig. 20: Histogramme représentant les valeurs estimées des pourcentages d'attaque	

moyens de chaque traitement	57
Fig. 21: Niveau d'attaques des plants après un mois d'inoculation par <i>A. alternata</i>	58
Fig. 21 : Niveau d'attaques des plants après 10 jours d'inoculation par <i>A. solani</i>	59
Fig. 22: Niveau d'attaque des plants après 22 jours de la première apparition des symptômes	60

Liste des abréviations

PNDA : Programme National de Développement Agricole.

ENSA : Ecole Nationale Supérieure Agronomique.

CNCC: Centre National de Contrôle et de Certification des Semences et Plants.

CIP: Centre International de Pomme de terre.

OEPP: Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes.

I. Introduction générale

La pomme de terre joue un rôle primordial dans le système alimentaire mondial. Cette culture vient au quatrième rang en importance dans le monde, après le maïs, le riz et le blé (<http://faostat.fao.org>).

La pomme de terre est la plus importante culture légumière en Algérie. De 1970 à 2012, la consommation algérienne de pommes de terre a largement augmenté, passant de 20 à 105 kg par habitant et par an, soit à peu près la même quantité que tous les autres légumes frais consommés.

En raison de sa demande sur le marché national de légumes, et grâce au PNDA, le secteur de la pomme de terre a connu une augmentation de la superficie occupée par cette culture, passant de 65 790 ha en 2001 à 138 666 ha en 2012, représentant 37% de la superficie des cultures maraichères, avec une production de 4 219 476 tonnes (<http://faostat.fao.org>).

Comparativement aux rendements obtenus de par le monde, ceux de l'Algérie sont relativement faibles et sont affectés par de nombreux facteurs abiotiques et biotiques, essentiellement les problèmes liés à la semence, aux engrais et aux maladies ravageuses. Après le mildiou, la maladie qui est omniprésente dans toutes les régions et qui vient de prendre de plus en plus d'ampleur, est bien l'alternariose causée par les deux espèces fongiques *Alternaria solani* (Ellis & Martin) Sorauer et *A. alternata* (Fr.) Keissler.

De par le monde, cette maladie, pendant longtemps moins étudiée par rapport au mildiou, a connu au cours de ces dernières années une forte explosion où elle est devenue une maladie importante dans la plupart des régions chaudes productrices de pommes de terre (Vloutoglou et al., 2000).

En particulier, l'alternariose provoque des pertes de rendement par défoliation des plants et de graves épidémies peuvent réduire les rendements de 20 à 30% (Christ et Maczuga, 1989 ; Shtienberg et al., 1990). Ces pertes peuvent aller jusqu'à 60%, en l'absence de tout contrôle (Sikora et al., 2004). Aussi, l'effet de l'alternariose peut parfois être aggravé par l'incidence d'autres maladies, telles que la verticilliose (Van der Walls et al., 2001).

D'une manière générale, la principale méthode menée actuellement pour le contrôle des maladies de la pomme de terre, y compris l'alternariose, reste basée sur l'utilisation par

alternance de produits chimiques systémiques et de contact, en tenant compte des conditions climatiques.

Cependant, les effets néfastes de cette pratique, sur l'environnement et sur la santé humaine et animale, sont bien évidents.

De ce fait, les chercheurs tentent ces dernières années à trouver d'autres moyens plus respectueux de l'environnement, tels : la résistance variétale des espèces cultivées, les agents de lutte biologique, les plantes et leurs extraits, l'utilisation des régulateurs de croissance et les méthodes physiques et culturales.

Les agents de lutte biologique inféodés aux maladies fongiques sont constitués principalement par des espèces fongiques et des bactéries antagonistes. Le genre qui a fait l'objet de nombreux travaux et études dans le monde entier et qui est inclus dans de multiples programmes de lutte biologique et intégrés pour la maîtrise de diverses maladies est évidemment *Trichoderma*.

Plusieurs souches du genre *Trichoderma* sont dotées d'un potentiel antagoniste incontestable, employant des mécanismes nombreux et variés. Ce potentiel est la base pour des applications efficaces de différentes souches de *Trichoderma* comme une alternative à la lutte chimique contre un large éventail d'agents pathogènes fongiques des plantes (Chet 1987; Harman et Björkman, 1998).

Par ailleurs, plus récemment, plusieurs plantes, sauvages et cultivées, ont montré une aptitude à synthétiser et sécréter des substances naturelles ayant des effets souhaitables contre les prédateurs. Ces substances peuvent être utilisées dans les traitements phytosanitaires en remplacement des composés chimiques de synthèse.

Ainsi, l'utilisation des produits végétaux, en tant que moyen de lutte biologique, s'est montrée écologique et efficace contre de nombreux agents pathogènes des plantes. Un nombre d'espèces de plantes ont été signalés à contenir des substances naturelles qui sont toxiques pour de nombreux champignons responsables de maladies des plantes (Spencer et al., 1957; Fawcett et Spencer, 1970).

Dans la perspective de l'utilisation de ces moyens alternatifs, l'objectif de cette étude est d'évaluer le niveau de contrôle fourni par l'utilisation de *Trichoderma* spp. et quelques

extraits végétaux envers les deux espèces causant l'alternariose de la pomme de terre, par rapport au moyen chimique. Cette approche est expérimentée *in vitro* et *in vivo* sous des conditions contrôlées selon la démarche suivante:

- Des tests *in vitro* de confrontation directe et indirecte, des souches de *Trichoderma* avec deux isolats d'*A. solani* et d'*A. alternata*, afin de mettre en évidence l'effet antagoniste en contact et à distance de *Trichoderma* à l'égard de ces deux pathogènes.

- Un test *in vitro* qui examine le pouvoir antifongique des extraits éthanoliques de quatre espèces végétales envers ces pathogènes.

- Enfin, après avoir prouvé le pouvoir antifongique de l'extrait phénolique d'hysope, un essai *in vivo* de traitement des plants de pomme de terre plantés en pots, par des solutions contenant cet extrait, a été réalisé, tout en évaluant leur efficacité.

II.1. Culture de la pomme de terre

II.1.1. Importance économique

« La pomme de terre est en première ligne dans la lutte contre la faim et la pauvreté dans le monde. » considérait Jacques Diouf, directeur général de la FAO, 2008 (FAO, 2008).

La pomme de terre joue un rôle clé dans le système alimentaire mondial; elle est la principale denrée alimentaire non céréalière du monde où la production mondiale a atteint 364.808.768 tonnes en 2012. (<http://faostat.fao.org>.)

Dans les pays développés, la consommation de la pomme de terre est stable depuis les années 80 et représente plus de la moitié de la récolte mondiale avec une quantité élevée d'environ 80 kg/habitant et an (FAO, 2009).

Cependant, la consommation dans les pays en développement a augmenté considérablement ces deux dernières décennies, passant de 13 kg/personne et par an en 1990 à 25 kg/personne et par an en 2005 (FAO, 2009).

En Algérie, depuis son introduction au milieu du 19^{ème} siècle, la pomme de terre est devenue aussi une des principales cultures destinée à l'alimentation humaine. Elle est considérée comme un aliment de base, au même titre que les céréales et les légumineuses (Mouhouche et Bazouche, 2008).

Ainsi, comme le montre le tableau 01, la pomme de terre a pris une part plus importante dans le régime alimentaire de l'Algérie au cours de ces dernières années.

Tableau 01: Évolution de la consommation de pomme de terre/habitant/an, et de la consommation globale.

Année	1970	1989	1995	2005	2012
Consommation par hab./an	20 kg	42 kg	41 kg	+65 kg	+100 kg
Consommation en tonne	273647	1.000.700	1.200.000	2.156.550	4.219.476

Source: <http://faostat.fao.org>.

En raison de sa demande dans le marché national de légumes, les agriculteurs ont investi dans la production de la pomme de terre. Cela s'est traduit par une augmentation de la superficie occupée par cette culture (Tabl.02), qui a atteint 138.666 ha en 2012, soit 37% de la superficie des cultures maraichères (<http://faostat.fao.org>, 2014).

Tableau 02: Évolution des superficies occupées par la culture de pomme de terre de 2003 à 2012

(Unité: Ha)

Année	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Superficie occupée (ha)	88.660	93.144	99.717	98.825	79.339	91.841	105.121	121.996	131.903	138.666

Source: <http://faostat.fao.org>.

II.1.2. Types de culture de pomme de terre pratiqués en Algérie

Selon les régions, on distingue trois types de culture en Algérie (Regueig, 2008):

La culture de primeur : est pratiquée surtout sur le littoral à température douce et absence de gel ; la plantation a lieu en novembre.

La culture de saison : se pratique dans toutes les régions, dont la mise en place de la culture est réalisée en Janvier au littoral, en Février-Mars dans les Plaines, et en Mars / Avril pour les hauts plateaux.

La culture d'arrière -saison : Cette dernière se pratique dans des zones à grande possibilité d'irrigation où presque tout le cycle se déroule en absence de pluie.

Au littoral, la mise en place de la culture se fait en Août-Septembre, et en Juillet sur les hauts plateaux.

II.1.3. Principales zones de production

La répartition géographique de la culture de pomme de terre est fortement influencée par les conditions agro climatiques et par les possibilités d'irrigation. Selon les données du MADR (2007), elle est pratiquée dans toutes les régions du pays.

Ouest: Tlemcen, Mostaganem, Chlef, Tiaret, Mascara, avec une superficie moyenne de 24 212 ha, soit 30,52 % de la superficie globale.

Centre: principalement dans les wilayates d'Ain Defla, Tipaza, Alger, Boumerdes, Bouira et Tizi Ouzou, couvrant une superficie de 24 426 ha (soit 30,79 % des superficies).

Est : dans les wilayates de Skikda, Guelma, Sétif, Mila et Batna, avec une superficie de plus de 8881 ha (soit 11,19 % des superficies).

Sud du pays: Il s'agit de l'apparition récente du bassin spécifique d'El Oued, où la pomme de terre est devenue en quelques années, une spéculation majeure avec près de 7.000 hectares chaque année.

II.1.4. Variétés cultivées Les variétés cultivées

La liste des variétés de pomme de terre homologuées en Algérie établie par le CNCC comporte 156 variétés (communication personnelle, Benilale L.). Toutes ces variétés sont importées, dont 58% des Pays Bas, 16% de la France et 13% du Danemark.

Communément les variétés sont classées par la couleur de la peau: blanche ou rouge.

Selon les données de la Chambre Nationale d'Agriculture, les variétés les plus demandées en production sont:

Pour la catégorie peau rouge: Désirée, Kondor, Stemter, Cardinal;

Pour la catégorie peau blanche: Timate, Spunta, Diamant, Nicolas, Escort et Apollo.

II.2. L'alternariose

II.2.1. Importance

L'alternariose a été décrite pour la première fois en 1892. Elle constitue un problème grave dans de nombreuses régions du monde où elle affecte non seulement la pomme de terre, mais aussi les tomates et d'autres solanacées (Zachmann, 1982 ; Tymon et al., 2013). Cette maladie était moins étudiée par rapport au mildiou, mais au cours des dernières années, elle est devenue une maladie importante dans la plupart des régions chaudes productrices de pomme de terre (D'Hondt-Defranco, 1984; Vloutoglou et al., 2000).

La maladie provoque des pertes de rendement par défoliation des plants dont les graves épidémies peuvent réduire les rendements de pommes de terre de 20 à 30% (Christ, et Maczuga, 1989 ; Shtienberg et al., 1990). Ces pertes peuvent aller jusqu'à 60% si la maladie ne fait l'objet d'aucun contrôle (Sikora et al., 2004).

II.2.2. Symptômes

Les symptômes causés par *Alternaria alternata* diffèrent de ceux causés par *A. solani* (Stevenson et al., 2001).

Les lésions causées par *A. alternata* sont exclusivement présentes sur les feuilles et prennent la forme de petites taches brunes, souvent nombreuses et dispersées sur la surface de la feuille (fig. 01) (French, 2001).

Les symptômes causés par *A. solani* apparaissent sur les feuilles et sur les tubercules (Stevenson et al., 2002).

Sur les feuilles, des lésions brunes foncées, plus ou moins circulaires, avec des anneaux disposés de manière concentrique ressemblant à un panneau de cible, se développent d'abord sur les feuilles les plus âgées (fig. 02 ; A) (CIP, 1996).

Selon les conditions environnementales et la variété cultivée, la taille des lésions peut varier de 0,5 à 2,0 cm de diamètre (Avery, 1983). Lorsque les taches s'agrandissent, elles deviennent limitées par les nervures des feuilles et prennent une forme angulaire (fig. 2 ; B) (Gaucher, 1997). Une étroite bande de tissu chlorotique entoure souvent chaque lésion, et une vaste chlorose se développe au fil du temps sur le feuillage infecté (Schôberer



Figure01. Les lésions causées par *A. alternata* (Wharton et Kirk, 2007)

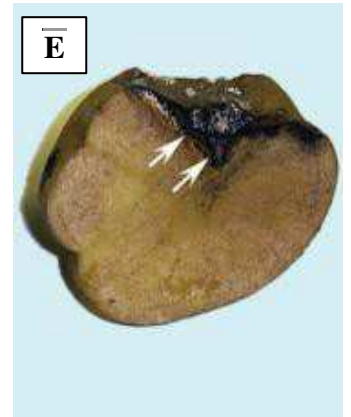
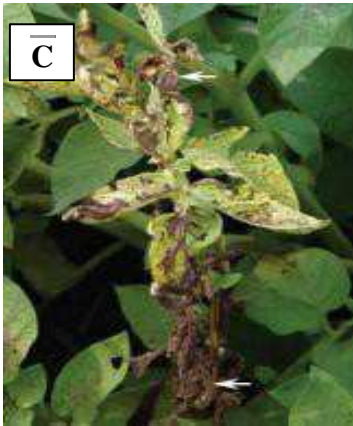


Figure02. Les lésions causées par *A. solani*

A) jeunes feuilles attaquées

B) forme des lésions : série alternée d'anneaux concentriques bruns clairs et foncés, C) feuilles desséchées et mortes, mais restent attachées au plant (flèches).

D et E) tubercules malades

Source: Wharton et Kirk, 2007

Turkensteen, 1992). Sous des conditions sèches, la partie nécrotique peut tomber laissant un trou. La maladie se traduit généralement par défoliation des feuilles desséchées, mais parfois ces dernières restent attachées aux plants (fig. 2; C) (Randall, 1995). Des lésions similaires se reproduisent également sur les pétioles et les tiges (Radtket et Rieckmann, 1991 ; Jacobsen et Zidack, 2010).

Les tubercules infectés sont caractérisés par des lésions creuses irrégulières avec des bords soulevés. Elles sont réparties de manière aléatoire sur la surface du tubercule. Leur couleur varie du gris, de brun ou violet au noir (fig. 2 ; Det E) (Thomas et Rosemary, 1986; Selman et al., 2008).

II.2.3. Agent causal

II.2.3.1. Taxonomie

Le genre *Alternaria* a été créé en 1816 avec *A. alternata* (à l'origine *A. tenuis*) comme isolat type. En raison de l'absence d'un stade sexué identifié pour la grande majorité des espèces *Alternaria*, ce genre a été classé dans la division des champignons mitosporiges : le phylum des Champignons Imparfais (*Fungi Imperfecti*) (Bart et Thomma, 2003). Selon Ellis 1971, la classification du genre *Alternaria* s'établit comme suit :

Classe: Deuteromycetes
 Sous-Classe : Hyphomycetes
 Ordre : Moniliales
 Famille : Dematiaceae

La caractéristique taxonomique clé du genre *Alternaria* est la production de phaeodictyospores. Ces conidies sont plus larges à leur base et se rétrécissent progressivement en un bec allongé, offrant une apparence d'une massue (Fig. 3; 4). Elles sont produites en chaînes simples ou ramifiées sur conidiophore court et érigé (Campbell, 1969; Carzaniga et al., 2002; Kawamura et al., 1997).

Dans le genre *Alternaria*, les espèces sont principalement définies par les caractéristiques des conidies. Plus de 100 espèces présentes dans le monde ont été décrites (Simmons, 1992). Toutefois, des erreurs dans la taxonomie des espèces *Alternaria* ont surgi en raison de la

variabilité des caractères morphologiques, qui ne sont pas seulement affectés par des facteurs intrinsèques, mais également par les conditions environnementales (Rotem, 1994).

II.2.3.2. Description morphologique

D'après plusieurs auteurs (Mathuret-Kongsdal, 2003; Radtke et Rickman, 1991; Ellis, 1971 et Champion, 1997), les conidies d'*Alternaria solani* et *A. alternata* se caractérisent comme suit :

Les conidies d'*A. solani* sont elliptiques, oblongues ou en forme de massue, de couleur noirâtre, transversalement cloisonnées. Elles sont souvent sans cloisons longitudinales, et se terminent par une longue cellule terminale (Fig. 03). Elles sont détaillées microscopiquement de 15 à 20 µm de large et de 150 à 300 µm de long. La cellule terminale se rétrécit en direction de son extrémité de 2,5 à 5,0 µm.

En revanche, les conidies d'*A. alternata* sont brunes, lisses ou verruqueuses à apex simple et de taille relativement réduite. Elles comportent généralement un nombre de loges assez restreint ; le cloisonnement longitudinal se réduit souvent à 1 ou 2 cloisons, pour 3 à 5 cloisons transversales. Leur taille est de 7 à 19 µm de large et 10 à 71 µm de long. Elles naissent sur le conidiophore en chaînes d'une dizaine de conidies (Fig. 04).

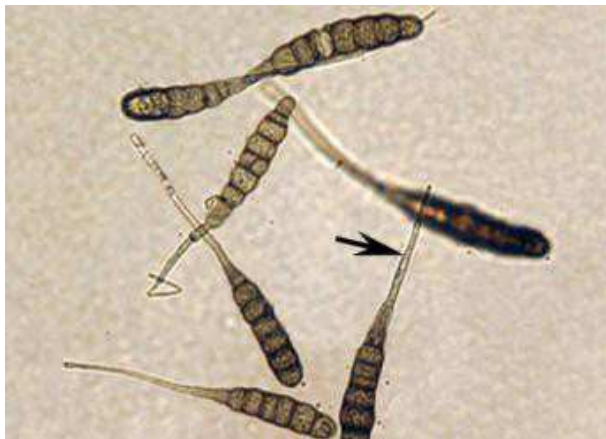


Fig. 03 : Spores d'*Alternaria solani*, Notez les cloisons transversales et le long « bec » (flèche).

Source: Wharton et Kirk, 2007

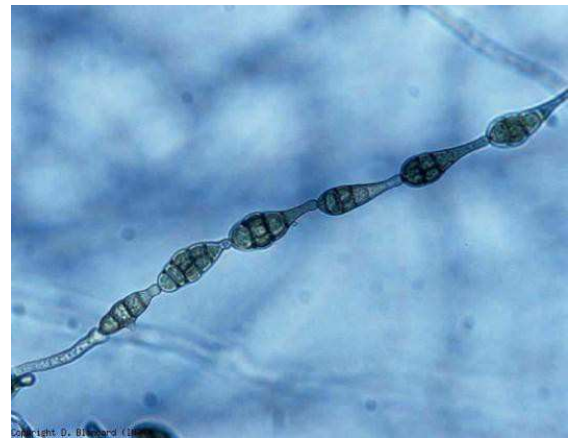


Fig. 04 : Conidiophores d'*A. alternata* avec des chaînes de conidies.
Source : <http://www.inra.fr> (2011)

II.2.4. Epidémiologie de la maladie

Le pathogène se conserve dans les débris de plantes, dans les tubercules de semence ou dans d'autres solanacées, tels que la tomate (Jacobsen et Zidack, 2010). L'infection primaire se fait sur les feuilles âgées, les jeunes feuilles et les plantes bien nourries, ne montrant pas de symptômes (Vloutoglou et Kalogerakis, 2000). Par la suite, avec l'âge de la culture, les infections secondaires répandent rapidement la maladie. La température optimale étant 26°C, et son extension est favorisée par des périodes successives d'humidité et de sécheresse ainsi que par les longues périodes de sécheresse (Pelletier et Fry, 1990). La maladie est plus sévère dans le cas de mauvaises conditions de croissance de la pomme de terre (par ex. : mauvaise fertilisation) où l'on approche de la senescence de la plante. Ainsi, les variétés à cycle long (tardives) sont en général moins attaquées (Caligari et Nachmias, 1988).

II.2.5. Moyens de contrôle

La gestion efficace de cette maladie nécessite la mise en œuvre d'une approche intégrée, principalement par l'utilisation de pratiques culturales, des cultivars résistants et des fongicides foliaires (Schultz et al., 2009).

II.2.5.1. Lutte culturale

Des pratiques culturales comme la rotation des cultures, la suppression et destruction par feu des débris végétaux infectés, et l'éradication de mauvaises herbes hôtes aident à réduire le niveau d'inoculum pour des plantations ultérieures (Lacy et al., 1984).

D'autres mesures de lutte culturale sont préconisées (Kucharek, 2000; Olanya et al., 2009):

- Éviter l'irrigation par temps frais et nuageux, et choisir un moment qui permet aux plants d'être secs avant la tombée de la nuit.
- Utiliser des semences saines exemptes de maladies (certifiées).
- Pratiquer un travail du sol, tel le labour d'automne, qui enterre profondément les débris végétaux.

II.2.5.2. Cultivars résistants

Des variétés avec un bon niveau de résistance aux champignons à préconiser, tout en sachant qu'il n'y a pas d'immunité à l'alternariose chez les cultivars de pommes de terre commerciales ou leurs parents sauvages (Weber et Jansky, 2012).

Les cultivars très sensibles doivent donc être évités dans les endroits où l'alternariose est répandue et la pression de la maladie est élevée. La résistance sur le terrain à l'infection du feuillage est associée à la maturité des plants (White et Shaw, 2008).

II.2.5.3. Lutte chimique

Le procédé de contrôle le plus courant et le plus efficace contre l'alternariose est l'application de fongicides foliaires. Ces derniers recommandés en préventif pour le contrôle de mildiou tels le manèbe, le mancozèbe, le chlorothalonil et triphénylhydroxyde d'étain sont également efficaces contre l'alternariose, lorsqu'ils sont appliqués à des intervalles de 7 à 10 jours (Abu-El samenet Al Shudifat, 2011).

Une résistance au groupe des strobilurines a été rapportée dans le Michigan. La répartition géographique de cette résistance n'est pas connue ; c'est pourquoi les applications des strobilurines doivent être prises en combinaison avec des mélanges d'autres fongicides (Zachmann, R. 1982).

L'application de fongicides foliaires n'est pas nécessaire sur les plants au stade végétatif, quand ils sont relativement résistants. En conséquence, la pulvérisation devrait commencer au premier signe de maladie ou immédiatement après la floraison. La fréquence des pulvérisations ultérieures devrait être déterminée selon le génotype et la résistance du cultivar liée à l'âge (Fairchild et al., 2013). Les fongicides protecteurs doivent être appliqués d'abord à des intervalles relativement longs et à des intervalles plus courts que l'âge de la culture.

II.3. *Trichoderma* spp.: agent de lutte biologique.

II.3.1. Introduction

Le *Trichoderma* est un genre de champignon qui a été décrit en 1794, il comprend des espèces anamorphiques isolées principalement du sol et de la matière organique en décomposition (Monte et Llobell, 2003). Le concept d'espèce au sein du genre *Trichoderma* est très large, ce qui a entraîné la reconnaissance de nombreux groupes infraspécifiques. Certains groupes de biotypes dans ce conglomérat sont capables d'avoir une action d'antagoniste à l'égard des champignons phytopathogènes en utilisant la concurrence pour le substrat, l'antibiose et/ou le mycoparasitisme comme principaux mécanismes. Ce potentiel antagoniste est la base pour des applications efficaces de différentes souches de *Trichoderma* comme une alternative à la lutte chimique contre un large éventail d'agents pathogènes fongiques des plantes (Chet 1987; Harman et Björkman, 1998).

