

## Résumé

La pourriture grise, causée par le champignon *Botrytis cinerea*, est l'une des principales maladies fongiques aériennes qui touche diverses cultures d'importance agronomique. La diversité phénotypique et génotypique de *B. cinerea* est très grande et la capacité d'adaptation de ce champignon à une pression sélective est rapide, ce qui limite considérablement les méthodes de lutte entreprises. Les objectifs de ce travail visent à étudier la variabilité phénotypique montrée par des isolats de *B. cinerea* en réponse aux températures élevées. Ceci est conduit par l'étude du développement de la pourriture grise et les fluctuations de températures à l'intérieur des serres commerciales de tomates de la région de Bejaia durant deux saisons (2012 et 2013), ainsi que par l'étude de l'effet de la température sur la croissance mycélienne et la germination des spores des isolats locaux. L'effet des températures élevées sur le développement *in vitro*, l'agressivité sur des folioles de tomate des isolats de *B. cinerea* isolés dans les différentes régions géographiques (Algérie, France et Norvège), ainsi que l'agressivité de ces isolats sur la plante entière de tomate en conditions optimales sont également abordés. Un dernier objectif vise à étudier la variabilité génotypique des populations de *B. cinerea* isolés dans les serres de tomates de la région de Bejaia. Le développement de la pourriture grise sous les serres de tomates augmente malgré les températures élevées de l'air à l'intérieur de serre non chauffée, ce qui est confirmé par le taux de plantes infectées depuis le début (3,02%) et la fin de l'expérimentation (25%), respectivement. Des différences significatives sont enregistrées entre les isolats locaux sur la germination des spores, et la vitesse de croissance mycélienne. Plus de 90% des spores sont germées à 21 °C, tandis qu'à 28 °C et 30 °C, la germination des spores a été réduite à moins de 79% et 50% respectivement au bout de 10 heures. La vitesse de croissance mycélienne a été significativement réduite à 28 °C et 30 °C pour tous les isolats testés. Aucun des isolats ne s'est développé à 32 °C. L'effet de la température sur l'agressivité des isolats de *B. cinerea* sur folioles de tomates et sur les plantes entières a révélé une grande variabilité entre les isolats testés. 30 °C, correspond à la température d'inhibition de l'agressivité sur les folioles de tomate. Aucune différence significative de l'agressivité n'a été détectée entre les isolats de *B. cinerea* collectés en Algérie, France et Norvège. Enfin, nous avons analysé génotypiquement 174 isolats avec neuf marqueurs microsatellites. Quatre d'entre eux ont été identifiés comme *Botrytis pseudocinerea* en fonction de la taille de l'allèle au locus Bc6. Pour tous les autres isolats étudiés, tous les loci ont été polymorphes, avec un nombre moyen d'allèles par locus allant de 2,77 à 5,22. Une variabilité génétique considérable a été détectée dans toutes les sous-populations ( $D^* > 0,87$  ;  $HNB > 0,40$ ). Sur la base de l'analyse de l'indice d'association standardisé, un faible niveau de clonalité a été observé, sans exclure la possibilité d'une recombinaison ( $r = 0,07$ ,  $P < 0,001$ ). Un total de 109 haplotypes a été caractérisé parmi les isolats, dont quelques-uns ont été partagés entre les souspopulations. La différenciation génétique a été modérée entre les sous-populations en fonction de l'origine géographique ( $0,080 < FST < 0,167$ ), ce qui a suggéré un niveau faible d'échange d'inoculum entre serres d'une saison d'échantillonnage à l'autre. L'importance de la structure génétique des populations de *B. cinerea* a été discutée et devrait être pris en considération pour la gestion de la pourriture grise.

**Mots clés :** *Botrytis cinerea*, Tomate, Foliole, Serre non chauffée, Croissance mycélienne, Germination, Spore, Température, Agressivité, Diversité génétique, Marqueurs microsatellites.

## Abstract

Gray mold, caused by *Botrytis cinerea* fungus, is a major aerial fungal disease, which affects various important agronomical crops. Phenotypic and genotypic diversity of *B. cinerea* is very strong and its quick adaptability to selective pressure was reported, which makes the control methods very limited. The objectives of this work aim to study the phenotypic variability exhibited by isolates of *B. cinerea* in response to high temperatures. This by studying firstly the development of gray mold and temperature fluctuations in commercial tomato greenhouses in the region of Bejaia during two seasons (2012 and 2013), and then, by studying of the effect of temperature on the mycelial growth and spore germination of local isolates. The effect of high temperatures on the development *in vitro*, aggressiveness on

tomato leaflets of *B. cinerea* isolates collected from different geographical regions (Algeria, France and Norway), as well as the aggressiveness of these isolates on tomato plant in optimal conditions were reported. A final objective aims to study the genotypical variability of *B. cinerea* populations isolated in tomato greenhouses of Bejaia region. The development of gray mold in tomato greenhouse, despite the high air temperatures recorded inside unheated greenhouse, which is confirmed by the rate of infected plants from the beginning (3.02%) and end of the experiment (25%), respectively. A significant difference was found between local isolates on spore germination and mycelial growth rate differences. Over 90% of the spores were germinated at 21 °C, whereas at 28 °C and 30 °C, spore germination was reduced to less than 79% and 50% respectively after 10 hours. The mycelial growth rate was significantly reduced at 28 °C and 30 °C for all tested isolates. No isolates were developed at 32 °C. The effect of temperature on the aggressiveness of *B. cinerea* isolates on tomato leaflets and full plants revealed considerable variability between tested isolates. Temperature of 30 °C corresponds to the inhibition of aggressiveness on tomato leaflets. No significant differences in aggressiveness were detected among isolates of *B. cinerea* collected in Algeria, France and Norway. Finally, a genotypic analysis of 174 isolates using nine microsatellite markers identified four of these isolates as *Botrytis pseudocinerea* based on the size of the allele at locus Bc6. For all other isolates studied, all loci are polymorphic, with an average number of alleles per locus from 2.77 to 5.22. Considerable genetic variability was detected in all subpopulations ( $D^* > 0.87$ ;  $HNB > 0.40$ ). Based on the analysis of the standardized index association, a significant low level of clonality was observed, without excluding the possibility of recombination ( $r_D = 0.07$ ,  $P < 0.001$ ). A total of 109 haplotypes were characterized, some of which were shared between sub-populations. Genetic differentiation was moderate between sub-populations according to geographical origin ( $0.080 < FST < 0.167$ ), which suggested a low level of inoculum exchange between greenhouse of a sampling season to other. The importance of the genetic structure of *B. cinerea* populations was discussed and should be considered for the management of gray mold.