II.3.2. Biodiversité des *Trichoderma* spp.

La plupart des espèces de *Trichoderma* sont morphologiquement très proches et ont été considérées pendant de nombreuses années comme une seule espèce: *T. viride* (Bisby, 1939). Plus récemment, de nouvelles espèces ont été reconnues et un nouveau système taxonomique est consolidé; ainsi Rifai (1969) en a proposé et défini morphologiquement neuf groupes d'espèces et Bisset (1991) a ajouté cinq nouvelles sections. Ainsi, les méthodes basées sur l'analyse de l'ADN ont apporté des critères supplémentaires à la taxonomie des *Trichoderma* spp. Ces critères sont utilisés aujourd'hui pour les études qui incluent l'identification (Hermosa et al, 2001; Lübeck et al 2000) et la classification phylogénétique (Kullnig-Gradinger et al, 2002; Lieckfeldt et Seifert 2000).

Les travaux portant sur des analyses phylogénétiques ont établi le lien étroit entre le genre mitosporique *Trichoderma* et l'ascomycète *Hypocrea*, où seulement quatre espèces ont été avérées clonales (strictement asexuées) (Druzhinina et al (2010)(2008); Samuels et al, 2010).

La plupart des isolats du genre *Trichoderma* qui montrent une action mycoparasite à l'égard de nombreux agents phytopathogènes, ont été classés comme *T. harzianum* Rifai (Gamet Meyer, 1998). C'est à raison que l'espèce "*T. harzianum*" est généralement considérée comme un groupe composé de souches mycoparasites et de biocontrôle. Ce qui

expliquer l'existence d'une forte plasticité morphologique dont les caractères chevauchent avec d'autres espèces; dans ce cas, l'identification de l'espèce devient très difficile.

II.3.3. Mécanismes d'action

L'un des aspects les plus intéressants dans le domaine de la lutte biologique est l'étude des mécanismes utilisés par les agents de lutte biologique dans le contrôle des maladies. Afin de rendre l'utilisation plus efficace de cet agent, nous devons comprendre les mécanismes employés par les *Trichoderma* spp. et qui sont nombreux et variés.

II.3.3.1. Mycoparasitisme

Selon Punja et Utkhede (2003), les *Trichoderma* spp. sont les champignons mycoparasites les plus étudiés.

Le mycoparasitisme peut être défini comme l'attaque directe d'un champignon sur un autre, et est un processus très complexe qui implique des événements séquentiels, y compris la reconnaissance, l'attaque, la pénétration ultérieure et la mort de l'hôte (Benítez et al., 2004).

Le rôle des enzymes extracellulaires a été bien mis en évidence par plusieurs chercheurs. Nous pouvons citer les enzymes protéolytiques (Kredic et al., 2005; Pozo et al., 2004) ; système-1,3-glucanolytique (Kubicek et al., 2001 ; de la Cruz et Llobell, 1999 ; Vazquez-Garciduenas, 1998) et la chitinase (Brunner et al., 2003 ; Hoel et al., 2005). Le complexe d'enzymes extracellulaires est considéré comme un facteur clé dans la lyse de la paroi cellulaire des agents pathogènes pendant le mycoparasitisme (Howell, 2003; Elad, 2000; Benhamou et Picard, 1999).

II.3.3.2. Antibiose

Elle est définie comme étant le processus de sécrétion de composés anti-microbiens par des champignons antagonistes, afin de supprimer les champignons pathogènes dans le voisinage de leur zone de croissance (Schirmböck et al., 1994). Lors de plusieurs études (Menendez et Godeas, 1998; Ghisalberti, 2002; Ghisalberti et Sivasithamparam, 1991; Inbar, 1996 et Calistru et al., 1997), les auteurs ont constaté que malgré un contact étroit entre les hyphes des *Trichoderma* spp. et les pathogènes, la pénétration des hyphes était absente, ce qui suggère que le mycoparasitisme n'était pas la seule cause des effets inhibiteurs observés. Par conséquent, les métabolites produits par les *Trichoderma* spp. telles que les substances

volatiles, et les enzymes extracellulaires ou antibiotiques ont été considérées comme les éléments probables impliqués dans l'antibiose.

Ces métabolites antagonistes produits par les *Trichoderma* spp. sont des polypeptides linéaires, amphipathiques, nommés peptaïbol et peptaïbotics (Szekeres et al., 2005). Les propriétés biologiques de ces composés antibiotiques comprennent les perturbations des lipides membranaires, les activités anti-microbiennes, et l'induction de résistance physico-chimique des plants (Verma et al., 2007)

II.3.3.3. Compétition

Le manque de nutriments facilement accessibles pour les microorganismes, en particulier ceux qui vivent dans le sol et sur les surfaces des plants, pourrait entraîner une concurrence explicite entre les microorganismes (Celar, 2003; Blakeman, 1978; Sivan et Chet, 1986 ; Lewis et Papavizas, 1991). Ce phénomène est largement constaté entre les *Trichoderma* spp. et certains pathogènes telluriques (Hutchinson, 1999; Hanson et Howell 2002 ; Srinivasan et al., 1992). Il semble y avoir un consentement général à l'effet combiné des deux facteurs que sont les enzymes et les antibiotiques (Liu et Yang, 2005; Howell et Puckhaber, 2005)

II.3.3.4. Induction des mécanismes de défense de la plante

Il est constaté que l'association de *Trichoderma* avec les racines, et plusieurs enzymes lytiques induites par le système de défense des plantes, détruit la paroi cellulaire des pathogènes (Benhamou et al., 1999; Shores et al., 2005). Ces associations racine-champignon stimulent également les mécanismes de défense des plantes.

Les souches de *Trichoderma* présentes au niveau de la rhizosphère protègent les végétaux contre de nombreuses classes d'agents pathogènes, y compris ceux qui provoquent des infections aériennes. Ces souches induisent des mécanismes de résistance similaires à la réponse d'hypersensibilité (RH), à la résistance systémique acquise (SAR), et à la résistance systémique induite (ISR) chez les plantes (Harman et al., 2004).

Au niveau moléculaire, la résistance résulte en une augmentation de la concentration des métabolites et des enzymes liées aux mécanismes de défense, tels que l'enzyme phényl-alanine ammonio-lyase (PAL) et de la chalcone synthase (CHS), impliqués dans la biosynthèse de phytoalexines (réponse RH), des chitinases et des glucanases. Celles-ci

comprennent des protéines liées à la pathogénèse (PR) (réponse SAR) et des enzymes impliquées dans la réponse au stress oxydatif (Stacey et Keen, 1999).

Certains auteurs ont décrit que lorsque ces plantes sont en contact avec *Trichoderma* spp., leur résistance persiste pendant de longues périodes, au moins plusieurs mois (Harman et al., 2004).

II.3.3.5. Stimulation de croissance des plants

La littérature est riche de nombreuses études sur l'activité promotionnelle de la croissance des plantes sous l'action des *Trichoderma* spp. (Chet et al., 1997; Arora et al., 1992; Harman et Björjmann, 1998; Wu et al., 2005). Certains chercheurs ont suggéré que la production d'hormones de croissance (Anderson, 1993; Harman et al., 2004) et le transfert accru de minéraux de la rhizosphère (Harman et al., 2004) sont les facteurs directs qui régissent la performance spectaculaire des biofongicides à base de *Trichoderma* spp.

Trichoderma spp. acquièrent facilement les éléments nutritifs à partir de substrats complexes dans le sol, comme les protéines et la glucosamine. Ces éléments nutritifs sont facilement utilisés par la plante en bénéficiant de leur relation symbiotique mutuelle (Verma et al., 2007).

II.3.4. Application

Etant donné que des épidémies causées par des souches de *Trichoderma harzianum* ont été signalées sur le champignon cultivé commercialement (*Agaricus bisporus*) (Samuel et al., 2002) et des effets nocifs sur les mammifères immunodéprimés ont été bien démontrés (Kredic et al., 2003), l'application de *Trichoderma* spp. comme agents de lutte biologique dans l'environnement doit être raisonnée et étudiée, en utilisant uniquement les espèces inoffensives.

Néanmoins, l'application généralisée de *Trichoderma* spp. comme agents de lutte biologique a été appliquée contre plusieurs champignons phytopathogènes telluriques (Baker et Cook, 1974; Papavizas et al., 1982) et également pour protéger les fruits et légumes à plus-value, comme la banane, la pomme, la fraise, la mangue, la pomme de terre et la tomate, au cours du stockage post-récolte (Moreno et Paningbatan, 1995; Batta, 2004; Hjeljord et al., 2000; Bankole et Adebajo, 1996; Perello et al., 2003; Escande et al., 2002).

Comparativement à la plupart des agents fongiques de lutte biologique, les *Trichoderma* spp. peuvent être utilisés efficacement sous forme de spores, qui sont plus tolérantes aux conditions environnementales défavorables lors de la formulation et de l'utilisation du produit au champ, contrairement à leur forme mycélienne ou de chlamydo-spores (Amsellem et al., 1999). Néanmoins, la présence d'une masse mycélienne est également un élément essentiel pour la production de métabolites antagonistes (Benhamou et Chet., 1993).

II.3.5. Biofongicides à base de *Trichoderma* spp.

Le potentiel de ces espèces de *Trichoderma* comme agents de lutte biologique contre les maladies des plantes a été reconnu au début des années 1930, et les années qui suivirent. Ainsi le contrôle de nombreuses maladies a été ajouté à la liste. Cela a abouti à la production commerciale de plusieurs espèces de *Trichoderma* pour la protection et l'amélioration de la croissance d'un certain nombre de cultures (Howell, 2003).

Les biofongicides à base de *Trichoderma* spp. sont une réalité dans l'agriculture, avec plus de 50 formulations aujourd'hui disponibles tant que produits homologués à travers le monde (Tabl. 03) (Verma et al., 2007). La majorité de ces produits sont utilisés pour contrôler les agents phytopathogènes transmis par le sol (Harman, 2000).

Tableau 03. Quelques biofongicides à base de *Trichoderma* commercialisés et utilisés dans le monde (Verma et al., 2007).

Agents antagonistes	Agents cibles	Hôtes	Produits	Compagnies	Pays
<i>T. viride</i>	<i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> spp. et <i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kuhn	Céréales et cultures maraichères	Ecoderma Trieco	Margo biocontrol Private Ltd Ecosense Labs	Inde
<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium</i> spp. et <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.	Cultures maraichères	Supresivit Trichoderma 2000 TUSAL	Borregaard and Reitzel Mycontrol	Danemark Espagne
<i>T. harzianum</i> et <i>T. viride</i>	<i>Fusarium</i> spp., <i>Phytophthora</i> spp., <i>Pythium</i> spp. et <i>R. solani</i>	Cultures de plein champ, cultures maraichères et plantes ornementales	Trichodry, Trichoflow, Trichogrow, Trichopel R Trichopel, Trichojet, Trichodowels,	Agrimm Technologies	Nouvelle Zélande Etats Unis Belgique

II.4. Extraits végétaux: moyen de lutte biologique

II. 4.1. Introduction

Les traitements à base d'extraits végétaux et d'autres méthodes de lutte biologique existaient depuis longtemps, mais ces pratiques ancestrales ont largement été oubliées avec l'avènement de la chimie de synthèse, essentiellement dans la seconde moitié du XX^e siècle (Pintureau et al., 2009).

Les plantes indigènes ou acclimatées à partir desquelles on peut facilement extraire des substances efficaces pour la protection des cultures, sont en fait très nombreuses (Régiuult-Roger et al., 2002). Contrairement aux pesticides chimiques, ces substances naturelles n'ont pas d'impact violent sur l'environnement, et elles se dégradent totalement et rapidement. Un coût écologique raisonnable s'ajoute à un très faible coût économique.

II.4.2. Principaux groupes de composés antimicrobiens

Les plantes produisent une grande variété de métabolites bioactifs qui servent de mécanismes de défense des plantes contre les parasites.

Certains métabolites secondaires donnent aux plantes leurs odeurs (terpénoïdes), certains sont responsables de pigments végétaux (quinines et tanins) et d'autres sont responsables de la saveur de la plante. Ces composés bioactifs antimicrobiens sont classés par Cowan (1999) en 5 grandes catégories comprenant: les terpénoïdes et huiles essentielles; les composés phénoliques et polyphénols, les alcaloïdes, les polypeptides et les mélanges divers (extrait brut).

II.4.2.1. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances hydrophobes, contenant des aromatiques volatiles extraites à partir de la matière végétale à l'aide de vapeur d'eau ou de techniques de distillation hydrauliques. La plupart de ces produits naturels volatils appartiennent aux composés monoterpénoïdes (Hanson, 2003). Les huiles essentielles sont importantes en raison de leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, anti-oxydantes et anti-cancérogènes (Tzortzakakis, 2007).

L'activité antifongique des composés volatiles extraits de feuilles, tiges et fleurs de *Lantana camara*, *Malva viscaria* et *Hibiscus rosa-sinensis* ont été testés contre *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*, *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* et *Verticillium dahlia* (Boughalleb et al., 2005). Les résultats ont montré que les composés volatiles à partir de fleurs ont une activité antifongique plus forte que les extraits de tiges ou de feuilles contre les champignons testés, à l'exception de *P. ultimum*.

Cependant, *P. ultimum* n'a pas été affectée par les extraits de n'importe laquelle des plantes testées (Boughalleb et al., 2005).

Bien que *Pythium* soit classé comme un oomycète, il n'est pas considéré comme un véritable champignon dans les systèmes de classification moderne. Étant donné que la cible de nombreux fongicides classiques est la biosynthèse de l'ergostérol, ils ne parviennent pas à influencer les Oomycètes car leurs parois cellulaires sont constituées de cellulose, tels que ceux des plantes supérieures (Deacon, 1997).

Changet al. (2008) ont étudié l'activité antifongique des huiles essentielles et de ses constituants de *Calocedrus macrolepis* var. *formosana* sur la croissance mycélienne des champignons phytopathogènes. Leur expérience a montré que les composés sesquiterpénoides étaient plus efficaces que les composés monoterpénoides de l'huile de feuilles. Ces résultats ont révélé que le *T-murolol* et le *cadinol* possèdent des activités antifongiques contre un large spectre de champignons pathogènes des plantes testées. Ces deux composés inhibent fortement la croissance de *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum*, avec des valeurs de DL50 inférieures à 50 µg / ml. Ces composés inhibent également efficacement la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pestalotiopsis funerea*, *Ganoderma australe* et *Fusarium solani* (Changet al., 2008).

II.4.2.2. Les mélanges (extraits bruts)

Le screening sur les plantes pour des activités antimicrobiennes possibles commence généralement par des extraits bruts, aqueux ou d'alcools, suivis par différentes méthodes de fractionnement organiques. Le choix de la procédure d'extraction dépend de la nature du matériel source et des composés à isoler (Hanson, 2003).

Comme la plupart des composants identifiés à partir de plantes, actifs contre les microorganismes sont des composés organiques aromatiques saturés; ils sont le plus souvent obtenus par extraction initiale par l'éthanol ou le méthanol (Cowan, 1999).

Yazdani et al. (2011) ont suggéré que la majorité des études faites sur l'effet des métabolites secondaires contre les champignons phytopathogènes ont été réalisées par l'extrait brut au lieu de fractions spécifiques, et le méthanol était le meilleur par rapport à l'eau ou d'autres solvants organiques. Les avantages de l'utilisation de l'extrait brut sont: l'effet additif ou synergique des mélanges, l'augmentation du spectre antimicrobien de l'extrait et la diminution du risque pour la résistance de l'agent pathogène au mélange (Yazdani et al., 2011). En outre, des combinaisons synergiques des mélanges ont été détectées contre différents agents pathogènes, indiquant la grande efficacité des combinaisons par rapport aux traitements en monothérapie (Tahany et al., 2010).

Les extraits à l'éthanol de 40 plantes supérieures représentant 23 familles ont été étudiés par Begum et al. (2007) pour une activité antifongique contre six champignons phytopathogènes (*Alternaria alternata*; *Curvularia lunata*; *Fusarium equiseti*; *Macrophomina phaseolina*; *Botryodiplodia theobromae* et *Colletotrichum corchori*). Les résultats ont révélé que les extraits les plus actifs étaient obtenus d'*Acorus calamus* et *Piper betel*. L'extrait de rhizome de *A. calamus* à une concentration de 01 mg/ml exhibe l'activité antifongique la plus élevée, une inhibition de la croissance mycélienne de 100% pour les 06 pathogènes testés.

Dans un autre dépistage, des effets antifongiques de 66 plantes médicinales appartenant à 41 familles de plantes ont été évalués contre *Pythium aphanidermatum*, l'agent causal de la fonte des semis (Muthukumar et al., 2010). L'extrait de feuilles de Zimmu (*Allium sativum* L. × *Allium cepa* L.) à une concentration de 10% a eu l'effet inhibiteur le plus élevé.

L'efficacité de l'extrait d'ail frais (*Allium sativum*) préparé par mixeur contre une gamme de champignons pathogènes des plantes: *Alternaria brassicicola*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium tabacinum*, *Magnaporthe grisea*, et *Phytophthora infestans* a été étudiée par Curtis et al. (2004). Cette étude a montré que la croissance *in vitro* de *A. brassicicola*, *B. cinerea*, *M. grisea* et *P. cucumerina* a été inhibée complètement par l'extrait d'ail à 20 µl/boîte. Pour le test *in planta*, une réduction de l'agressivité de la maladie a été observée pour la pyriculariose causée par *M. grisea*, le mildiou d'*Arabidopsis* causé par *Hyaloperonospora*

parasitica et le mildiou sur tubercules de pomme de terre causé par *P. infestans*. Dans les expériences avec *M. grisea* et *H. parasitica*, le plus haut niveau de réduction a été obtenu lorsque les plants ont été traités 24 h avant l'infection (Curtis et al., 2004).

II.4.3) Biofongicides à base d'extraits végétaux

A l'état actuel, la commercialisation des produits fongicides à base d'extraits de plantes reste embryonnaire, moins de 01% du marché. Cela est dû principalement aux niveaux de contrôle fournis par ces produits qui sont insatisfaisants, à l'exception de la spécialité Timorex GoldTM préparée à base de l'arbre à thé *Melaleuca alternifolia*, qui donne le même niveau de contrôle que les fongicides de synthèse spécifiques, contre les mildious, les oidiums et l'alternariose, sur vigne, tomate, pomme de terre et cucurbitacée, ainsi la cercosporiose noire sur banane (Reuveni, 2010).

Cependant, la majorité de ces biofongicides (Tabl.04) montre des efficacités instables, qui oblige les producteurs bio à les intégrer adéquatément dans les programmes de lutte intégrés (Cao et al., 2010).

Tableau 04. Biopesticides à base d'extraits végétaux commercialisés aux Etats-Unis pour le contrôle des maladies des plantes (Cao et al., 2010).

L'extrait	Maladies ciblées	Hôtes	Dénomination du produit commercialisé	Compagnies
L'huile de neem	Oïdium, la rouille, l'anthracnose, l'alternariose, et d'autres maladies	légume, fruits, noix et épices	Green Light® Neem concentrate	Green Light Company
L'huile de neem	Alternaria, anthracnose, Botrytis, chute des fruits après la floraison, Oïdium, les croûtes, les rouilles	Cultures maraichères	Triact® 70EC	Certis USA

Huile du thym	maladies fongiques, essentiellement causées par <i>Phytophthora sp.</i>	Tout type de cultures, plantes ornementales, et gazon	Promax™	Bio Huma Netus, Inc.
<i>Chenopodium quinoa saponins</i>	Alternariose, pourriture racinaire et fonte des semis	Soja, pomme de terre, tomate, petit pois, haricots et blé	Heads Up® Plant Protectant	Heads Up Plant Protectants

III. Matérielsetméthodes

III.1. Matériel biologique

III.1.1. Agents pathogènes : *Alternaria solani* et *A. alternata*

Les isolats d'*Alternaria solani* et d'*A. alternata* utilisés lors de ces travaux proviennent de la collection du laboratoire de phytopathologie de l'ENSA d'El-Harrach, obtenus à partir de plants de pomme de terre malades, provenant de différentes régions du pays. La variété d'où est obtenu chaque isolat, la région et la date d'isolement sont présentés dans le tableau 05.

Ces isolats ont subi une conservation dans des tubes en verre, contenant le milieu PDA, à une température de 4°C. Avant leur utilisation, ils sont repiqués dans des boîtes de Pétri et incubés pendant la période nécessaire à leur croissance et sporulation.

Tableau 05 : L'origine, la région et la date d'isolement des isolats d'*Alternaria* spp. utilisés.

Espèce	Isolats	Variétés	Régions	Dates d'isolement
<i>Alternaria solani</i>	AS1	Bartina	Bouira	Octobre 2012
	AS2	Fabula		
	AS3	Spunta		
	AS5	Burene		
<i>Alternaria alternata</i>	AA1	Spunta	Staoueli	2012
	AA3	Spunta	Mascara	
	AA4	Kuroda	El-Oued	
	AA5	Bartina	El-Oued	

III.1.2. Agents antagonistes: *Trichoderma* spp.

Les huit (08) isolats de *Trichoderma* spp. utilisés lors de nos différentes expériences proviennent également de la collection du département de botanique et phytopathologie de l'ENSA d'El-harrach (fig. 06). Ils sont traités de la même façon que ceux de l'*Alternaria*. Les

isolats nommés T3, T7, T13 et Tn3 appartiennent à l'espèce *Trichoderma atroviride* P. Karst., alors que T1, T4, T9 et T10 appartiennent à *T. longibrachiatum* Rifai. La culture d'où est obtenu chaque isolat, la région et la date d'isolement sont présentés dans le tableau 06.

Tableau 06 : L'origine, la région et la date d'isolement des isolats de *Trichoderma* spp. utilisés.

Espèce	Isolats	source	Régions	Dates d'isolement
<i>Trichoderma atroviride</i>	T3	Sol, céréales	B. Bahri	2007
	T7	Sol, céréales	Oued smar	2007
	T13	Graines de blé	ITGC	2007
	Tn3	blé	El-harrach	2012
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	T1	contamination	ENSA	2007
	T4	sol	Staouali	2007
	T9	rhizosphère pois chiche	ENSA	2007
	T10	rhizosphère pois chiche		2007

III.2. Matériel végétal

Variétés de pomme de terre

Deux variétés de pomme de terre, homologuées en Algérie, sont utilisées: Désirée (très ancienne) et Sarpo Mira. Cette dernière a montré une sensibilité élevée à l'égard de l'*Alternaria* dans différents travaux (White et Shaw, 2008), y compris lors de nos travaux antérieurs (Moulay, 2010).

Espèces végétales utilisées à des fins d'extraction

Pour l'étude des effets des extraits végétaux sur les isolats d'*Alternaria*, quatre espèces de plantes sont mentionnées dans d'autres travaux ont été choisies, pour leur efficacité antifongique envers plusieurs champignons (Abdurrahman et al., 2005; Latha et al., 2009; Feng W. et al., 2011). Ce sont: *Thymus* sp. (thym), *Inula viscosa* (L.) Aiton, *Allium cepa* L. (oignon) et *Allium sativum* L. (ail).

Les échantillons de plants (feuillage) sont récoltés à partir des maquis et des cultures de la région sud-ouest de la wilaya de Bouira, durant la fin du printemps (fin Mai - début Juin 2013). Ils sont tout d'abord séchés à l'air libre, puis découpés en petits morceaux et réduits en poudre à l'aide d'un broyeur. Cette dernière est conservée dans des sacs en carton jusqu'à son utilisation (Fig. 07).

III.3. Extraction des phénols non volatiles par voie froide à partir des espèces végétales

Le procédé d'extraction utilisé au cours de notre expérimentation est la macération alcoolique, qui consiste à maintenir la plante en contact avec de l'éthanol, à une température ambiante pendant un temps plus ou moins long, afin de libérer et extraire la majorité de molécules actives existantes chez les plantes à étudier.

À cet effet, cinquante grammes du matériel végétal sont mis en solution dans 500 ml d'éthanol absolu pendant 22 heures dans des flacons hermétiques, sous agitation horizontale à 150 rpm à la température ambiante du laboratoire (Jasso de Rodriguez et al., 2007). Le mélange est ensuite décanté et les surnageants sont filtrés successivement d'abord à l'aide d'un passoire, puis par le biais du papier Wattman (N°1). Le filtrat obtenu est traité dans un rotavapeur afin d'évaporer l'éthanol puis l'extrait est récupéré dans 50 ml d'eau distillée stérile pour faire dissoudre les constituants (composés actifs) (Hou et al., 2010) (Fig. 07).

Les quatre extraits bruts obtenus ont été ensuite préservés aseptiquement dans des tubes en verre stériles, recouverts par du papier aluminium afin d'éviter toute dégradation des molécules par la lumière, puis conservés au réfrigérateur (4°C) pour une utilisation ultérieure.

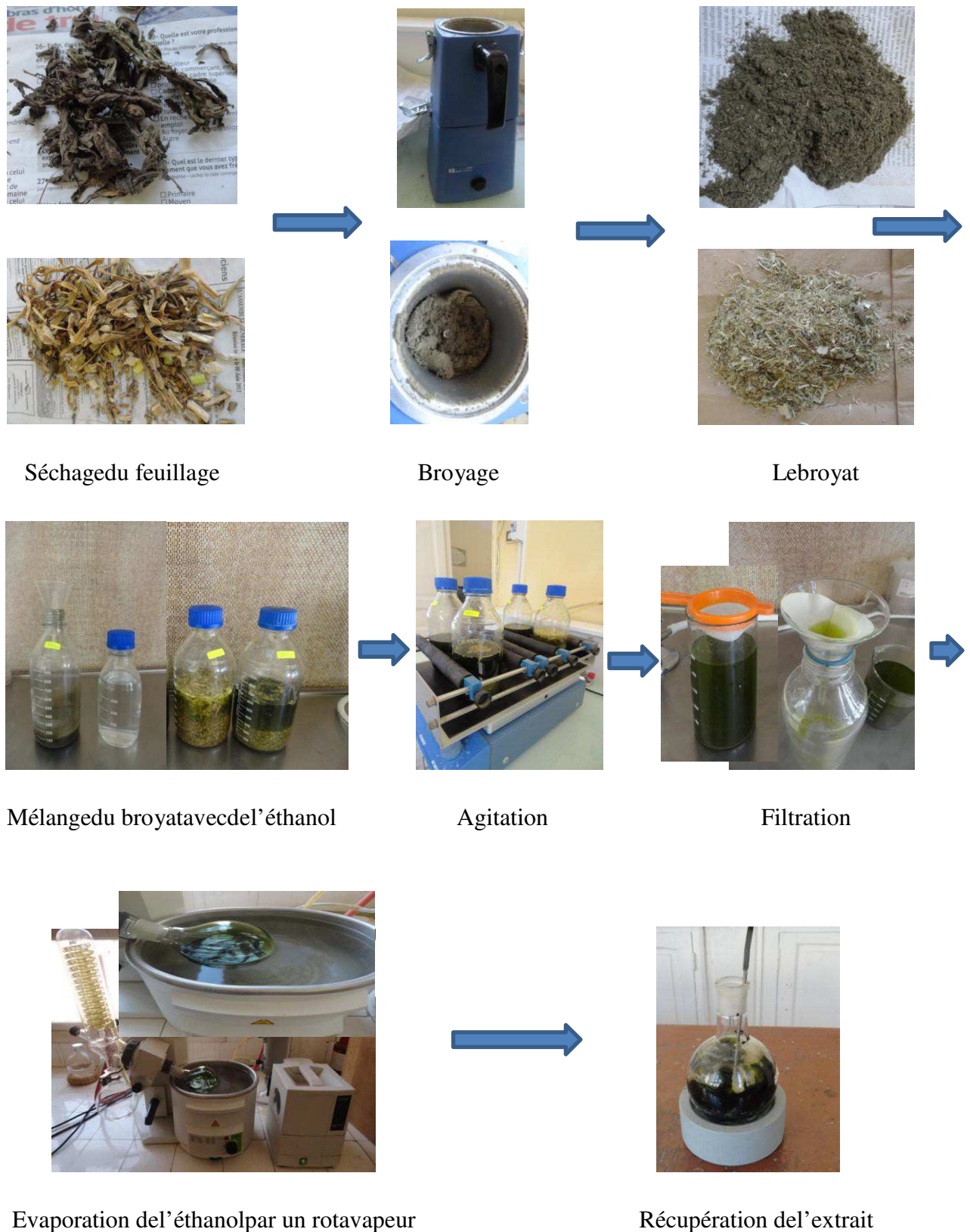


Fig. 05 : Les différentes étapes de l'extraction alcoolique des phénols par voie froide.

III.4. Sélection des isolats agressifs d'*Alternaria solani* et d'*A. alternata*

Pour une meilleure fiabilité de nos traitements retenus, les isolats d'*A. solani* et d'*A. alternata* les plus agressifs ont été sélectionnés.

Pour cela, des plants de pomme de terre de deux variétés (Sarpis et Désirée), plantés en pot et bien entretenus, sont inoculés par pulvérisation de suspensions de spores des deux pathogènes. La concentration retenue de l'inoculum est de $5 \cdot 10^4$ spores/ml pour *A. solani* et 10^6 spores/ml pour *A. alternata* (Latha P. et al., 2009; Egusa et al., 2008). Les isolats testés pour leur agressivité sont ceux représentés dans le tableau 05 ; deux plants de la même variété sont inoculés par chaque isolat.

La préparation des pots, l'entretien, la plantation, la méthode d'inoculation, la préparation des suspensions et la notation des symptômes sont présentés en détail dans la partie du test *in vivo* des extraits végétaux.

III.5. Technique d'étude de l'effet antagoniste de *Trichoderma sp.* à l'égard des isolats d'*Alternaria sp.*

La méthode consiste à confronter directement et indirectement, en boîtes de Pétri, nos isolats de *Trichoderma* à deux isolats parmi les plus agressifs d'*A. solani* et d'*A. alternata* déjà sélectionnés.

III.5.1. Confrontation directe

Cette méthode décrite par Benhamou et Chet (1996), consiste à déposer dans des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture PDA, deux explants de 6 mm de diamètre provenant de cultures âgées de 7 jours de l'agent antagoniste *Trichoderma sp.* et de l'agent pathogène *A. solani* ou *A. alternata*. Les deux explants sont placés selon un axe diamétral à 35 mm et à équidistance du centre de la boîte (Fig. 06). Au cours de cet essai, quatre répétitions ont été réalisées pour chaque combinaison « *Trichoderma-Alternaria* ». Des boîtes témoin, ne contenant que l'agent pathogène, ont été réalisées à raison de quatre boîtes pour chaque isolat. Toutes les boîtes sont incubées à une température de 25°C sous lumière blanche continue, pendant 7 jours ; les notations de la croissance du diamètre des colonies sont effectuées quotidiennement.

III.5.2. Confrontation indirecte ou à distance

Cette technique décrite par Olivier et Germain (1983), consiste à repiquer l'agent antagoniste et le pathogène dans deux boîtes de Pétri contenant le milieu PDA séparément. Les explants ont un diamètre de 6 mm et proviennent de cultures âgées de 7 jours. Les deux boîtes sont assemblées: celle contenant l'*Alternaria* en haut et celle contenant le *Trichoderma* en bas, puis elles sont scellées par du parafilm pour éviter les pertes en substances antifongiques volatiles (Fig. 07). Quatre répétitions sont réalisées pour chaque couple «*Trichoderma/Alternaria*». Des boîtes témoin ne contenant que l'explant d'*Alternaria* en haut, ont été effectuées à raison de quatre répétitions pour chaque isolat. Toutes les boîtes de Pétri sont incubées à une température de 25°C, sous une lumière blanche continue pendant 7 jours; les notations de la croissance du diamètre des colonies sont effectuées quotidiennement.

III.5.3. Mesure de la croissance mycélienne.

Les mesures de la croissance sont réalisées selon la méthode décrite par Rappilly (1968).

L'inhibition exercée par les *Trichoderma* spp. par les deux techniques de confrontation, est évaluée par le calcul du pourcentage de réduction de la croissance mycélienne de *A. solani* et *A. alternata* calculé selon la formule :

$$I\% = 1 - (C_n / C_0) \times 100$$

Où :

- I%: Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne de l'agent pathogène.
- C_n: Diamètre moyen du mycélium de l'agent pathogène en présence de l'antagoniste.
- C₀: Diamètre moyen du mycélium du témoin.

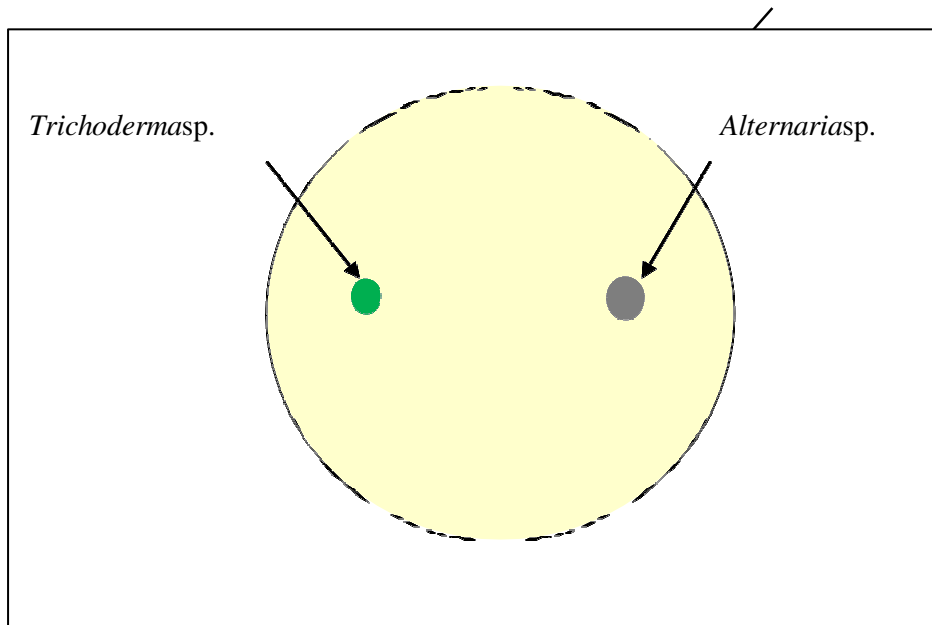


Fig.06.Schéma de la confrontation directe entre *Trichodermasp.* et *Alternariasp.*

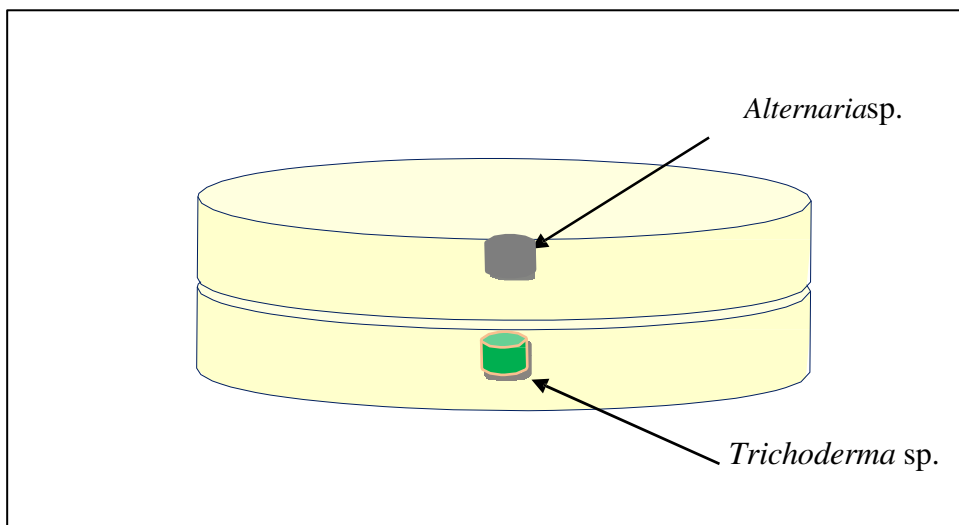


Fig.07.Schéma de la confrontation indirecte entre *Trichodermasp.* et *Alternaria sp.*

III.6. Etudedupouvoirantifongiquedes extraits végétaux

L'activitéantifongiquedes extraits végétauxàl'égard desisolats sélectionnés d'*Alternaria solaniet d'A. alternataa* été évaluéepar deux tests: l'un *in-vitro* et l'autre *in-vivo*.

III.6.1) Test *in vitro*

Laméthodeutiliséeconsisteàcultiverlechampignon dansunmilieudeculture(PDA) contenantdel'extraitvégétal. Ainsi, cinq(05) mldel'extraitbrutou desadilutionde 1/10 estajoutéeà 95 mldumilieu, juste avantd'être coulédansdesboitesdePétri, àune températurede 45 °C. Aprèssolidification, undisque mycélienissud'une culturefongique jeune découpé à l'aided'unemporte-pièce de 6 mmdediamètreestdéposéau centre de la boitedePétri. LetémoinnégatifestconstituédeboitescontenantlemilieuPDA avecle mêmevolume d'eau distilléestérile ; chaquetraitement est répété 05 fois.

L'activité antifongiquedesextraitsbrutsà l'égarddesisolatstestés, estestimée en mesurant lediamètre descolonies du champignonen mmaprès 07 jours.

La croissance radiale est exprimée en pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne en utilisant laformuledécrite par Pandeyet coll:

$$PI = (Dc - Dt) / Dc \times 100$$

Où

PI : Pourcentage d'inhibitiondelacroissancedeschampignonstestés(%).

DC: lediamètre moyendelacroissancemycélienneduchampignonnontraité(eaudistilléestérile)(mm). CT :

Lediamètre moyendelacroissancemycélienneduchampignontraité(extraitpuroudilutions)(mm).

III.6.2) Test *in vivo*

Afind'évaluerl'effet antagoniste de l'extraitobtenu à partir duthymà l'égard de l'*Alternaria*surboite de Pétrienconditionproche de laculture, unessaienvue deson utilisation commetraitemenfongicidea été réalisé.

Le testconsisteà inoculer desplantsdepomme de terre, ayantsubiune journée avantun traitementparunesolutiond'extraitdethym, parunesuspensiondesporesd'*Alternaria*

solani et d' *A.alternata*. Des plants non traités par l' extrait et d' autres traités par un fongicide sont utilisés respectivement comme témoin négatif et positif.

Préparation des pots, semis et entretien

Les pots utilisés ont un diamètre de 25 cm, sont remplis préalablement du sol auparavant stérilisé au four à 105°C pendant 24 h.

Les tubercules de la variété Sarpò Mira sont tout d' abord triés, pour ne garder que ceux de petite taille (3 à 4 cm de diamètre) en début de germination, puis sont plantés dans le sol à une profondeur de 0,5 cm.

Les pots sont irrigués régulièrement selon les besoins, à raison de trois fois par semaine. À la levée, une fertilisation des plants est réalisée par un apport d' engrais sous forme granulaire: N 15 P 15 K 15 à raison de 12 g/pot.

Traitements des plants

Les plants de pomme de terre ont fait l' objet de différents traitements: deux constitués de solutions de l' extrait du thym (à 20% et 10%), d' un fongicide (SCORE[®]) ayant comme matière active du difénocanazol à la dose préconisée au champ comme témoin positif, et un autre avec de l' eau distillée constituant le témoin négatif.

La solution de l' extrait de thym est composée d' eau distillée stérile et la quantité de l' extrait brut nécessaire pour avoir la concentration voulue (20% ou 10%). Le volume pulvérisé est le même pour tous les traitements (200 ml/bloc); les traitements sont réalisés 25 jours après la levée. Le dispositif expérimental est composé de deux essais différents: l' un est inoculé par *A.solani* et l' autre par *A.alternata*. Chaque essai contient quatre blocs et chaque bloc comporte quatre plants. Les différents traitements sont représentés par le schéma de la figure 08.

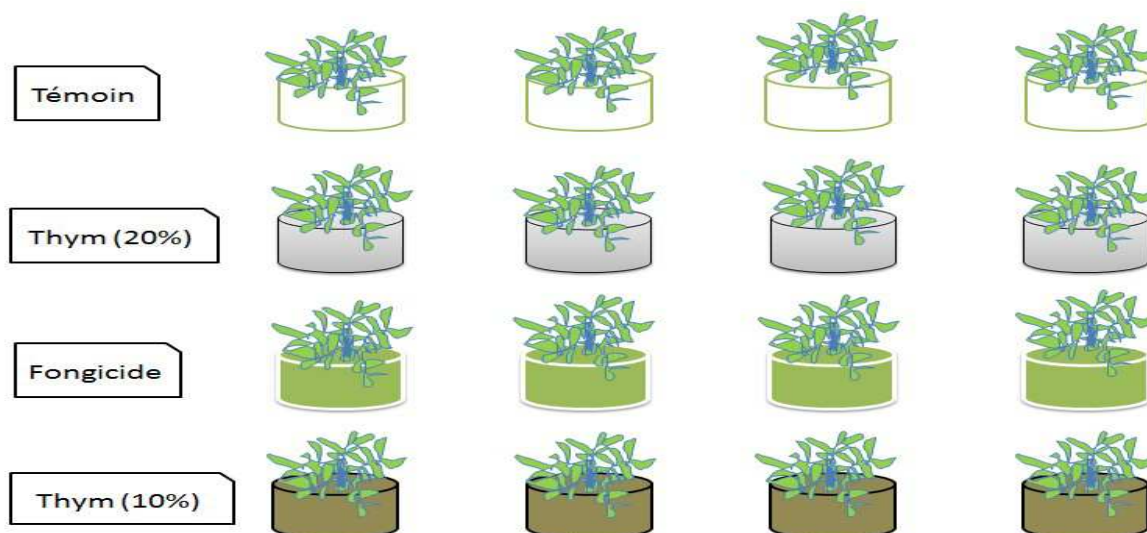


Fig. 08 : Dispositif expérimental pour le test *in-vivo* des extraits végétaux.

Inoculation

Tous les plants ont été inoculés soit par une suspension de spores d'*A.solani* à une concentration de 5.10^4 spores/ml, soit par une suspension de spores d'*A.alternata* à une concentration de 10^6 spores/ml.

L'inoculum est préparé à partir de cultures bien sporulées sur milieu PDA; 10 ml d'eau distillée stérile sont versées dans chaque boîte, puis la suspension est récupérée dans un tube à essai, en grattant la surface avec une pipette Pasteur recourbée. Les concentrations initiales sont évaluées à l'aide d'une cellule de Malassez et ajustées aux concentrations retenues.

Les suspensions ainsi préparées, sont pulvérisées sur les plants un jour après traitements, selon le dispositif représenté par la figure 08.

Après inoculation, chaque plante est recouverte par un sachet transparent en plastique afin de maintenir une atmosphère humide favorable à la germination des spores (fig.09).

Notations

Dès l'apparition des symptômes, des notations sont réalisées pour évaluer la maladie, en estimant le pourcentage d'attaque des plants: la première notation est réalisée dix jours après

les premiers symptômes; la deuxième est effectuée un mois après. L'estimation est basée sur une échelle de notation de 1 à 9, proposée par le CIP (OEPP, 2008) (tabl. 07).

Tableau 07 : Echelle de notation de l'agressivité de l'alternariose proposée par le CIP.

Description des plants atteints par <i>A. solaniet/ou A. alternata</i>	Sévérité (%)	Niveau
Pas d'infection visible	0	1
100 lésions par plant	2.5	2
10 % du feuillage nécrosé par bloc	10	3
25 % du feuillage nécrosé par bloc	25	4
50 % du feuillage nécrosé par bloc	50	5
75 % du feuillage nécrosé par bloc	75	6
90 % du feuillage nécrosé par bloc	90	7
97,5 % du feuillage nécrosé par bloc	97,5	8
Destruction totale des plants	100	9



Fig.09: Plants de pomme de terre recouverts d'un sac plastique transparent durant 48h après inoculation

Analyses statistiques

L'ensemble des résultats obtenus sont traités par le logiciel STATISTICA, qui permet une analyse de la variance, et une analyse hiérarchique des groupements, des individus ou des paramètres étudiés.

IV.1. Evaluationdel'agressivitédesisolats d'*Alternariasolani*et d'*A. alternata*.

Lesisolats d'*Alternariasolani*et*A.alternata*ontattaqué différemmentlesplantsde pomme de terre desdeuxvariétés SarpomiraetDésirée.Letableau08récapitule le niveau d'attaqueobtenude chaqueisolatsur les deuxvariétés utilisée.

Tableau08:Niveaud'attaquedesisolatsd'*A.alternaria*etd'*A.solani*sur l'échellede notation.

Variété	<i>Alternaria solani</i>				<i>Alternaria alternata</i>			
	AS1	AS2	AS3	AS5	AA1	AA3	AA4	AA5
Sarpo Mira	1	1	4	2	0	0	0	2
Désirée	0	0	1	0	0	0	0	0

D'après letableau08, nousremarquonsqueparmiles isolatsd'*A.alternata*, seul l'isolat AA5s'estmontré agressifenprovoquantdessymptômestypiquesdel'alternariose surla variétéSarpomira.Enrevanche,touslesisolatsd'*A.solani*ontattaquéla variétéSarpomira, avecdesdifférencesde degrésd'attaque ;seull'isolatAS3s'estmontréagressifsurlavariété Désirée.

De cesrésultats,nouspouvonsconclure quelavariétéSarpomiraestplussensibleà l'alternariose,etquelesisolatsAA5etAS3sontlesplusagressifsrespectivementpour *A.alternata*et*A. solani*.

IV.2. Effet antagoniste des isolats de*Trichoderma*sp.

Lesisolatsde*Trichoderma*utilisésontmontréunedifférencedansleurpouvoir d'inhiber lacroissancemycéliennedesisolatsd'*Alternaria* spp.Leurantagonismeapparaîtnettement dans les deuxtests de confrontation: directeet indirecte.

IV.2.1. Confrontation directe

IV.2.1.1. Inhibition de la croissance mycélienne

La confrontation directe des isolats de *Trichoderma* à l'égard des isolats AA5 d'*Alternaria alternata* et AS3 d'*A. solani*, a montré une croissance plus rapide et plus importante des isolats de *Trichoderma* par rapport aux isolats d'*Alternaria* spp. A la fin de quatre jours d'incubation, les boîtes sont presque totalement envahies par l'agent antagoniste contrairement à *Alternaria* spp. qui occupent une surface réduite (par rapport aux témoins) (Fig. 11 et 12).

Après 07 jours d'incubation, les diamètres des colonies des *Alternaria* spp. nous ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de chaque isolat (fig. 10).