**Keywords:** *Botrytis cinerea*, Tomato, Leaflet, Greenhouse unheated mycelial growth, germination, Spore, Temperature, Aggression, Phenotypic diversity, Genetic diversity, Microsatellite Markers.

#### الملخص

*Botrytis cinerea*, التآكل في الهائلة والقدرة والوراثي الظاهري النمط في التنوع. الزراعي المحاصيل مختلف تمس التي الفطرية الأمراض أهم من هي الفطر عن ناجم الرمادي، التعفن التباين دراسة هي العمل هذا في المسطرة الأهداف ومن. محدودة المرض هذا مكافحة طرق من جعل الفطر هذا به يتميز الذي الخارجي الضغط أنواع لمختلف لدرجات استجابة الفطر لهذا الظاهري و 2102 موسمي خلال للطماطم البلاستيكية البيوت داخل الحرارة درجات في والتغيرات الرمادي التعفن تطور الأول المقام في بدراسة وهذا. العالية الحرارة دراسة وكذلك بجاية منطقة في 2102 نمو على المرتفعة الحرارة درجات تأثير دراسة الثاني المقام وفي. المختبر داخل الفطر لهذا المحلية للعزلات الأبواغ وإنبات نمو على الحرارة درجات تأثير وريقات على العدوانية ودرجات *B. cinerea* التباين دراسة هو العمل هذا من الأخير الهدف. بأكملها الطماطم نباتات مستوى على أيضاً تمت الدراسة هذه، والنرويج فرنسا الجزائر، (مختلفة أصول ذات لسلاسل الطماطم *cinerea* درجات ارتفاع رغم البلاستيكية البيوت داخل الرمادي التعفن ارتفاع النتائج أظهرت. بجاية منطقة في البلاستيكية البيوت داخل المزروعة الطماطم من المأخوذة للعزلات الوراثي *B. cinerea* إنبات على إحصائية دلالة ذات اختلافات هناك.) 2% (نهايتها وفي) 02.12% (الدراسة بداية منذ المتعفنة الطماطم نباتات نسبة أظهرت كما. الحرارة المحلية السلالات بين الفطر ونمو الأبواغ تحت نبتت الأبواغ من 01% من أكثر 22°C حرارة درجات تحت بينما 20) 22°C، سا 01 خلال 21% - 90% معدل تحت نقصت الأبواغ إنبات (21- ل *B. cinerea*. حرارة درجات نمو سرعة 2°C من عذلة ولا. العزلات لكل 21 - و *B. cinerea* 22 تحت تطورت 2°C لوريات العزلات عدوانية مستوى على الحرارة درجات تأثير. 22 تحت هامة بصفة نقصت الفطر كبيرة اختلافات أظهر الطماطم ونباتات 2°C ال عدوانية المثبطة الدرجة 21 *B. cinerea* عزلات بين وجد إحصائية دلالة ذو فرق ولا. الطماطم وريقات على الحرارة درجة تعتبر. العزلات بين تم منها 1. وراثية واسمات تسعة باستخدام وراثيا تعريفها تم عذلة 091 وأخيرا. المدروسة الدول مختلف من المأخوذة *B. pseudocinerea* على اعتمادا تعريفها *B. cinerea* أنها على تعريفها موضع في الالبات عدد متوسط مع الأشكال متعددة كانت الوراثة المواقع جميع أن العزلات باقي أظهرت - جميع في كبير وراثي تباين عن الكشف تم. 2.99 6 الأليل حجم BC. 2.22 بين تتراوح من 010 مجموعة ما. الفطر هذا لدى الجنسي التكاثر إمكانية استبعاد دون التناسل، من منخفض مستوى وجود لوحظ الجامع، المؤشر تحليل إلى استنادا (المجموعات  $Hnb > 0.4 \cdot D^* > 0.87$ ) الفرعية المجموعات بين الوراثة التمايز كان. الفطر لهذا فرعية مجموعات بين مشترك بعضها تمييزها، تم المتنوعة النسخ  $< FST >$  على يدل ما وهذا، 0.08 0.167 (بين الجغرافية لأصولها وفقاً بجاية منطقة في المدروسة الثلاثة السنوات وبين البلاستيكية البيوت بين للعزلات ضعيف تبادل *B. cinerea* الاعتبار بعين تؤخذ أن ويجب مناقشتها تمت قد ال لمجموعات الوراثة التركيب أهمية الرمادي التعفن لمكافحة جديدة طرق لتطوير

*Botrytis* , الوراثي الواسمات الظاهري، التباين الوراثي، التباين عدوانية، الحرارة، الأبواغ، الانبات، الفطر، نمو بلاستيكية، بيوت وريقات، الطماطم،  
المفتاحية الكلمات : *cinerea*