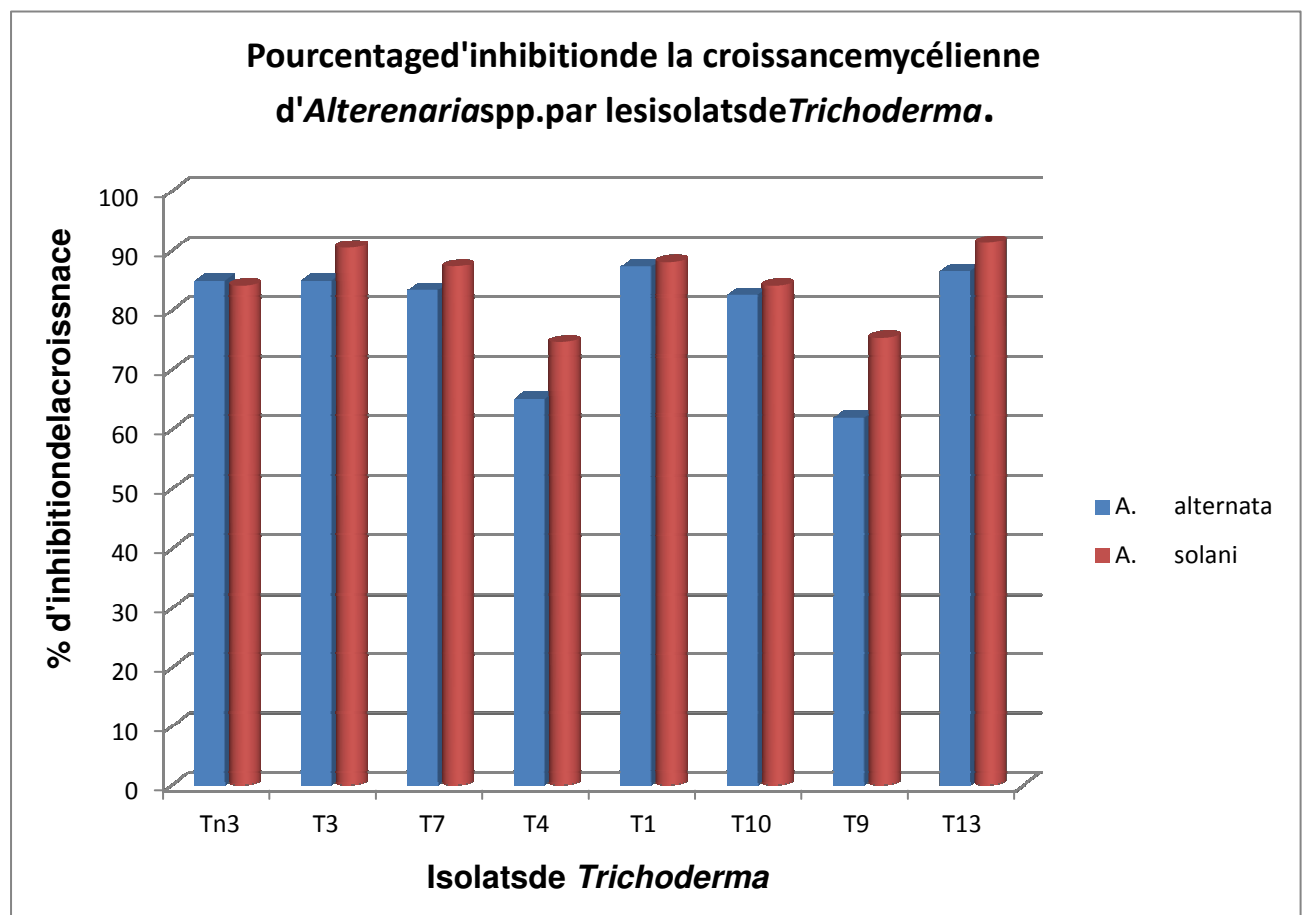


Fig. 10 : Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats d'*Alternaria* spp. confrontés aux isolats de *Trichoderma* spp. pour la confrontation directe.

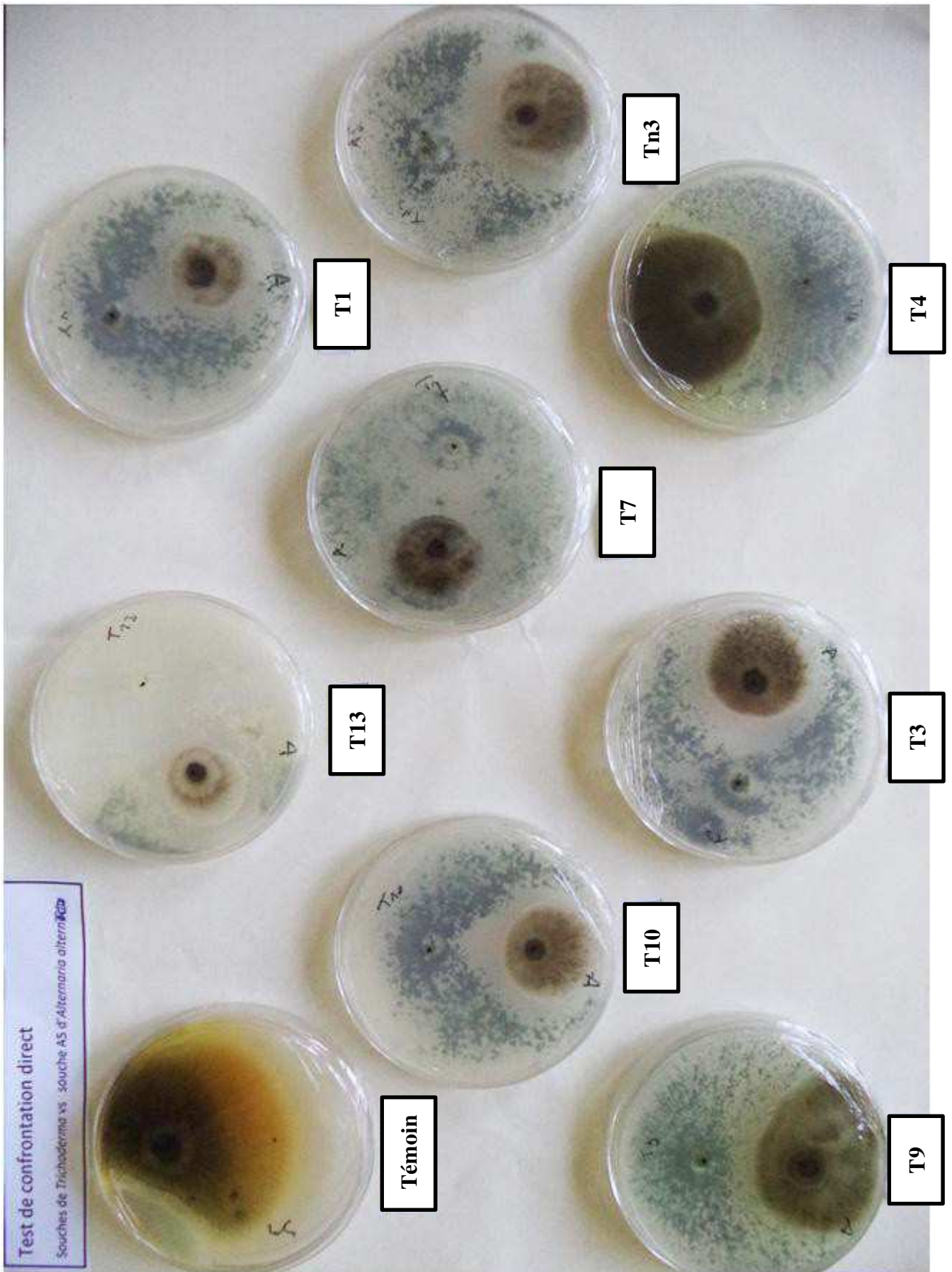


Fig.11 :Résultats de laconfrontation directe de *Trichoderma* avec *A. alternata*.

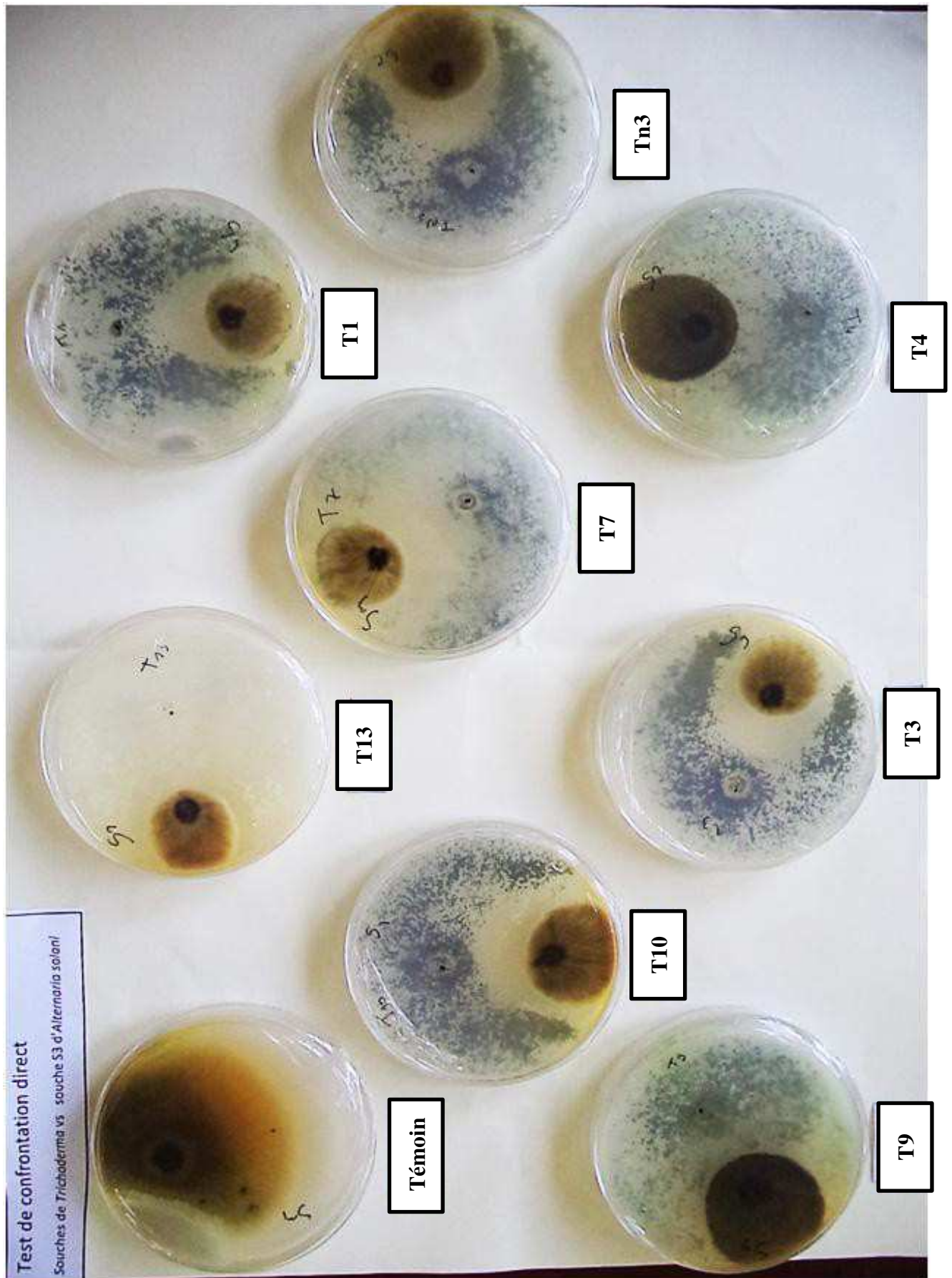


Fig. 12: Résultats de la confrontation directe de *Trichoderma* avec *A. solani*.

L'analyse de la variance du pourcentage d'inhibition des deux espèces d'*Alternaria*, a révélé l'existence d'une différence hautement significative ($P < 0.0005$) entre les isolats testés de *Trichoderma*.

Tableau09 : Analyse de la variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne pour la confrontation directe avec *A. alternata*.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	151928,4	1	151928,4	21440,13	0,000000
Souche de <i>Trichoderma</i>	2130,6	7	304,4	42,95	0,000000
Erreur	113,4	16	7,1		

Tableau10 : Analyse de la variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne pour la confrontation directe avec *A. solani*.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	171060,3	1	171060,3	40233,39	0,000000
Souche de <i>Trichoderma</i>	850,1	7	121,4	28,56	0,000000
Erreur	68,0	16	4,3		

Le test de Newman-Keuls à un seuil de 5% pour la confrontation directe d'*A. alternata*, (tabl.11), fait ressortir deux groupes homogènes avec un moyen de pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne qui varie de 61,9 % à 87,3 % :

Tableau11: Résultats du test de Newman et Keuls pour le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne pour la confrontation directe avec *A. alternata*

Cellule N°	Souche de <i>Trichoderma</i>	Moyen.	1	2
7	T9	61,90476		****
4	T4	65,07937		****
6	T10	82,53968	****	
3	T7	83,33333	****	
2	T3	84,92063	****	
1	Tn3	84,92063	****	
8	T13	86,50794	****	
5	T1	87,30159	****	

Le premier groupe comprend les deux isolats : T9 et T4, ayant montré un pourcentage d'inhibition de 61,9 % et 65 % successivement. Ces isolats sont pourvus du pouvoir d'inhibition le plus faible.

Le second groupe rassemble les autres isolats : T1, T3, T7, T10, T13 et Tn3, qui ont montré des pourcentages d'inhibition très proches variant de 83% à 87,3%. Ces isolats se caractérisent donc d'un pouvoir d'inhibition relativement élevé et sont considérés comme très antagonistes.

Concernant la confrontation avec *A. solani*, le test de Newman-Keuls à seuil de 5% fait ressortir quatre groupes homogènes où la moyenne du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne varie de 74,6 % à 91,2 % (tabl. 12):

Tableau 12: Résultats du test de Newman et Keuls pour le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne pour la confrontation directe avec *A. solani*

Cellule N°	Souche de <i>Trichoderma</i>	Moyen.	1	2	3
4	T4	74,60317			****
7	T9	75,39683			****
6	T10	84,12698	****		
1	Tn3	84,12698	****		
3	T7	87,30159	****	****	
5	T1	88,09524	****	****	
2	T3	90,47619		****	
8	T13	91,26984		****	

Le premier groupe comprend également les deux isolats : T9 et T4, avec un pourcentage d'inhibition de 74,6 % et 75,4% respectivement.

Le deuxième groupe est constitué par deux isolats : T10, Tn3, avec un même pourcentage d'inhibition de 84 %.

Le troisième groupe comprend les deux isolats : T7 et T1, avec un pourcentage d'inhibition de 87,3% et 88% respectivement. Ces deux derniers groupes se caractérisent par un pouvoir d'inhibition moyen.

Lequatrième groupe est représenté par les deux isolats T3 et T13 les plus antagonistes de la collection, qui ont montré le pourcentage d'inhibition le plus élevé, soit 90% et 91% respectivement.

IV.2.1.2. Sporulation sur le mycélium du pathogène

Parmi les actions des *Trichoderma* spp., des observations montrent une sporulation des isolats du champignon sur le mycélium des deux pathogènes *A. alternata* et *A. solani*, une semaine après incubation.

Nous avons noté que la majorité des isolats du *Trichoderma* ont sporulé sur le mycélium des deux espèces d'*Alternaria*, sauf T9 et T4 (fig.13). Cela confirme le faible pouvoir antagoniste de ces derniers isolats et prouve l'activité antagoniste des autres.



Fig. 13 : Représentation des isolats sporulant et non sporulant du *Trichoderma* sur le mycélium d'*Alternaria* spp.

IV.2. Confrontation indirecte

Ce mode d'action met en évidence l'effet fongistatique de substances antifongiques volatiles émises par les isolats de *Trichoderma* à l'égard des isolats d'*A. alternata* (AA5) et *A. solani* (AS3). Après 07 jours d'incubation, les résultats obtenus montrent l'existence d'une réduction significative de la croissance mycélienne des isolats AA5 et AS3 par rapport au témoin (Fig. 15 et 16).

Les diamètres de colonies des *Alternaria* spp. obtenus, nous ont permis de calculer les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne de chaque isolat (fig. 14).

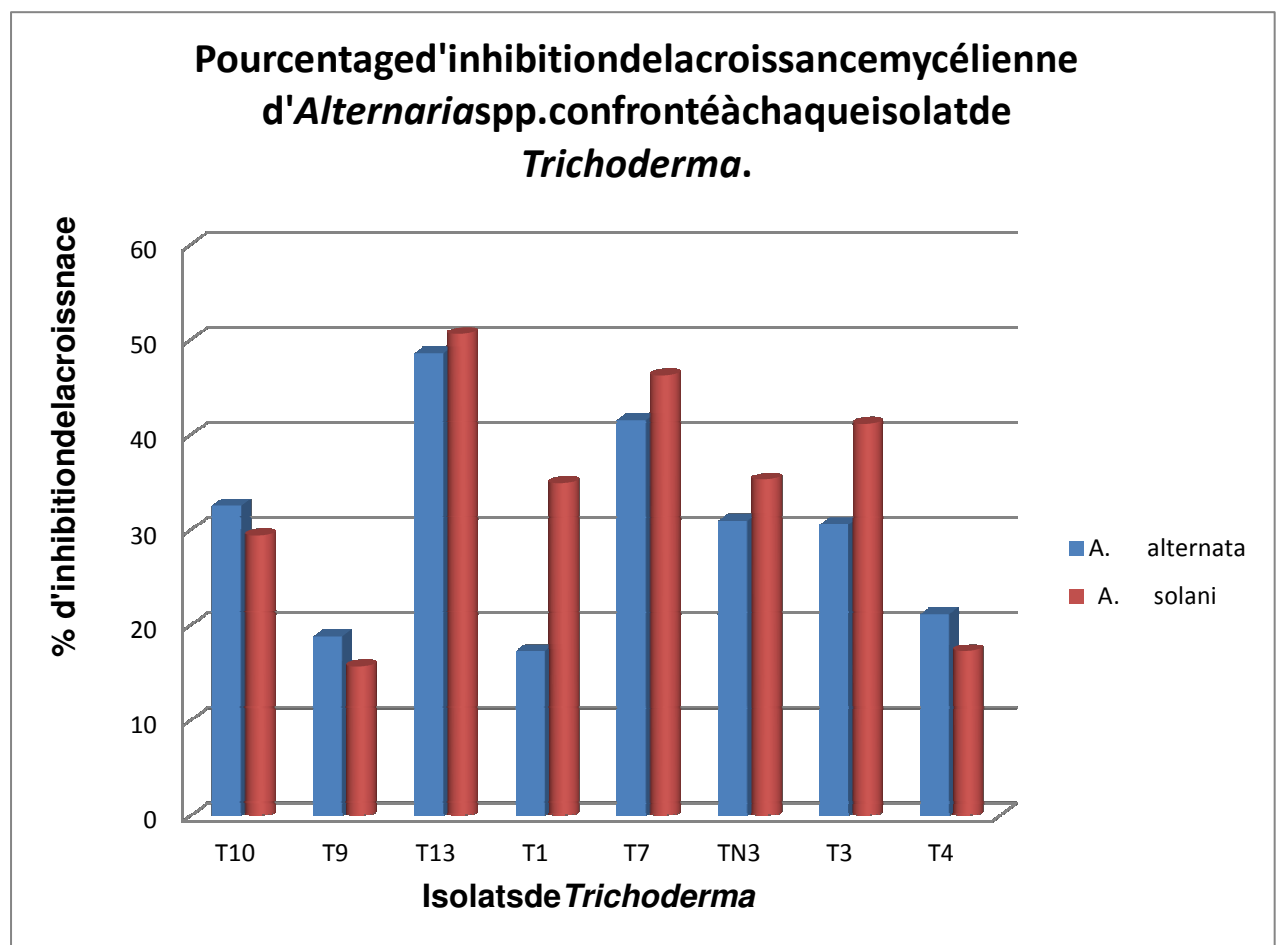


Fig. 14 : Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d'*Alternaria* spp. par la confrontation indirecte avec les isolats de *Trichoderma*.

L'analyse de variance du pourcentage d'inhibition des deux espèces d'*Alternaria*, révèle l'existence d'une différence hautement significative ($P < 0.0005$) entre les isolats de *Trichoderma* testés.

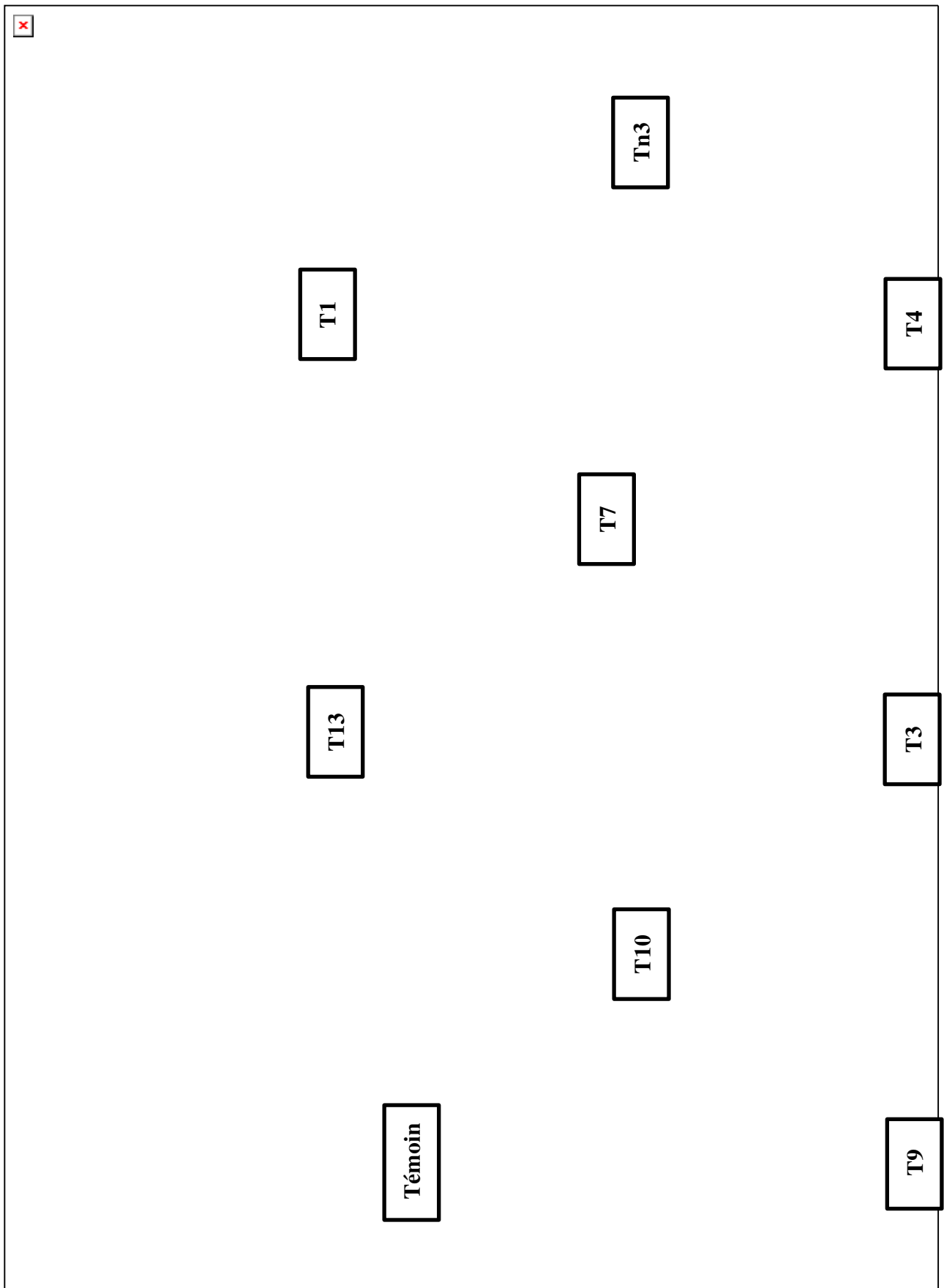


Fig. 15 :Résultats de laconfrontationindirectede *Trichoderma* avec*A. alternata*.

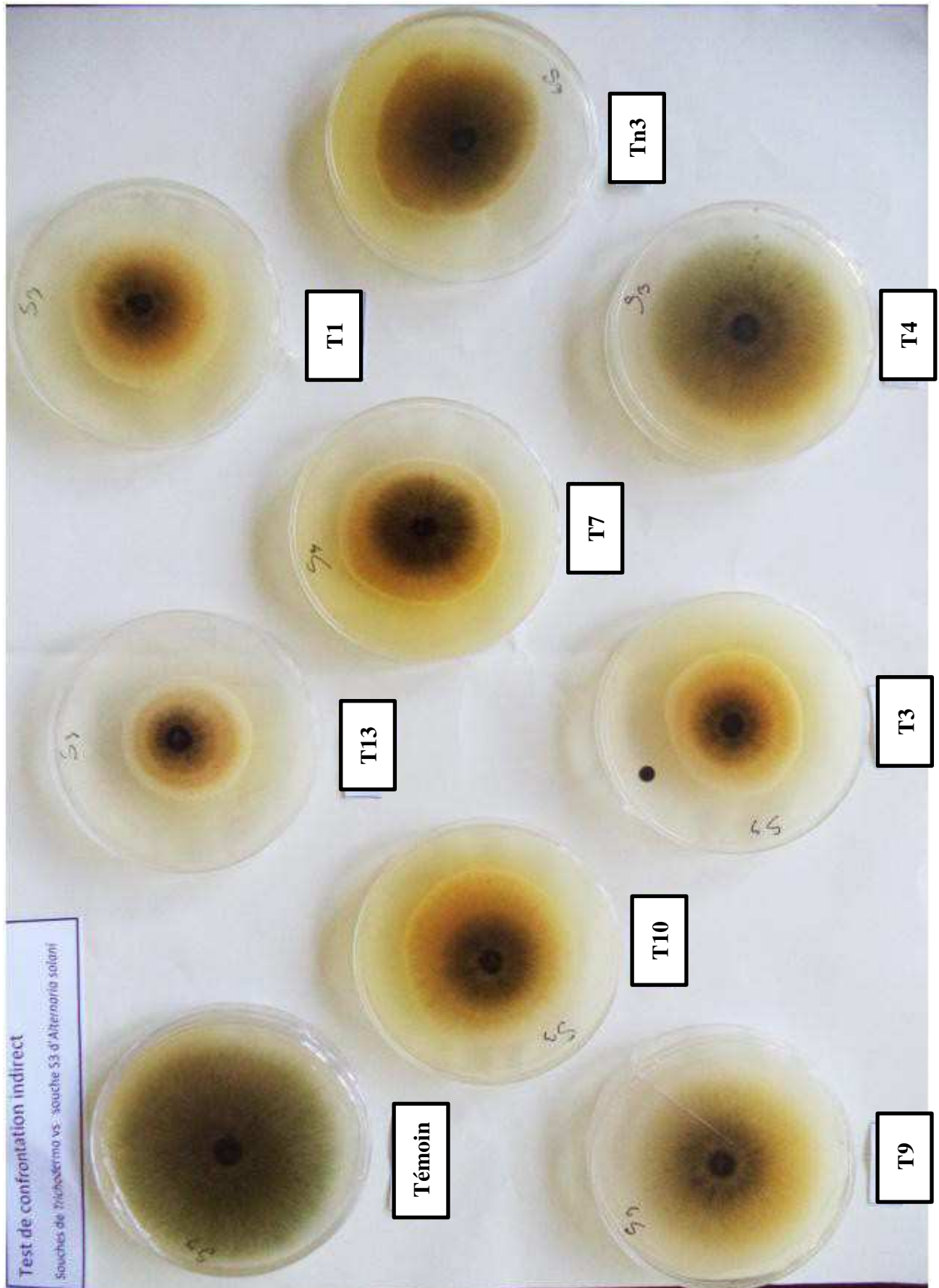


Fig. 16 :Résultats de laconfrontationindirectede *Trichoderma* avec*A. solani*.

Tableau13 :Analysedelavariancedupourcentage d'inhibitiondelacroissancemycélienne par confrontation indirecte avec*A. alternata*.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	21883,28	1	21883,28	329,6751	0,000000
Souche de <i>Trichoderma</i>	2560,55	7	365,79	5,5107	0,002285
Erreur	1062,05	16	66,38		

Tableau14:Analysedelavariancedupourcentage d'inhibitiondelacroissancemycélienne par confrontation indirecte avec*A. solani*.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	27456,75	1	27456,75	1307,967	0,000000
Souche de <i>Trichoderma</i>	3349,25	7	478,46	22,793	0,000000
Erreur	335,87	16	20,99		

Le testde Newman-Keuls auseuilde 5% pourla confrontationindirected'*A.alternata*, (tabl.15),faitressortirtroisgroupeshomogènesoùlamoyennedupourcentage d'inhibition dela croissancemycéliennevariede17,2 %à48,6 %:

Tableau15:RésultatsdutesstdeNewmanetKeulspourlepourcentage d'inhibitiondela croissancemycéliennepour la confrontationindirecte d'*A. alternata*.

Cellule N°	Souche de <i>Trichoderma</i>	Moyen.	1	2
5	T1	17,25490	****	
7	T9	18,82353	****	
4	T4	21,17647	****	
2	T3	30,58824	****	****
1	Tn3	30,98039	****	****
6	T10	32,54902	****	****
3	T7	41,56863		****
8	T13	48,62745		****

Le premier groupe comprend les trois isolats : T1, T9 et T4, qui montrent un pourcentage d'inhibition de 17,2 % à 21%, soit un pouvoir d'inhibition très faible.

Le second groupe est représenté par les isolats : T3, Tn3 et T10, qui ont montré des pourcentages d'inhibition très proches variant de 31,5% à 32,5% ; ces isolats sont donc pourvus d'un pouvoir d'inhibition relativement moyen.

Le troisième groupe comprend les deux isolats : T7 et T13, avec un pourcentage d'inhibition de 41,5% et 48,6% respectivement. Elles montrent le pourcentage d'inhibition le plus élevé et sont considérées comme ayant les activités antagonistes à distance les plus importantes.

Concernant la confrontation indirecte avec *A.solani*, le test de Newman-Keuls à un seuil de 5% fait ressortir cinq groupes homogènes où la moyenne du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne varie de 74,6% à 91,2% (tabl.16):

Tableau 16: Test de Newman et Keuls du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne pour la confrontation indirecte avec *A.solani*.

Cellule N°	Souche de <i>Trichoderma</i>	Moyen.	1	2	3	4
7	T9	15,68627				****
4	T4	17,25490				****
6	T10	29,41176	****			
5	T1	34,90196	****	****		
1	Tn3	35,29412	****	****		
2	T3	41,17647		****	****	
3	T7	46,27451			****	
8	T13	50,58824			****	

Le premier groupe comprend toujours les deux isolats : T9 et T4, avec un pourcentage d'inhibition de 15,7% et 17,2% respectivement. Cela confirme encore que ces deux isolats ont le pouvoir d'inhibition le plus faible.

Le deuxième groupe est représenté par un seul isolat: T10, avec un pourcentage d'inhibition de 29,4%.

Le troisième groupe est constitué par les deux isolats : T1 et Tn3, avec un pourcentage d'inhibition de 34,9% et 35,3% respectivement. Ces deux derniers groupes se caractérisent par un pouvoir d'inhibition moyen.

Lequatrième groupe comprend un seul isolat: T3, avecun pourcentage d'inhibition relativement élevée de 41,2 %.

Le cinquième groupe comporte les deux isolats: T7 et T13, montrant les pourcentages d'inhibition les plus élevés de 46% et 50% respectivement. Avec T3, ces derniers isolats peuvent être considérés comme les isolats ayant l'activité antagoniste la plus élevée.

Discussion :

Des souches du genre *Trichoderma* sont reconnues depuis longtemps pour leur capacité élevée à agir tant qu'agents de lutte biologique contre beaucoup d'agents pathogènes des plantes. Des recherches multiples ont décrit leur mécanisme d'action et les modalités de l'utilisation en protection des cultures (Harman, 2006).

Ghildyalet Pandey (2008) ont estimé que *Trichoderma* spp. produisent des métabolites diffusibles et volatils. Cette production d'antibiotiques volatiles et non volatiles par les espèces de *Trichoderma* a été également signalée par Dennis et Webster (1971, in Ubalua et Oti, 2007).

Les tests de confrontation réalisés entre des isolats de *Trichoderma* sp. et des isolats d'*Alternaria alternata* et l'isolat AS3 d'*A. solani*, montre une activité antifongique remarquable ; elles ont réduit fortement leur développement. Les isolats de *Trichoderma* se développent plus rapidement que ceux d'*A. alternata* et *A. solani*, en confrontation directe et indirecte. Le développement intensif de *Trichoderma* lui donne un avantage important lors de concurrence avec les agents pathogènes pour les éléments nutritifs et l'espace (Barbosa, Rehm et al., 2001)

Le contact entre les deux champignons, en confrontation directe, commence dès la troisième journée. Puis, la croissance mycélienne des deux pathogènes stagne, et *Trichoderma* continue à se développer et à se propager. Selon Almeida et al. (2007), l'inhibition de l'agent pathogène dans les cultures doubles commence peu après le contact avec l'antagoniste.

Dans la présente étude, nous constatons que la majorité des isolats de *Trichoderma* (6/8) se développent et sporulent également sur les hyphes des deux espèces d'*Alternaria*

(fig.14) ; c'est le signal du mycoparasitisme. Selon Harman, 1996, Les *Trichoderma* spp. se développent sur les hyphes d'autres champignons, entourant leur hyphes et dégradent leur paroi cellulaire. Cette action du parasitisme limite le développement et l'activité des champignons pathogènes. En outre de mycoparasitisme, certaines espèces de *Trichoderma* libèrent des substances antibiotiques (Harman, 1996).

Lors de confrontation indirecte, les agents pathogènes montrent un développement plus important que celui par contact. Mais, après le quatrième jour, où la majorité des isolats de *Trichoderma* arrivent à un envahissement complet de la boîte de Pétri, la vitesse de croissance du pathogène diminue jusqu'à un arrêt total du développement. Cette inhibition est essentiellement due aux substances volatiles émises par les isolats de *Trichoderma* comme rapporté par Küçük et Kivanc (2003). La variabilité de cet effet antagoniste d'un isolat à un autre s'expliquerait par une diversité des isolats testés, et une différence de la nature biochimique des substances antibiotiques élaborées (Ghildyal et Pandey, 2008).

Nous signalons que lors des deux tests (action directe et indirecte), une décoloration des colonies d'*A. alternata* et d'*A. solani* a été observée, ce qui a entraîné l'absence de sporulation. Une étude effectuée par Changet al. (2008), a montré que la germination des conidies d'*A. alternata* a été fortement réprimée par la chitinase des *Trichoderma* spp. pendant huit heures, entraînant l'inhibition complète de germination, et des anomalies des tubes germinatifs.

Dans notre cas, en comparaison des isolats testés, nous remarquons bien que les isolats appartenant à l'espèce *T. atroviride* (T3, T7, Tn3 et T13) ont montré un pouvoir antagoniste nettement plus élevé par rapport aux isolats appartenant à l'espèce *T. longibrachiatum* (T1, T4, T9 et T10)

En particulier, les deux isolats T4 et T9 se sont montrés les moins compétitifs avec une vitesse de croissance mycélienne la plus faible et une incapacité de sporuler sur le mycélium du pathogène en contact direct. Elles sont dépourvues aussi de métabolites toxiques agissant à distance.

En revanche, l'isolat T13, appartenant à l'espèce *T. atroviride*, a montré une très bonne efficacité antagoniste avec une vitesse de croissance la plus compétitive. Sa capacité de sporuler sur le mycélium des espèces d'*Alternaria*, est une preuve de son pouvoir

mycoparasite, et la production de substances volatiles fongistatiques, confirmant donc son activité antagoniste très élevée.

Nous soulignons les travaux de Boureghda, 2009, Dane 2012 et Abdallah, 2013 qui ont montré que les isolats appartenant à l'espèce *T. atroviride*, en particulier l'isolat T13, avaient une grande activité antagoniste à l'égard des *Fusarium* spp et *Botrytis cineria*. ce qui confirme les résultats obtenus dans notre étude, et indique que le même effet antagoniste, en contact et à distance, de ces isolats peut être appliqué à d'autres pathogènes.

IV.3. Etudedu pouvoirantifongiquedes extraits végétaux

IV.3.1. Test*in vitro*

Lesextraitsdeplantestestéspourleurpouvoirantifongiqueàl'égardd'*A.alternata*et *A. solani* ont donné des effets très différents(fig.18, 19).

Aprèsunesemained'incubation, lesdiamètresdescoloniesdes*Alternariaspp.*nousa permisde calculer le pourcentage d'inhibitionde la croissance mycéliennepar chaque extrait (fig.17);lestraitementsd'*Alliumsativum*(C₀)etd'*Inulaviscosa*(dilutionde1/10)sont éliminés à cause de fortecontamination.

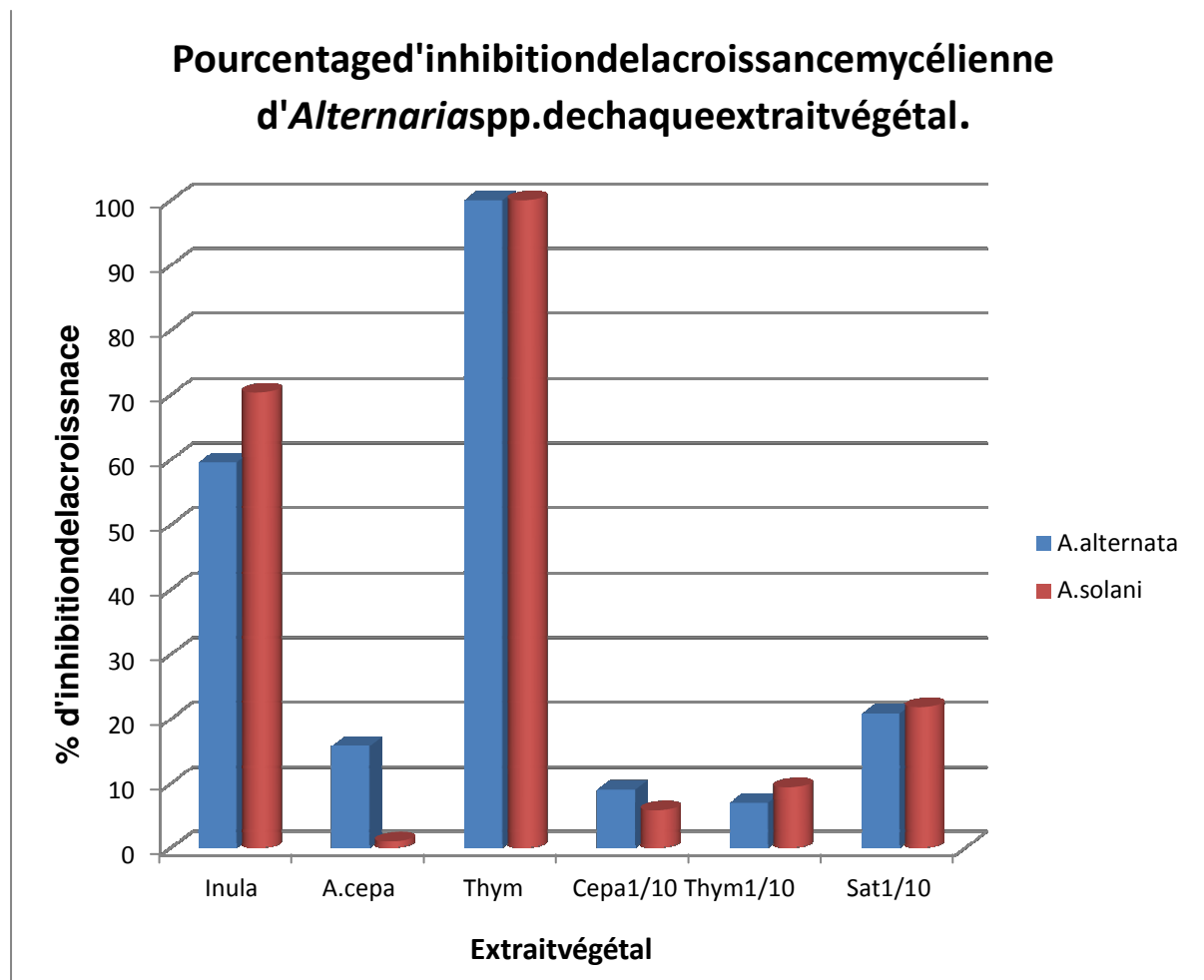
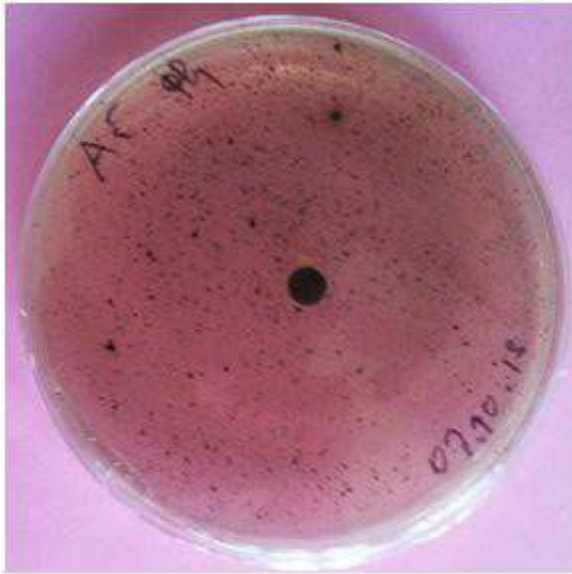
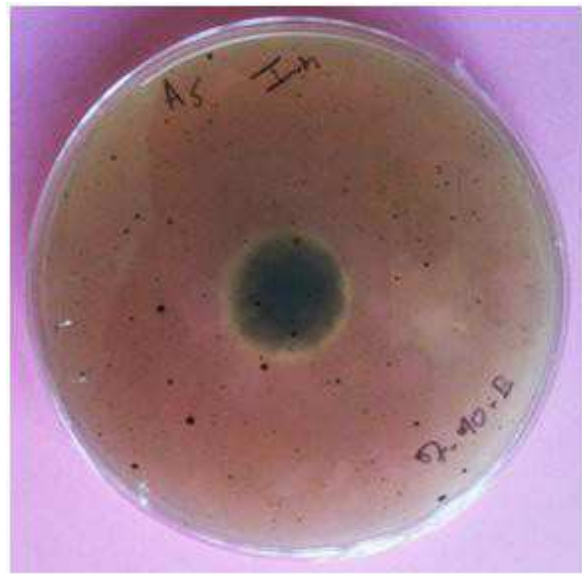


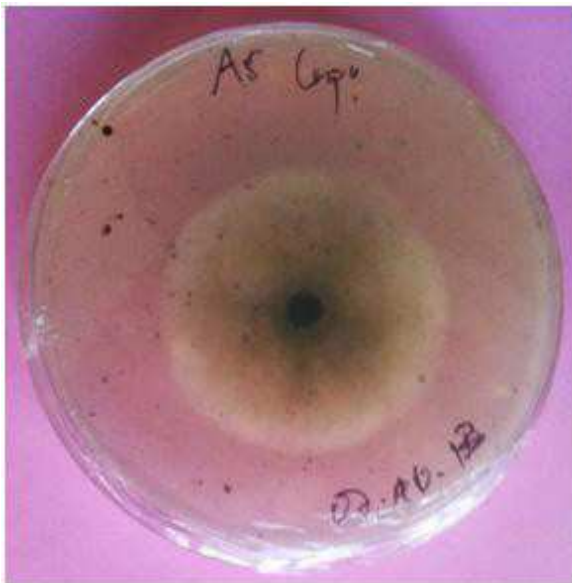
Fig. 17: Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d'*Alterenaria* spp. de chaque extrait végétal.



Thymus sp.



Inula viscosa

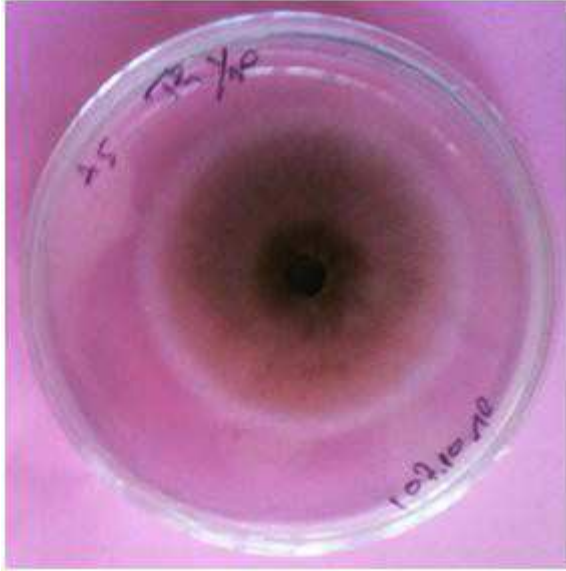


Allium cepa

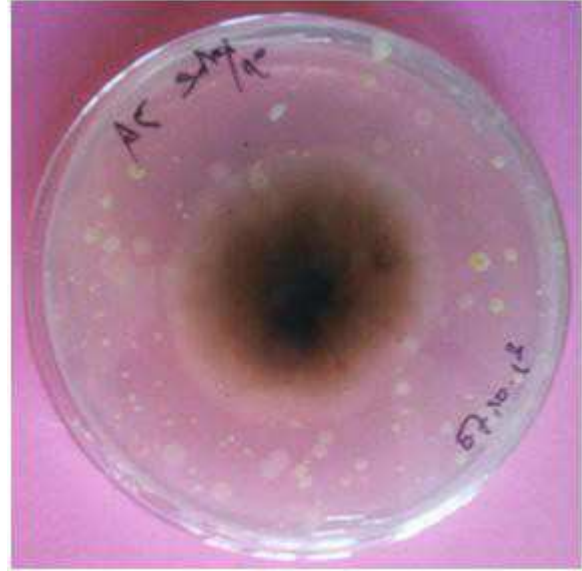


Temoin

Fig. 18,a: Résultats de traitements non dilués des extraits végétaux sur la croissance mycélienne d'*A. alternata*.



Thymussp.



Allium sativum

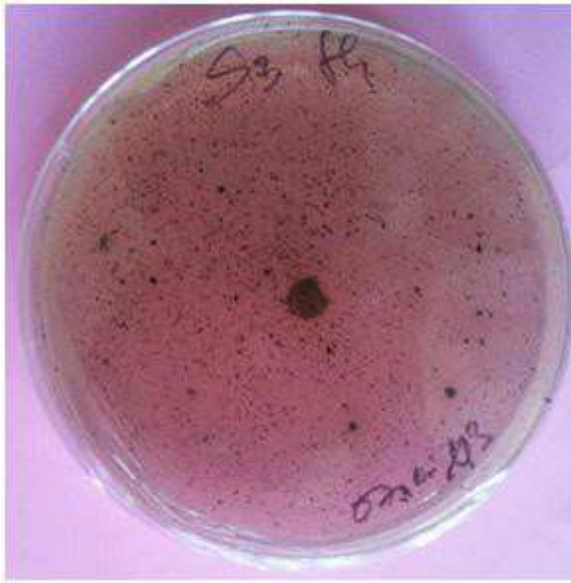


Alliumcepa



Temoin

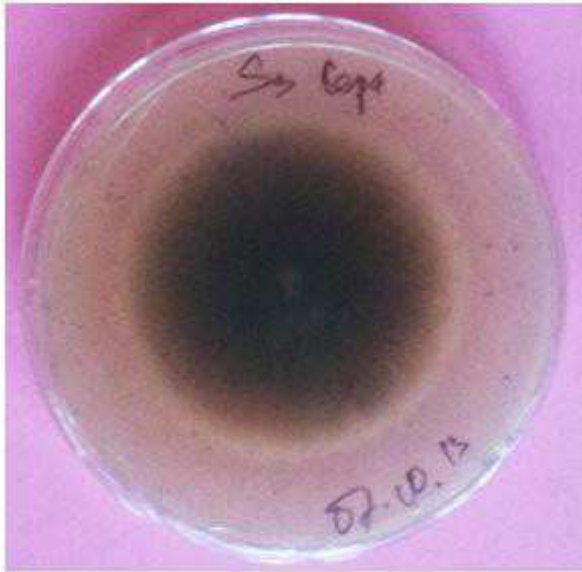
Fig. 18, b: Résultats des traitements dilués des extraits végétaux sur la croissance mycélienne d'*A. alternata*.



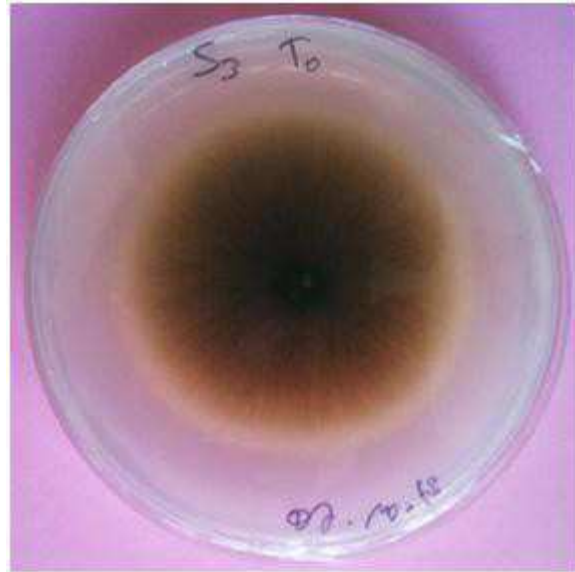
*Thymus*sp.



Inula viscosa



Alliumcepa



Temoin

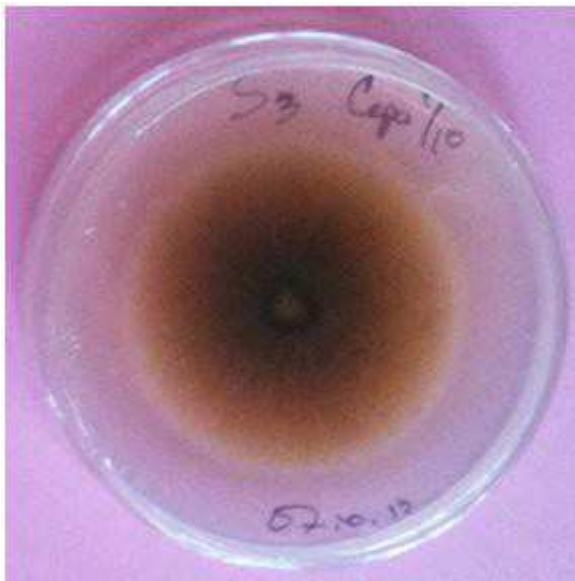
Fig. 19, a : Les résultats des traitements non dilués des extraits végétaux sur la croissance mycélienne d'*A. solani*.



Thymus sp.



Allium sativum



Allium cepa



Temoin

Fig.19,b: Résultats de traitements dilués des extraits végétaux sur la croissance mycélienne d'*A. solani*.

L'analyse de variance du pourcentage d'inhibition des deux espèces d'*Alternaria*, révèle l'existence d'une différence significative ($P < 0.005$) entre les extraits des plantes testés.

Tableau 17 : Analyse de la variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d'*A. alternata* par les extraits végétaux.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	37615,30	1	37615,30	6527,230	0,00
l'extrait végétal	34237,34	5	6847,47	1188,213	0,00
Erreur	138,31	24	5,76		

Tableau 18 : Analyse de la variance du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d'*A. solani* par les extraits végétaux.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	36244,42	1	36244,42	882,6162	0,00
l'extrait végétal	41512,14	5	8302,43	202,1789	0,00
Erreur	985,55	24	41,06		

Le test de Newman-Keuls à un seuil de 5% pour la comparaison des moyennes (tabl. 19 ; 40), révèle cinq groupes homogènes pour *A. alternata* et quatre pour *A. solani* où la moyenne du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne varie de 01 % à 100% :

Tableau 19 : Résultats du test de Newman et Keuls pour le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d'*A. alternata* par les extraits végétaux.

Cellule N°	extrait végétal	Moyen.	1	2	3	4	5
5	<i>Tymus</i> (dilution)	7,0707	****				
4	<i>A. cepa</i> (dilution)	9,0909	****				
2	<i>A. cepa</i> (C ⁰)	15,8249		****			
6	<i>A. sativum</i> (dilution)	20,8754			****		
1	<i>Inula</i> (C ⁰)	59,5960				****	
3	<i>Tymus</i> (C ⁰)	100,0000					****

Tableau20: TestdeNewmanetKeulspourlepourcentage d'inhibitiondelacroissance mycélienned'*A. solani*par les extraits végétaux.

Cellule N°	extrait végétal	Moyen.	1	2	3	4
2	<i>A. cepa</i> (C ⁰)	1,0586	****			
4	<i>A. cepa</i> (dilution)	5,8632	****			
5	<i>Thymus</i> (dilution)	9,4463	****			
6	<i>A. sativum</i> (dilution)	21,8241		****		
1	<i>Inula</i> (C ⁰)	70,3583			****	
3	<i>Thymus</i> (C ⁰)	100,0000				****

Lesdeux tableauxci-dessus(Tabl.15,16)présententsensiblementlesmême résultats, seuleletraitement*A. cepa*(C₀)seretrouvedansungroupe àpartdanstableau15.Cependant, on distinguequatregroupes différents:

Le premiergroupecomporte les traitements*A. cepa*(C₀),*A. cepa*(dilution) et*Thymus* sp. (dilution) avecdes pourcentagesd'inhibitiontrès faibles, soitinférieur à10 %.

Le deuxièmegroupecomporte le traitement*A. sativum*avecunpourcentage d'inhibition de21%pourles deuxespèces.

Le troisièmegroupe comprend le traitement à l'*Inula* (C₀), qui a inhibé 60% de la croissance mycélienne d'*A. alternata*et70%d'*A. solani*.C'estuneinhibitionconsidérée comme élevée.

Le derniergroupeconcernele traitement*Thymus*sp.(C₀) ayantuneinhibitionmaximale de100 %!.

Discussion :

Cettepartiedenotreétude,nousapermisd'évaluerl'activitéantifongique,*invitro*,des extraitsdequatreespècesdeplantescontrelesdeuxagentsresponsablesdel'alternariosede la pomme deterre et tomate : *A. solani*et *A. alternata*.

D'une manière générale, l'effet des différents traitements sur les deux pathogènes est comparable, ce qui nous permet de penser que l'effet des extraits des plantes testées soit efficace sur les deux espèces d'*Alternaria*, et même pour plusieurs autres espèces fongiques. Cette hypothèse est renforcée par les travaux réalisés par ailleurs comme ceux de Benchabane et al. en 2013 et Feng W. et al. en 2011 sur *Thymus* sp., et Latha P. et al. en 2009 sur l'effet des extraits des *Allium* sp.

La comparaison entre l'effet de l'extrait brut (C_0) et la dilution de chaque traitement indique la présence d'un gradient d'action selon la dose. Ceci est déduit lors de plusieurs travaux antérieurs (Abd-El-Khair et Haggag, 2007 ; Farcasanu et Oprea, 2006). Ce gradient diffère d'un traitement à un autre, car la concentration (C_0) de *Thymus* sp. a donné une inhibition de 100%, alors que la dilution est presque sans effet. Ainsi, les dilutions d'*Inula* et d'*A. sativum* ont montré un effet moyen, mais nettement supérieur à celui de l'extrait du thym dilué, mais leurs concentrations initiales ont donné des effets inférieurs par rapport à celle de l'extrait du thym. Nous pouvons conclure que les substances employées et leurs modes d'action diffèrent d'une plante à une autre (Stevens et al, 1997; Taylore et al, 2003; Üргеova et Polivka, 2009).

En particulier, la concentration (C_0) de *Thymus* sp. a donné une inhibition de 100%, ce qui confirme son pouvoir antifongique total et corrobore les travaux de Benchabane et al. (2013) et Feng et al. (2011).

Par contre, la concentration (C_0) de l'extrait d'*Allium Cepa* et sa dilution n'ont montré aucun effet sur la croissance mycélienne des espèces d'*Alternaria*, révélant l'absence totale d'effet antifongique à l'égard des *Alternaria* spp pour cette plante. Toutefois, Shinkafiet Dauda (2013) ont étudié l'activité antimicrobienne de cette espèce, et ont montré son effet antistatique, *in vitro*, sur une large gamme d'espèces procaryotes: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, et *Streptococcus pneumonia*.

En revanche, la dilution de l'extrait d'*A. sativum* fait preuve de l'effet le plus élevé des dilutions. Ceci indique que son effet persiste même avec de petites dilutions. Ce résultat est constaté dans d'autres travaux (Sivagami, 2003 et Abdurahman et al. 2005).

IV.3.2. Essai *in vivo* :

Deux notations évaluant l'agressivité de la maladie dans les deux essais, d'*A.alternata* et d'*A.solani*, sont réalisées: la première faite à 10 jours après l'apparition des premiers symptômes le 12 Novembre 2013, soit 18 jours après l'inoculation et la deuxième à un mois de l'apparition des premiers symptômes.

Il est à noter que les plants inoculés par l'isolat AA5 d'*A.alternata* n'ont montré aucun symptôme à la première notation, et un niveau d'attaque très faible pour la deuxième (fig. 21).

En revanche, les plants inoculés par l'isolat d'*A.solani* AS3 ont extériorisé les symptômes typiques d'alternariose, surtout au niveau des feuilles basales (fig. 22 ; 23).

Les pourcentages d'attaque moyennes de chaque traitement pour le test d'*A.solani*, estimés sur l'échelle de notation de 1 à 9 (figure 20).

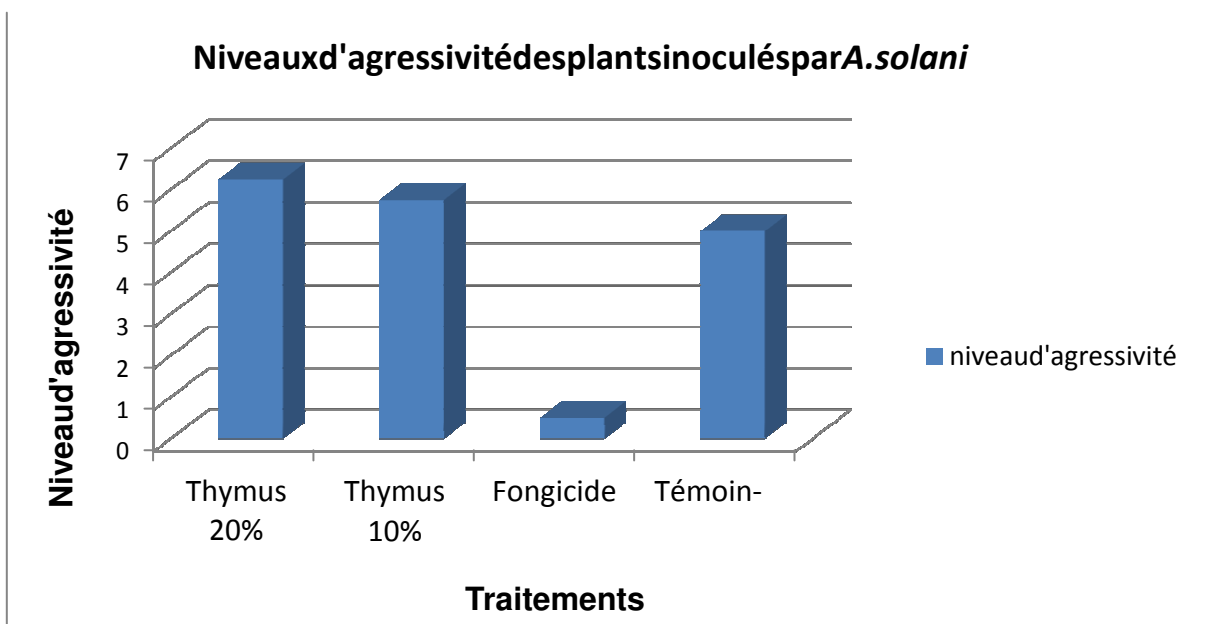


Fig.20 : Histogramme représentant les valeurs estimées des pourcentages d'attaques moyennes de chaque traitement

Deux types de comportement peuvent être distingués:

Le premier constitue le fongicide, où les plants sont très peu attaqués, il constitue un très bon témoin positif.

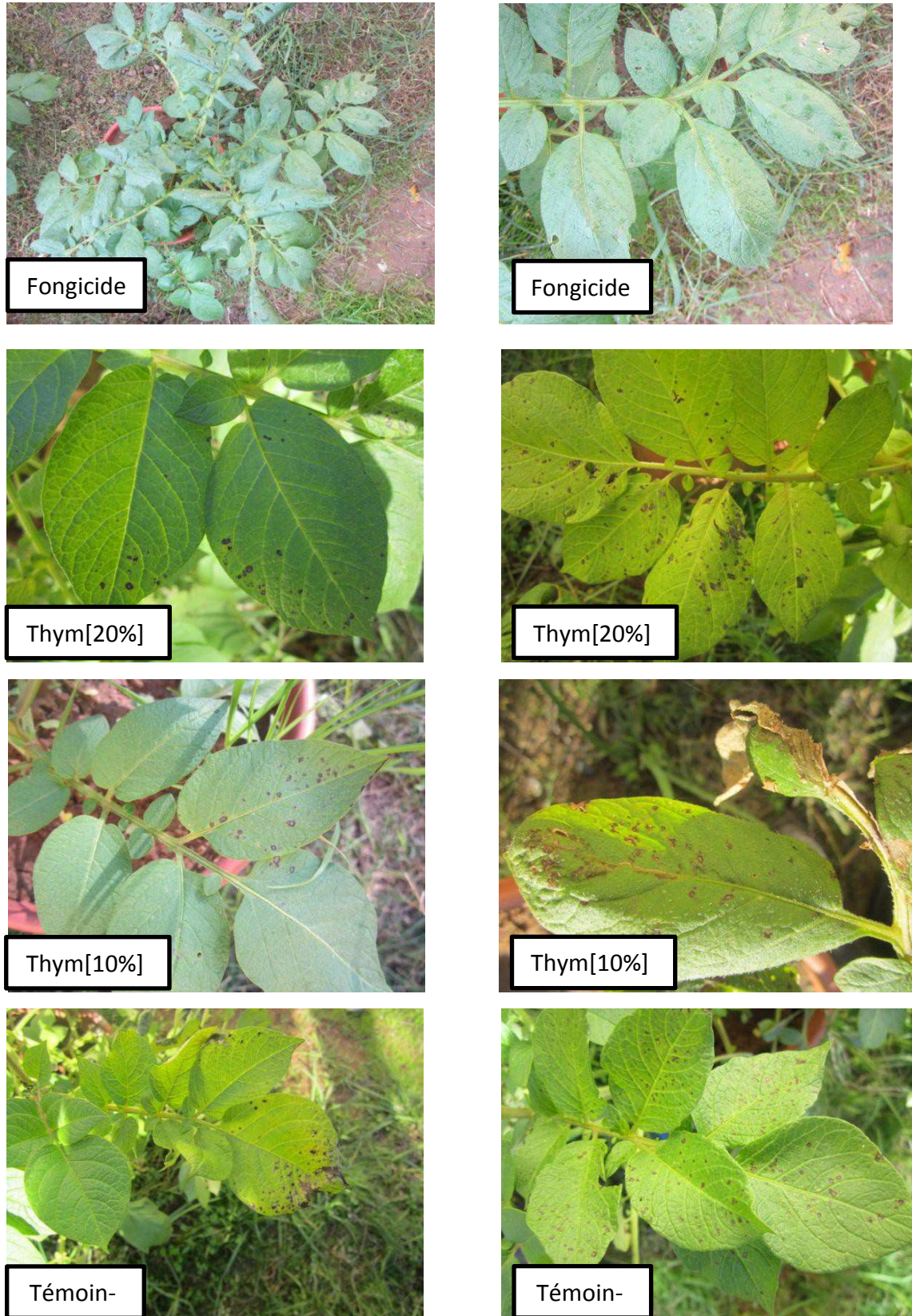


Fig. 21:Niveau d'attaques des plants après un mois d'inoculation par *A. alternata*

- Traitement fongicide : aucun tache.
- Les autres traitements (extrait du thym et témoin-) : faible attaque.



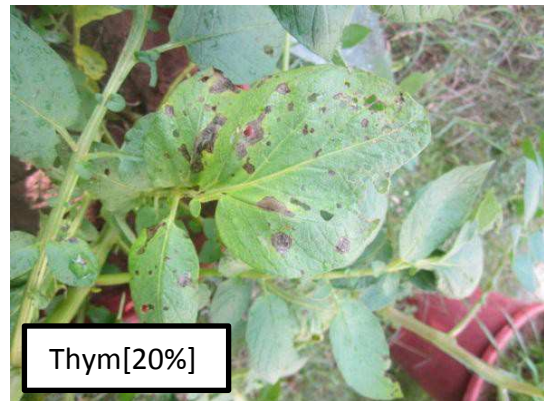
Fongicide



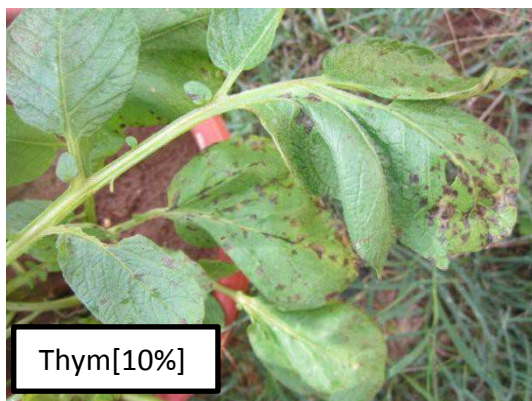
Fongicide



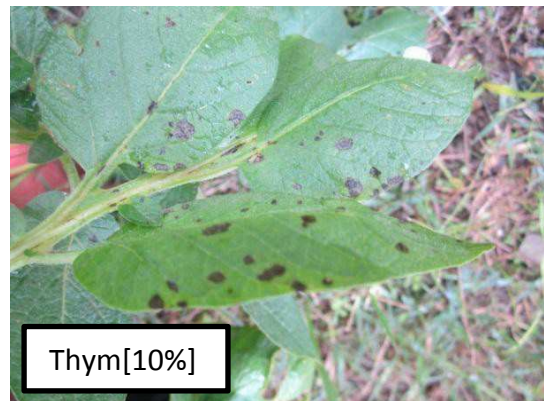
Thym[20%]



Thym[20%]



Thym[10%]



Thym[10%]



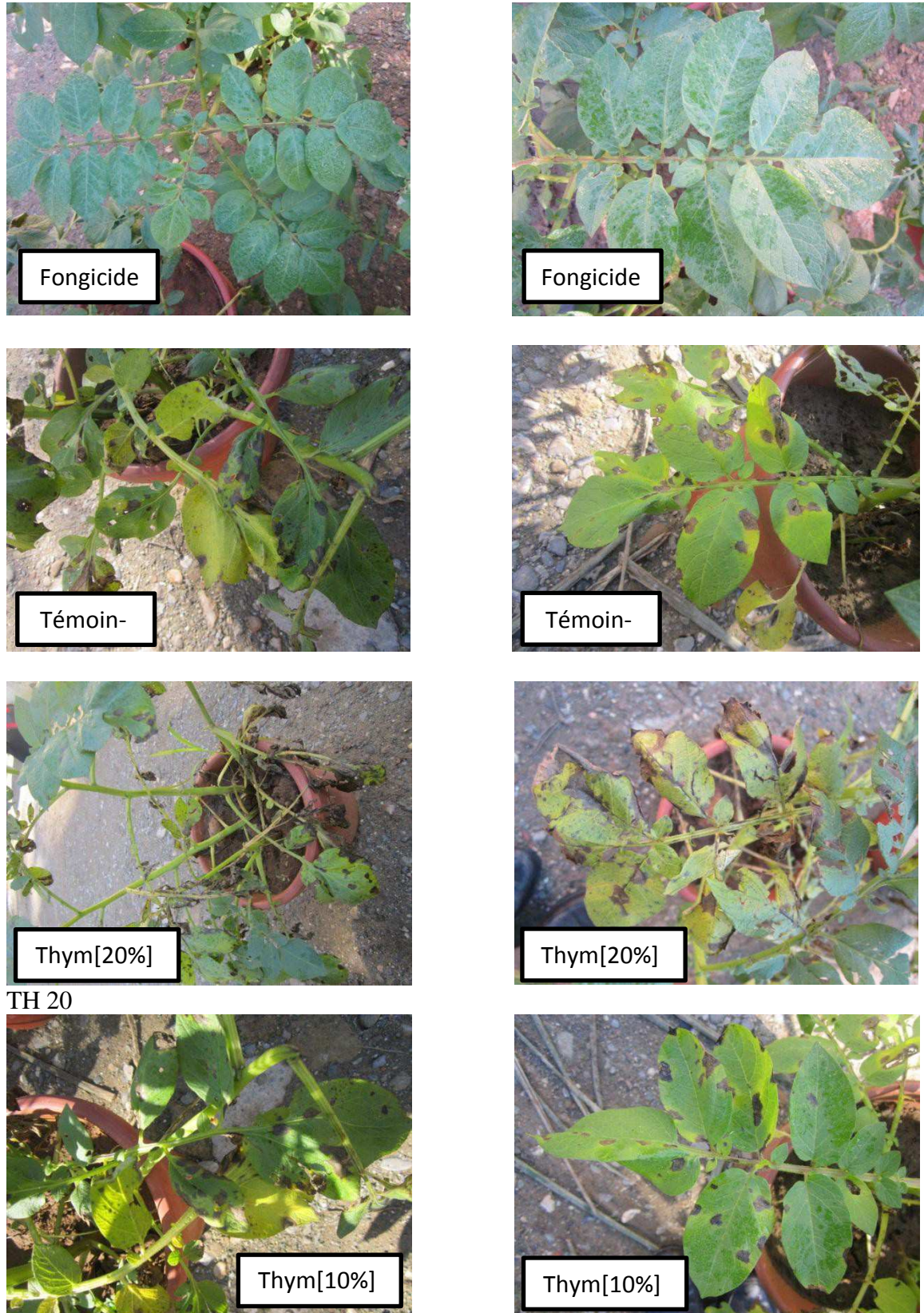
Témoin-



Témoin-

Fig. 22: Niveau d'attaques des plants après 10 jours d'inoculation par *A. solani*;

- Traitement fongicide : aucun tache.
- Les autres traitements (extrait du thym et témoin-) : début d'attaque.



TH 20

Fig. 23 : Niveau d'attaques des plants après 22 jours de la première apparition des symptômes d'*A. solani*;

- Traitement fongicide : aucun tache.
- Les autres traitements (extrait du thym et témoin-) : sévèrement attequés.

Le deuxième constitué par extraits où les plants ont été attaqués sous à une agressivité relativement élevée; ce qui dénote d'un nul effet de l'extrait du thym.

L'analyse de la variance pour les pourcentages d'attaque, a révélé l'existence d'une différence hautement significative ($P < 0.0005$) entre les deux types de traitements réalisés (fongicide et extraits).

Tableau 21: Analyse de variances de la valeur estimée des pourcentages d'attaque *in vivo*.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	306,2500	1	306,2500	432,3529	0,000000
Ttraitement	83,2500	3	27,7500	39,1765	0,000002
Erreur	8,5000	12	0,7083		

Le test de Newman-Keuls à une seuil de 5% pour la comparaison des moyennes (tabl.22), distingue deux groupes homogènes uniquement où la moyenne de la valeur estimée des pourcentages d'attaque varie entre 0,5 et 6,2.

Tableau 22: Résultats du test de Newman et Keuls pour la valeur estimée des pourcentages d'attaque *in vivo*.

Cellule N°	Traitement	Moyen.	1	2
3	Fongicide	0,500000		****
4	Témoin -	5,000000	****	
2	Thymus 10%	5,750000	****	
1	Thymus 20%	6,250000	****	

Cette analyse statistique classée dans le même groupe les traitements à l'extrait du thym et le témoin négatif (eau distillée). Cela signifie que ces traitements n'ont aucune effet sur le pathogène. Comparés aux plants traités par le fongicide, qui ont été légèrement attaqués, l'action antifongique de l'extrait dans ces conditions du test est totalement nulle.

Discussion

Le niveau d'attaque très faible représenté par les plants inoculés par *A. alternanans* empêche de discuter sur les effets des traitements réalisés *in vivo*.

A une concentration de 5%, l'extrait de thym montre une action antifongique élevée à l'égard des *Alternaria* spp., en inhibant complètement leurs développements sur le milieu de culture. En revanche, ce même extrait n'exhibe aucun effet à la concentration de 0,5%, ce qui prouve que l'effet recherché est en relation étroite avec la dose.

Cependant, les plants inoculés par *A. solani* et non traités par le fongicide sont sévèrement attaqués par l'alternariose. On ne constate aucune différence entre les plants traités par l'extrait de thym et le témoin; l'effet antifongique de cet extrait est nul en condition *in vivo*.

La controverse de l'effet de l'extrait de thym observée entre les deux tests *in vitro* et *in vivo*, s'explique soit par :

- l'intervalle entre le traitement et l'inoculation qui est inadéquate ;
- Ou, ce sont les doses utilisées *in vivo* (20% et 10%) qui sont insuffisantes pour agir sur les spores d'*Alternaria* et le développement de leurs mycéliums;
- Ou bien, ce n'est pas la dose, mais c'est la formule employée (l'extrait brut et de l'eau distillée), car il se peut que l'extrait soit lessivé par l'eau de l'arrosage: la solution ne contient aucun moyen permettant la bonne adhésion à la surface des plants. Il est indispensable donc de penser à la formulation quand on essaye, dans les conditions du champ, les extraits végétaux pour leurs effets contre les agents pathogènes.

V. Conclusion et perspectives

La recherche de nouvelles méthodes alternatives dans l'intention d'éliminer ou de réduire l'impact des maladies causées par des agents phytopathogènes, en particulier sur les grandes cultures à intérêt agronomique, est devenue une nécessité sanitaire, car l'utilisation des produits chimiques nuit à la santé humaine et aux habitats naturels.

Dans ce contexte, s'inscrit l'objectif de notre étude visant l'utilisation de l'agent de lutte biologique *Trichoderma* sp. et de ses extraits végétaux dans le contrôle de *Alternaria solani* et *A. alternata* agents responsables de l'alternariose de la pomme de terre.

Les résultats *in-vitro* de lutte biologique, obtenus lors de la confrontation directe et indirecte de *A. solani* et *A. alternata* avec *Trichoderma* sp., se sont avérés efficaces pour la majorité des isolats utilisés. Ces derniers ont envahi les colonies de *A. solani* et *A. alternata* et même ont sporulé au-dessus, révélant leur haut potentiel mycoparasitaire. De même, les isolats de cet agent antagoniste ont montré une capacité à sécréter des substances antifongiques volatiles qui inhibent la croissance mycélienne de *A. solani* et *A. alternata* à distance. Cette activité antagoniste montre que les isolats appartenant à l'espèce *T. atroviride* ont un pouvoir antagoniste nettement élevé par rapport aux isolats appartenant à l'espèce *T. longibrachiatum*. Ainsi, l'isolat T13 est le plus antagoniste de notre collection.

L'effet antagoniste avéré de ces isolats confirme les résultats obtenus sur d'autres pathogènes (Bouragha et al. 2009)

Concernant les tests *in-vitro* du pouvoir antifongique de ses extraits végétaux, les résultats obtenus révèlent aussi un effet remarquable des concentrations initiales de la plupart des espèces végétales testées à l'égard des deux pathogènes *A. alternata* et *A. solani*. Ainsi, la concentration (C_0) de *Thymus* sp. a donné le taux d'inhibition le plus élevé (100%), confirmant son activité antibiotique généralisée.

Les tests de ses extraits végétaux indiquent que l'effet des différents traitements à l'égard des deux espèces *A. alternata* et *A. solani*, indique également que ces extraits ont un spectre d'action très large sur une grande gamme d'espèces fongiques.

La comparaison entre l'effet de la concentration initiale (C_0) et la dilution de chaque traitement, indique la présence d'un gradient d'action variable selon la dose. Ce gradient diffère d'un traitement à un autre, et nous permet de déduire que les substances employées et leur mode d'action diffèrent d'une plante à une autre.

Ainsi, la concentration (C_0) de l'extrait d'*Allium cepa* et sa dilution n'ont aucun effet sur la croissance mycélienne des deux espèces d'*Alternaria*. Ce comportement révèle l'absence totale d'effet antifongique à l'égard d'*Alternaria* spp pour l'extrait de cette plante.

En revanche, la dilution de l'extrait d'*A. sativum* montre l'effet le plus élevé des dilutions, ce qui suggère que son effet persiste même avec de faibles doses.

Le test *in-vivo* de l'effet de l'extrait de thym réalisé en pots, n'exclue pas le pouvoir antifongique de cet extrait, cela n'exclue pas que la méthode utilisée soit inadéquate. Il reste que les degrés de sévérité des attaques obtenus par inoculation des spores d'*A. alternata* et *A. solani*, montrent bien que l'agent causal le plus important est bien *A. solani*; les dégâts sur les plants inoculés par ce dernier arrivent même à la défoliation totale, contrairement à ceux causés par *A. alternata* qui se présentent simplement par de très petites taches superficielles et très dispersées.

En perspective de recherches, il est nécessaire de compléter cette étude en testant *in-vivo*, et sous des conditions contrôlées, l'isolat T13 de *Trichoderma atroviride* pour son effet sur l'Alternariose. Des expérimentations doivent être réalisées soit par son incorporation au sol, afin de mettre en évidence sa capacité d'induire la résistance et la promotion de la croissance des plants de pomme de terre, soit par des traitements foliaires pour tester l'action directe des mécanismes du mycoparasitisme, l'antibiose et la concurrence.

Il est nécessaire aussi d'envisager à nouveau le test *in-vivo* des extraits végétaux qui ont montré un pouvoir antifongique (*Thymus* sp.; *Inula viscosa* et *Allium sativum*) à l'égard d'*A. alternata* et d'*A. solani*, tout en recherchant une méthode de formulation qui garderait leurs effets constatés *in-vitro*, pour un emploi pratique, facile et économique.

Il serait également intéressant de tester les effets antifongiques de nos isolats de *Trichoderma* et des extraits des plantes ayant montré une efficacité, à l'égard d'un grand

Conclusion et perspectives

nombre d'agents phytopathogènes des cultures les plus importantes comme les céréales, la pomme de terre, les légumineuses et la tomate.

Références bibliographiques

1. **Abdallah N., 2013.** Complexe fongique pourriture racinaire and fusariosed de l'épi: Andude pathologique et lutte biologique avec *Trichoderma atroviride* P. Karsten. Mém. Maj. Agr. El-Harrach. 169 p.
2. **Abd-El-Khair H. and Haggag W. M., 2007.** Application of some Egyptian medicinal plant extracts against potato late and early blights. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 3(3): 166-175.
3. **Abdurrahman A. A., 2005.** Antifungal activity of some extracts against some plant pathogenic fungi. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(3): 413-417.
4. **Abu-Elsamen F. M. and AlShudifat A. M., 2011.** Sensitivity of tomato early blight isolates (*Alternaria solani*) from Jordan to mancozeb, chlorothalonil and azoxystrobin fungicides. Short communication. *APS-IPPC Joint Meeting*. Honolulu, Hawaii.
5. **Agrios G., 2005.** Plant pathology. 5th ed. *Elsevier Academic Press*. 922p.
6. **Amsellem Z., Zidack N. K., Quimby J. P. C. and Gressel J., 1999.** Long-term dry preservation of viable mycelia of two mycoherbicidal organisms. *Crop Prot.* 18: 643-649.
7. **Anderson R. D., in: J. C. Pech, A. Latché, C. Balague (Eds.), Cellular and Molecular Aspects of the Plant Hormone Andhylene, Kluwer, Dordrecht, 1993, pp. 197-204.**
8. **Arora D., Elander R. and Mukerji K., 1992.** Handbook of applied mycology. *Fungal Biotechnology*, vol 4. Marcel Dekker, New York
9. **Avery E. R., 1983.** Potato diseases. *Academic Press, INC.* New York . 219p.
10. **Baker K. F., Cook R. J., 1974.** Biological Control of Plant Pathogens, Freeman, San Francisco.
11. **Bankole S. A., and Adebajo A., 1996.** Biocontrol of brown blotch of cowpea caused by *Collandotrichum truncatum* with *Trichoderma viride*, *Crop Prot.* 15: 633-636.
12. **Barbara J. C., 1998.** Identifying potato diseases in Pennsylvania. *The Pennsylvania State University*. 26p.
13. **Bart P. and Thomma H. J., 2003.** *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*. 4 (4), 225-236
14. **Batta Y. A., 2004.** Effect of treatment with *Trichoderma harzianum* Rifaia formulated in invert emulsion on postharvest decay of apple blue mold, *Int. J. Food Microbiol.* 96: 281-288.

15. **Batta Y.A., 2004.** Postharvest biological control of apple gray mold by *Trichoderma harzianum* Rifai formulated in invert emulsion, *Crop Prot.* 23: 19–26.
16. **Begum J., Yusuf M., Chowdhury J.U., Saifulla K. and Nural A.M., 2007.** Antifungal activity of forty higher plants against phytopathogenic fungi. *Bangladesh J. Microbiol.*, 24: 76-78.
17. **Benchabane O., Hazzit M., Baaliouamer A. and Mouhouche F., 2013.** Analysis and antioxidant activity of the essential oil of *ferula vesceritensis* s. s. and *thymus munbyanus* Desf. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15 (5): 774-781.
18. **Benhamou N. and Chet I., 1993.** Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process, *Phytopathology* 83: 1062–1071.
19. **Benhamou, N. and Chet, I. 1996.** Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* 86: 405-416.
20. **Benhamou N. and Picard K., 1999.** Induced resistance: a new strategy of plant defense against pathogenic agents, *Phytoprotection*, 80: 137–168.
21. **Benhamou N., Rey P., Picard K. and Tirilly Y., 1999.** Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction between the mycoparasite *Pythium oligandrum*, and soilborne plant pathogens, *Phytopathology*, 89: 506–517.
22. **Benítez T., Rincón A.M., Limón M.C. and Codón A.C., 2004.** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains, *International microbiology*, 7, 249-260
23. **Bisby G. 1939.** *Trichoderma viride* Pers. Ex Fries, and notes on *Hypocrea*. *Trans. Br Mycol. Soc.* 23: 149-168.
24. **Bissett J. 1991.** A revision of the genus *Trichoderma*. 2. Infrageneric classification. *Can. J. Bot.* 69: 2357-72.
25. **Blakeman J.P., 1978.** Microbial competition for nutrients and germination of fungal spores, *Ann. Appl. Biol.* 89: 151–155.
26. **Boughalleb N., Débbabi N., Jannet H.B., Mighri Z. and Mahjoub M., 2005.** Antifungal activity of volatile components extracted from leaves, stems and flowers of four plants growing in Tunisia. *Phytopathol. Mediterr.*, 44: 307-312.
27. **Boureggheda H., 2009.** Recherche de l'effet antagoniste de *Trichoderma* spp. à l'égard de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Padwick) Matuo et K. Sato (Foc), agent du flétrissement du pois chiche. Thèse Doct. INA. El-Harrach. 145p.

28. **Brunner K., Montero M., Mach R.L., Panderbauer C.K. and Kubicek C.P., 2003.** Expression of the ech42 (endochitinase) gene of *Trichoderma atroviride* under carbon starvation is antagonized via a BrlA-like cis-acting element, *FEMS Microbiol. Lett.* 218: 259–264.
29. **Caligari R.D.S. and Nachmias A., 1988.** Screening for field resistance to early blight (*Alternaria solani*) in potatoes. *Potato Research* 31: 451-460
30. **Calistru C., McLean M. and Berjak P., 1997.** In vitro studies on the potential for biological control of *Aspergillus flavus* and *Fusarium moniliforme* by *Trichoderma* species I. Macroscopical and microscopical observations of fungal interactions. *Mycopathologia* 139: 115–121.
31. **Campbell R., 1969.** An electron microscope study of spore structure and development in *Alternaria brassicicola*. *J. Microbiol.* 54: 381-392.
32. **Cao C., Park S., and Gardener B.B., 2010.** Biopesticide control of plant diseases: resources and products for organic farmers in Ohio. *Ohio State University Extension*. 10 p.
33. **Carzaniga R., Fiocco D., Bowyer P. and O'Connell R.J., 2002.** Localization of melanin in conidia of *Alternaria alternata* using phage display antibodies. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 15: 216-392.
34. **Celar F., 2003.** Competition for ammonium and nitrate forms of nitrogen between some phytopathogenic and antagonistic soil fungi, *Biol. Control* 28: 19–24.
35. **Chaerani R., Groenwold R., Roeland S.P. and Voorrips E., 2007.** Assessment of early blight (*Alternaria solani*) resistance in tomato using a droplet inoculation method. *J Gen Plant Pathol.* 73: 96–103
36. **Champion R., 1997.** Identification of the champignon strain misperseme. INRA Paris. 398 p.
37. **Chang H.T., Cheng Y.H., Wu C.L., Chang S.T., Chang T.T. and Su Y.C. 2008.** Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. *formosana* Florin leaf against plant pathogenic fungi. *Bioresour. Technol.*, 99: 6266-6270.
38. **Chet I., 1987.** *Trichoderma*-application, mode of action, and potential as biocontrol agent of soil-borne plant pathogenic fungi. In: Chand I (ed). *Innovative Approaches to Plant Disease Control*. John Wiley, New York, pp 137-160.

39. **Chet I., Inbar J. and Hadar I., 1997.** Fungal antagonists and mycoparasites. In: Wicklow DT, Söderström B (eds) *The Mycota IV: Environmental and microbial relationships*. Springer-Verlag, Berlin, pp: 165-184.
40. **CIP, 1996.** Major Potato Diseases, Insects, and Nematodes. *International Potato Center*, Lima, Peru III, 112p.
41. **Christ, B., and Maczuga S., 1989.** The effect of fungicide schedules and inoculum levels on early blight severity and yield of potato. *Plant Dis.* 73:695-698.
42. **CNCC, 2010.** Bulletin des variétés pommes de terre. Centre National de Contrôle and Certification, El Harrach, Alger. 253p.
43. **Cook R.J., 1993.** Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31: 53–80.
44. **Cooney J.M. and Lauren D.R., 1998.** *Trichoderma*/pathogen interactions: measurement of antagonistic chemicals produced at the antagonist/pathogen interface using a tubular bioassay. *Lett. Appl. Microbiol.* 27:283–286.
45. **Cowan M.M., 1999.** Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12(4): 564-581.
46. **Curtis H., Noll U., Störmann J. and Slusarenko A.J., 2004.** Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum* L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 65: 79-89.
47. **D'Hondt-Defranco M., 1984.** Les principales maladies bactériennes et cryptogamiques de la pomme de terre. Cours International sur la culture de la Pomme de Terre. Cambérène. 20p.
48. **de la Cruz J. and Llobell A., 1999.** Purification and properties of a basic endo-1,6-glucanase (BGN16.1) from the antagonistic fungus *Trichoderma harzianum*. *Eur. J. Biochem.* 265: 145–151.
49. **Dita M.A., Brommonschenkel S.H., Matsuoka K. and Mizubuti E.S.G., 2007.** Histopathological Study of the *Alternaria solani* Infection Process in Potato Cultivars with Different Levels of Early Blight Resistance. *J. Phytopathology* 155, 462–469.
50. **Druzhinina I.S., Kubicek C.P., Komoń-Zelazowska M., Mulaw T.B. and Bissandt J., 2010.** The *Trichoderma harzianum* demon: complex speciation history resulting in coexistence of hypothetical biological species, recent gamete species and numerous relict lineages. *BMC Evol. Biol.* 10, 94.

51. **Druzhinina I.S., Seidl-Seiboth V., Herrera-Estrella A., Horwitz B.A., Kenerley C.M., Monte E., Mukherjee P.K., Zeilinger S., Grigoriev I.V. and Kubicek C. P. , 2011.** *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Microbiology* 9: 749-759.
52. **Egusa, M., Akamatsu, H., Tsuge, T., Otani, H., Kodama, M., 2008.** Induced resistance in tomato plants to the toxin-dependent necrotrophic pathogen *Alternaria alternata*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 73, 67-77.
53. **Elad Y., 2000.** Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action, *Crop Prot.* 19: 709–714.
54. **Elad Y., Freeman S. and Monte E. 2000.** Biocontrol agents: Mode of action and interaction with other means of control. *IOBC wprs Bulletin*, vol 24. Sevilla, España.
55. **Ellis M. B., 1971.** Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 608pp.
56. **Escande A.R., Laich F.S. and Pedraza M.V., 2002.** Field testing of honeybee-dispersed *Trichoderma* spp. to manage sunflower head rot (*Sclerotinia sclerotiorum*), *Plant Pathol.* 51: 346–351.
57. **FAO, 2008.** Année internationale de la pomme de terre 2008; Éclairages sur un trésor enfoui. FAO. 143 p.
58. **Fairchild K.L., Miles T. D., and Wharton P. S. 2013.** Assessing fungicide resistance in populations of *Alternaria* in Idaho potato fields. *Crop Protection.* 49: 31-39
59. **Fawcett, C.H. and Spencer D.M., 1970.** Plant chemotherapy with natural products. *Ann. Rev. Phytopath.* 8: 403-418.
60. **Feng Wu, Jiaping Chen, Xiaodong Zheng, Qing Liu, 2011.** Thyme oil to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo as fumigant and contact treatments. *Food Control*, 22: 78-81.
61. **French, E.R., 2001.** Brown spot and black pit. Pp 18-19 in: Compendium of Potato Diseases, 2nd Ed., W. R. Stevenson, R. Loria, G.D. France, and D.P. Weingartner, eds. *American Phytopathological Society*, St. Paul, MN.
62. **Gams W. and Meyer W., 1998.** What exactly is *Trichoderma harzianum* Rifai? *Mycologia* 90: 904-915.
63. **Gaucher D., 1997.** Pomme de terre le point sur les maladies en végétation. *Perspectives agricoles* n° 224. Paris. p: 94-99.
64. **Gaucher D., 1998.** Maladies de la pomme de terre. ITCF, Paris 48 p.

65. Ghildiyal, A., Pandey, A., 2008. Isolation of cold tolerant antifungal strains of *Trichoderma* species from glacial sites of Himalayan region. *Res. J. Microbiol.* 8 : 559-564
66. Ghisalberti E.L., 2002. Anti-infective agents produced by the Hyphomycetes genera *Trichoderma* and *Gliocladium*, *Curr. Med. Chem. Anti-Infect. Agents* 1: 343–374.
67. Ghisalberti E.L. and Sivasithamparan K., 1991. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp, *Soil Biol. Biochem.* 23: 1011–1020.
68. Gómez I., Chet I. and Herrera-Estrella A., 1997. Genetic diversity and vegetative compatibility among *Trichoderma harzianum* isolates. *Mol. Gen. Genet.* 256: 127-135.
69. Grondona I., Hermosa M., Tejada M., Gomis M., Mateos P., Bridge P., Monte E. and García-Acha I., 1997. Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3189-3198.
70. Hanson J.R., 2003. Natural products: the secondary metabolites. *Royal Society of Chemistry*, UK, pp. 1-33.
71. Hanson L.E. and Howell C.R., 2002. Biocontrol efficacy and other characteristics of protoplast fusions between *Trichoderma koningii* and *T. virens*, *Mycol. Res.* 106: 321–328.
72. Harman, G.E., 2000. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. *Plant disease* 84 : 377-393.
73. Harman, G.E., 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96: 190-94.
74. Harman G.E. and Björkman T., 1998. Potential and existing uses of *Trichoderma* and *Gliocladium* for plant disease control and plant growth enhancement, in: G.E. Harman, C.K. Kubicek (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium*, vol. 2, Taylor and Francis Ltd., London, pp. 229–265.
75. Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chand I. and Lorito M., 2004. *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews* 2: 43-56.
76. Heraux F.M.G., Halland S.G. and Weller S.C., 2005. Combining *Trichoderma virens*-inoculated compost and a rye cover crop for weed control in transplanted vegetables, *Biol. Control* 34 : 21–26.

77. **Heraux F.M.G., Hallandt S.G., Ragothama K.G. and WellerS.C., 2005.** Composted chicken manure as a medium for the production and delivery of *Trichoderma virens* for weed control, *HortScience* 40: 1394–1397.
78. **HermosaM.,GrondonaI.,IturriagaE.,Díaz-MínguezJ.,CastroC.,MonteE. and García-Acha I., 2000.** Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1890-1898
79. **Hermosa MR, Grondona I, Díaz-Mínguez jm, Iturriaga ea, MonteE., 2001.** Development of a strain-specific SCAR marker for the detection of *Trichoderma atroviride* 11, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. *Curr Genet* 38: 343-350.
80. **HjeljordL.G.,StensvandA.andTronsmoA.,2000.** Effect of temperature and nutrient stress on the capacity of commercial *Trichoderma* products to control *Botrytis cinerea* and *Mucor piriformis* in greenhouse strawberries, *Biol. Control* 19: 149–160.
81. **HoellI.A.,KlemsdalS.S.,Vaaje-KolstadG.,HornS.J.andEijsinkV.G.H.,2005.** Overexpression and characterization of a novel chitinase from *Trichoderma atroviride* strain P1, *Biochim. Biophys. Acta* 1748: 180–190.
82. **HouDong-yao,Chun-qiYan,Hai-xiLiu,Xi-zhenGe,Wei-jianXu,Ping-fang Tian, 2010.** Berberine as a natural compound inhibits the development of brown rot fungus *Monilinia fructicola*. *Crop Protection* 29: 979-984.
83. **HowellC.R.,2003.** Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts, *Plant Dis.* 87: 4–10.
84. **HowellC.R.andPuckhaberL.S.,2005.** A study of the characteristics of -P11 and -Q11 strains of *Trichoderma virens* to account for differences in biological control efficacy against cotton seedling diseases, *Biol. Control* 33: 217–222.
85. **HutchinsonC.M.,1999.** *Trichoderma virens*-inoculated composted chicken manure for biological weed control, *Biol. Control* 16: 217–222.
86. **Inbar J., Menendez A. and ChandI., 1996.** Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in biological control, *Soil Biol. Biochem.* 28: 757–763.
87. **JacobsenB.andZidackN.,2010.** Potato Disease Management Suggestions for July.

88. **Jasso de Rodriguez D., Hernandez-Castillo D., J.L. Angulo-Sanchez, R. Rodriguez-Garcia, VillarrealQuintanilla J.A.andLira-Saldivar R.H., 2007.** Antifungalactivity invitroof *Flourensiaspp.* extractson *Alternariaspp.*, *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum/ Industrial Crops and Products*. 25: 111–116.
89. **KawamuraC.,MoriwakiJ.,KimuraN.,FujitaS.,HiranoT.,KoizumiS.and Tsuge T.,1997.**The melaninbiosynthesisgenesof *Alternariaalternata* can restore pathogenicity ofthemelanin–deficientmutantsofMagnaporthe grisea. *Mol.Plant- Microbe Intract*. 10: 446-453.
90. **KredicsL.,ZsuzsannaA.,IlonaD.,ManczingerL.,KeveiF.andElisabandhN., 2003.**Clinicalimportance of thegenus *Trichoderma*—a review, *ActaMicrobiol. Immunol. Hung*. 50: 105–117.
91. **Kredics L., Zsuzsanna A., Szekeres A., Hatvani L., Manczinger L., V. Cs, Erzséband N., 2005.** Extracellular proteasesof *Trichoderma* species—a review, *Acta Microbiol. Immunol. Hung*. V52: 169–184.
92. **KubicekC.P.,MachR.L.,PanderbauerC.K.andLoritoM.,2001.***Trichoderma*: from genes to biocontrol, *J. Plant Pathol*. 83: 11–23.
93. **KucharekT.,2000.**EarlyBlightonTomatoesandPotatoes. *PlantPathologyFact Sheet*.pp-7
94. **Kullnig-GradingerC.,SzakacsG.andKubicekC.,2002.**Phylogenyandevolution ofthe genus *Trichoderma*: multigene approach. *Mycol Res*. 106: 757-767.
95. **Lacy M. L. andHammerschmidt R.,1984.** Diseases ofPotato: Early Blight. *Michigan StateUniversity*.2p.
96. **Latha P., Anand T., Ragupathi N., Prakasam V., Samiyappan R., 2009.** Antimicrobialactivity ofplantextractsandinductionofsystemicresistanceintomato plantsby mixturesofPGPRstrainsandZimmuleafextractagainst *Alternariasolani*. *Biological Control*50: 85–93.
97. **LewisJ.A.andPapavizasG.C.,1991.**Biocontrolofplantdiseases:theapproachfor tomorrow, *Crop Prot*. 10: 95–105.
98. **LieckfeldtE.andSeifertK.,2000.**AnevaluationoftheuseofITSsequencesinthe taxonomyof theHypocreales. *Stud Mycol*45: 35-44.
99. **LindseyD.L.andBakerR.,1967.**Effectofcertainfungiondwarf tomatoesgrown undergnotobiotic conditions, *Phytopathology* 57: 1262–1263.

- 100. Liu P.G. and Yang Q., 2005.** Identification of genes with biocontrol function in *Trichoderma harzianum* mycelium using the expressed sequence tag approach, *Res. Microbiol.* 156: 416–423.
- 101. Lourenco V., Rodrigues T. M. S., Campos A. M. D., Baganca C. A. D. Scheuermann K., Reis A., Brommonschenkel S.H., Maffia L.A. and Mizubuti E. S.G., 2011.** Genetic structure of the population of *Alternaria solani* in Brazil. *J Phytopathol* 159: 233–240.
- 102. Lübeck M., Poulsen S., Lübeck P., Jensen D. and Thrane U., 2000.** Identification of *Trichoderma* strains from building materials by ITS1 ribotyping, UP-PCR fingerprinting and UP-PCR cross hybridization. *FEMS Microbiol Lett* 185: 129-134.
- 103. Mathur S.B. and Kongsdal O., 2003.** Common Laboratory Seed Health Testing Methods for Detecting Fungi. 1st Edition. *International Seed Testing Association*, Denmark. 425 p.
- 104. Menendez A.B. and Godeas A., 1998.** Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* attacking soybean plants. Degradation of the cell walls of this pathogen by *Trichoderma harzianum* (BAFC 742). *Mycopathologia* 142: 153–160.
- 105. Monte E. and Llobell A. 2003.** *Trichoderma* in organic agriculture. *Proceedings V World Avocado Congress* (Actas V Congreso Mundial del Aguacate). pp. 725-733.
- 106. Moreno L.S., and Paningbatan R.A., 1995.** Biological control of mango stem-end rot caused by *Diplodanatalensis* with *Trichoderma viride*. *Philippine Phytopathol.* 31: 103–116.
- 107. Morris P.F., Connolly M.S. and Clair D.A. ST, 2000.** Genetic diversity of *Alternaria alternata* isolated from tomato in California assessed using RAPDs. *Mycol. Res.* 104 (3): 286–292.
- 108. Mouhouche B. et Bazouche M., 2008.** Etude de l'effet combiné du régime hydrique et de la fumure minérale sur la production de pomme de terre. Journéed'étude sur la filière pomme de terre : situation actuelle. INAEI Harrach 18 juin 2008.
- 109. Moulai Y., 2010.** Contribution à l'étude de mildiou de la pomme de terre dans la wilaya de Bouira and essaie de comportement de quelques variétés à l'égard de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Mém. Ing. Agr. ENSA. El-Harrach. 71 p.
- 110. Muthukumar A., Eswaran A., Nakkeeran S. and Sangeetha G., 2010.** Efficacy of plant extracts and biocontrol agents against *Pythium aphanidermatum* inciting chilli damping-off. *Crop Protect.*, 29: 1483-1488.

111. Nachmias A., Caligari Z. Ben-Tullila I and L. Livescu, 1990. Disease assessment of early blight in potatoes in semi-arid zones. *Potato Research* 33 : 441-448.
112. Nnodu E., Harrison M. and Parke R. 1982. The effect of temperature and relative humidity on wound healing and infection of potato tubers by *Alternaria solani*. *Am. Potato J.* 59:297–311.
113. Olanya O. M., Honeycutt C. W., Timothy R. P., Griffin L. S., Z. He J. and Halloran M., 2009. The effect of cropping systems and irrigation management on development of potato early blight. *J Gen Plant Pathol.* 75:267–275
114. Olivier, J. M. and Germain, R. 1983. Andude des antibiotiques volatils des *Trichoderma*. In: Les antagonismes microbiens modes d'action and application à la lutte biologique contre les maladies des plantes. 24^{ème} colloque de la société française de phytopathologie, Bordeaux. Ed. INRA, 17–34pp.
115. OEPP, 2008. Efficacy evaluation of fungicides: *A. solani* and *A. alternata* on potato and outdoor production of tomato. *EPPO Bulletin* 38, 319–321.
116. Pandey D. K., Tripathi N. N., Tripathi R. D., Dixit S. N., 1982. Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Caesulia axillaris* Roxb. (Compositae). *Angewandte Botanik*, 56: 256-257.
117. Papavizas G. C., Lewis J. A. and Abd-ElMoity T. H., 1982. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology* 72: 126–132.
118. Pelletier J. and Fry W. 1990. Characterization of resistance to early blight in three potato cultivars: incubation period, lesion expansion rate, and spore production. *Phytopathology* 79:511–517.
119. Perello A., Monaco C., Simon M. R., Sisterna M., and Dal Bello G., 2003. Biocontrol efficacy of *Trichoderma* isolates for control of wheat in Argentina. *Crop Prot.* 22: 1099–1106.
120. Pintureau B., 2009. La lutte biologique. Application aux arthropodes ravageurs et aux adventices. INRA, Lyon. 267p.
121. Platt B., 2008. Maladies de la pomme de terre causées par des oomycètes. *Cahiers Agricultures*, 17: 361-367.
122. Pozo M. J., Baek J. M., Garcia J. M. and Kenerley C. M., 2004. Functional analysis of *tvsp1*, a serine protease-encoding gene in the biocontrol agent *Trichoderma virens*, *Fungal Gen. and Biol.* 41: 336–348.

- 123. Pscheidt J., 1985.** Epidemiology and control of potato early blight, caused by *Alternaria solani*. Ph.D. Dissertation. *University of Wisconsin, Madison, WI, USA.*
- 124. Punja Z.K. and Utkhede R.S., 2003.** Using fungi and yeast to manage vegetable crop diseases, *Trends Biotechnol.* 21: 400–407.
- 125. Radtke W. and Rickmann W., 1991.** Maladies and ravageurs de la pomme de terre. *Th. Mann. Gelsenkirchen-Buer.* Canada. 120 p.
- 126. Randall C.R., Sally A.M. and Richard M.R., 1995.** Early Blight of Potato and Tomato. *Fact Sheet Extension. The Ohio State University.* HYG-3101-95.
- 127. Rapilly F., 1968.** Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Annales des Epiphyties* Vol. 19. N° hors-série. *INRA.* Paris. 103p.
- 128. Regueig L., 2008.** Itinéraire technique de la culture de la pomme de terre en Algérie. Journéed'étude sur la filière pomme de terre. *INAEI Harrach* 18 juin 2008.
- 129. Reuveni M., 2010.** New generation of broad spectrum plant extract fungicides. Communication.
- 130. Rieckman W., 1991.** Maladies and ravageurs de la pomme de terre. 168p.
- 131. Rifai M., 1969.** A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycol. Pap.* 116: 1-56.
- 132. Rotem J., 1994.** The Genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology and Pathogenicity. *American Phytopathological Society, St Paul (US).*
- 133. Rousselle P., Robert Y. and Crosnier J.C., 1996.** La pomme de terre - production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. *INRA éditions - ITPT - ITCF, coll. «Mieux comprendre», Paris, 640 p.*
- 134. Samuels G.J., Dodd S.L., Gams W., Castlebury L.A. and Pandrini O., 2002.** *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*, pp. 146–170.
- 135. Samuels G.J., Ismaiel A., Bon M.C., De Respinis S. and Petrini O., 2010.** *Trichoderma asperellum sensulato* consists of two cryptic species. *Mycologia* 102, 944–966.
- 136. Schirmböck M., Lorito M., Wang Y.L., Hayes C.K., Arisan-Atac I., Scala F., Harman G.E. and Kubicek C.P., 1994.** Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptide antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi, pp. 4364–4370.
- 137. Schöber, B., and Turkensteen, L. J. 1992.** Recent and future developments in potato fungal pathology. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 98: 73-83.

- 138. Schultz D. and French R.D., 2009.** Early blight of potatoes and tomatoes. *AgriLife Extension*. 2 p.
- 139. Selman L., Andrews N., Stone A., and Mosley A., 2008.** What's wrong with my potato tubers? Diagnosing tuber abnormalities in western Oregon and Washington. *Oregon State University*. 11 p.
- 140. Shahbazi, H., Aminian, H., Sahebani, N., and Halterman D., 2010.** Biochemical evaluation of resistance responses of potato tubers to different isolates of *Alternaria solani*. *Phytopathology*, 100: 454 – 459.
- 141. Shervin Hadian, 2012.** Antifungal Activity of Some Plant Extracts against Some Plant Pathogenic Fungi in Iran. *Asian J. Exp. Biol. Sci* 3(4): 714-718.
- 142. Shinkafi S.A. and Dauda H., 2013.** Antibacterial Activity of *Allium Cepa* (Onion) on Some Pathogenic Bacteria Associated with Ocular Infections. *Sch. J. App. Med. Sci.*, 1(3): 147-151.
- 143. Shores M., Yedidia I. and Chet I., 2005.** Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. *Phytopathology*, 95: 76–84.
- 144. Shtienberg D., Bergeron S.N., Nicholson A.G., Fry W.E., Ewing E.E. 1990.** Development and evaluation of a general model for yield loss assessment in potatoes. *Phytopathology* 80:466–472
- 145. Shtienberg, D., Bergeron, S., Nicholson, A., Fry, W., and Ewing, E. 1990.** Development and evaluation of a general model for yield loss assessment in potatoes. *Phytopathology* 80:466-472.
- 146. Sikora E. and Edwards P., 2004.** Plant Disease Notes: Early Blight of Potato. Alabama A&M University and Auburn University, the Alabama Cooperative Extension System. 2p.
- 147. Sivagami P., 2003.** Management of sunflower *Alternaria* Leaf Spot Caused by *A. helianthi* (HANSF). Tubaki and Nishilaraby using Non Chemical Methods. M.Sc. (Ag.) Thesis, Tamil Nadu Agric. University, Coimbatore, India, p. 68.
- 148. Sivan A. and Chet I., 1986.** Biological control of *Fusarium* spp. in cotton, wheat and muskmelon by *Trichoderma harzianum*. *J. Phytopathol.* 116: 39–47.
- 149. Spencer, D.M., Topps, J.H., Wain, R.I., 1957.** Fungistatic properties of plant tissues. *Nature* 179, 651–652.

- 150. Srinivasan U., Staines H.J. and Bruce A., 1992.** Influence of media type on antagonistic modes of *Trichoderma* spp. against wood decay basidiomycetes, *Mater. Org.* 27: 301–321.
- 151. Stacey G. and Keen N.T., 1999.** Plant-Microbe Interactions, vol 4. APS Press, St. Paul.
- 152. Stevens J.F., Ivancic M., Hsu V.L. and Deinzer M.L., 1997.** Prenylflavanoids from *Humulus lupulus*. *Phytochemistry*, 44: 1575-1585.
- 153. Stevenson W.R., Loria R., France G.D., and Weingartner D.P., 2002.** Compendium of Potato Diseases, 2nd Ed., eds. *American Phytopathological Society*, St. Paul, MN.
- 154. Stewart H.E. and Bradshaw J.E., 1993.** A glasshouse test for assessing resistance to early blight (*Alternaria solani*). *Potato Research*. 36: 35-42.
- 155. Szekeres A., Leitgeb B., Kredics L., Zsuzsanna A., Hatvani L., Manczinger L. and Vagvolgyi C., 2005.** Peptaibols and related peptaibiotics of *Trichoderma*, *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 52: 137–168.
- 156. Tahany M., Hegazy A., Sayed A.M., Kabil H., El-Alfy T. and El-Komy S., 2010.** Study on combined antimicrobial activity of some biologically active constituents from wild *Moringa peregrina* Forssk. *J. Yeast Fungal Res.*, 1: 015-024.
- 157. Taylor A.W., Barofsky E., Kennedy J.A. and Deinzer M.L., 2003.** Hop (*Humulus lupulus*) proanthocyanidins characterized by mass spectrometry, acid catalysis, and gel permeation chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4101-4110.
- 158. Thomas A.T. and Rosemary L., 1986.** A detection of potato tuber diseases and defects. *Cornell University, Ithaca, New York*. 13p.
- 159. Timmer, L.W., Solel, Z., Gottwald, T.R., Ibañez, A.M., and Zitko, S.E., 1998.** Environmental factors affecting production, release, and field populations of conidia of *Alternaria alternata*, the cause of brown spot of citrus. *Phytopathology* 88: 1218-1223.
- 160. Tymon L., Cummings T.F. and Johnson D.A., 2013.** Pathogenicity and aggressiveness of *Alternaria solani*, *A. alternata*, and *A. triticina* on potato. APS- MSA Joint Meeting. Austin, Texas.
- 161. Tzortzakis N.G. and Economakis C.D., 2007.** Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. *Innov. Food Sci. Emerging Tech.*, 8: 253-258.

162. **Úrgeova E., and Polivka L., 2009.** Secondary metabolites with antibacterial effects from leaves of different hop cultivars during vegetal periods. *Nova Biotechnol.* 9(3): 327-332.
163. **Vander Walls J., Korsen L. and Aveling T., 2001.** A review of early blight of potato. *Afr Plant Protec* 70:91–102.
164. **Vargas-Garcia M.C., Lopez M.J., Suarez F. and Moreno J., 2005.** Laboratory study of inoculum production for composting processes, *Biores. Technol.* 96:797–803.
165. **Vazquez-Garciduenas S., Leal-Morales C.A. and Herrera-Estrella A., 1998.** Analysis of the Banda-1,3-Glucanolytic System of the Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum*, pp. 1442–1446.
166. **Verma M., Brar S.K., Tyagi R.D., Surampalli R. Y. and Val'ero J.R., 2007.** Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal* 37: 1–20.
167. **Vloutoglou I. and Kalogerakis S.N., 2000.** Effects of inoculum concentration, wadness duration and plant age on development of early blight (*Alternaria solani*) and on shedding of leaves in tomato plants. *Plant Pathology* 49, 339-345.
168. **Vloutoglou I., Kalogerakis S.N. and Darras A., 2000.** Effects of isolate virulence and host susceptibility on development of early blight (*Alternaria solani*) on tomato. *EPPO Bulletin* 30, 263-267.
169. **Weber B.N. and Halterman D.A., 2012.** Analysis of genandic and pathogenic variation of *Alternaria solani* from a potato production region. *Eur. J. Plant Pathol.* 134:847 – 858.
170. **Weber B.N. and Jansky S.H., 2012.** Resistance to *Alternaria solani* in hybrids between a *Solanum tuberosum* haploid and *S. raphanifolium*. *Phytopathology* 102:214-221.
171. **Wharton P. and Kirk W., 2007.** Early Blight. Michigan potato diseases. *Extension Bulletin* E-2991. 6p.
172. **White S. and Shaw D., 2008.** Resistance of Sàrpo clones to the new strain of *Phytophthora infestans*, Blue-13. *Proceedings of the Eleventh Euro Blight Workshop, Hamar, Norway.* 28-31.p:61-69.
173. **Wilson C.L., Solar J.M., El Ghaouth A and Wisniewski M., 1997.** Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Dis.*, 8: 204-210.

174. **Wu T., Kabir Z. and Koide R. T., 2005.** A possible role for saprotrophic microfungi in the nutrition of ectomycorrhizal *Pinus resinosa*, *Soil Biol. Biochem.* 37:965–975.
175. **Xu S., Yan F., Ni Z., Chen Q., Zhang H. and Zheng X. 2013.** In vitro and in vivo control of *Alternaria alternata* in cherry tomato by essential oil from *Laurus nobilis* of Chinese origin. *J Sci Food Agric.*
176. **Yazdani D., Tan Y. H., Zainal Abidin M. A. and Jaganath I. B., 2011.** A review on bioactive compounds isolated from plants against plant pathogenic fungi. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(30), pp. 6584-6589.
177. **Yedidia I., Benhamou N., Kapulnik Y. and Chand I., 2000.** Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203, *Plant Physiol. Biochem.* 38:863–873.
178. **Zachmann, R., 1982.** Early blight of potato; *Alternaria solani*. *Technical Information Bulletin 17. International Potato Center, Lima, Peru.* 13pp.

تعتبر البطاطا بوصفها زراعة استراتيحية في العالم بأسرها وخاصة في البلدان النامية. ومع ذلك، هذا الزراعة معرضة لمختلف الضغوط الحيوية وغير الحيوية. من أهمها مرض اللقحة المتقدمة الذي يسببه النوع *Altenrariasolani* و *A. alternata*، والذي أصبح أكثر أهمية في البيئات الحارة خلال السنوات المتأخرة.

إختبار المكافحة البيولوجية، في المختبر والمجراة، وذلك باستخدام خصم التريكوثير ما النياية. وأجرى يتم قطفات الكحولية لبعض النباتات الطبية تحتظرو فخاصة للرقابة.

فيمقار نتائجا المختبر التريكوثير ما النياية. معمسبباتا لأمر اضأظهر تأغلبية خصم قو كبيرة جدا من العزلات المختبرية، وعزل T13 الذي هو أكبر معتني في المئة من نمو فطر، وهو ما يتجاوز 70%.

وبالتالي، كانت نتائج الاختبار في المختبر من المستخلصات النباتية مرضية لمقطفات من الغدة الصغرية. وحيث تظهر 60% و 100% كبت، علالتوالي، فيتركيزات 0.5%.

الكلمات الرئيسية: المكافحة الحيوية، المستخلصات النباتية، *Trichoderma spp* اللقحة المتقدمة، العصاراة الصغرية. والبطاطا.

Résumé:

Lapomme de terre est considérée en tant que culture stratégique dans le monde et particulièrement dans les pays en développement. Cependant, cette culture est sujette à diverses contraintes biotiques et abiotiques dont l'alternariose causée par les deux espèces *Altenrariasolani* et *A. alternata* est devenue, au cours des dernières années, plus importantes dans les milieux chauds. Des essais de lutte biologique, *in-vitro* et *in-vivo*, en utilisant l'agent antagoniste *Trichoderma spp.* et des extraits alcooliques de quelques plantes médicinales ont été réalisés sous conditions contrôlées.

Les résultats *in-vitro* de confrontation des *Trichoderma spp.* avec les agents pathogènes ont montré un pouvoir antagoniste très important de la majorité des isolats testés, dont l'isolat T13 est le plus important avec un pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne qui dépasse les 70%.

Ainsi, les résultats de test *in-vitro* des extraits végétaux étaient satisfaisants pour les extraits à partir de *Thymus sp.* et d'*Inula viscosa* où ils affichaient 100% et 60% d'inhibition respectivement, à des concentrations de 0,5%.

L'essai *in-vivo* de traitement des plants de pomme de terre, plantés en pots, par l'extrait de *Thymus sp.* n'a pas donné les résultats attendus, et devrait être consolidé par des travaux ultérieurs.

Mots clés: lutte biologique, *Trichoderma spp.*, extrait des plantes, l'alternariose, *Thymus sp.* et pomme de terre.

Abstract:

Potato is considered as a strategic culture in the world and particularly in developing countries.

However, this culture is subject to various biotic and abiotic stresses which early blight caused by two species *Altenrariasolani* and *A. alternata* has become, in recent years, more important in hot environments.

Testing of biological control, *in-vitro* and *in-vivo*, using the antagonist *Trichoderma spp.* and alcoholic extracts of some medicinal plants were carried out under controlled conditions.

In vitro results of confrontation of *Trichoderma spp.* with pathogens showed a very significant power antagonist majority of the isolate tested, the isolate T13 which is the largest with a percent inhibition of mycelial growth, which exceeds 70%.

Thus, the results of *in vitro* testing plant extracts were satisfactory for extracts from *Thymus sp.* *Inula viscosa* and where they appear 60% and 100% inhibition, respectively, at concentrations of 0.5%.

The *in vivo* test treatment plants potato planted in pots, with the extract of *Thymus sp.* did not give the expected results, and should be strengthened by further work.

Keywords: Biocontrol, *Trichoderma spp.*, plant extracts, early blight, *Thymus sp.* and potatoes.