



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA 1
FACULTE DE SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES

Projet de fin d'étude

En Vue De L'obtention Du Diplôme De Master Académique En Science
De La Nature Et De La Vie

Option : **PHYTOPROTECTION DURABLE**

THEME

**Utilisation des bactéries antagonistes pour le
biocontrôle de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum
parvum*, agents du dépérissement de la vigne**

Présenté par : **ZEMIRI KHADIDJA**

Devant le jury composé de :

Mme MOHAMED MAHMOUD F.	M.A.A.	présidente
Mme BERRAF-TEBBAL A.	M.C.A.	Promotrice
Mme AIT SAADI N.	M.A.A.	Co-Promotrice
Mme AMMAD F.	M.C.B	Examinatrice
Mme AIGUOUN W.	Doctorante	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2014 /2015

Remerciements

Au terme de ce travail, il m'est agréable de présenter mes plus vifs remerciements à :

*Mme. **BERRAF-TEBBAL A.**, Maitre de Conférences classe A à l'Université **BLIDA I** et à Mme **AIT SAIDI N.**, Maitre assistant classe A à l'Université **BLIDA I**, qui ont suivi ce travail avec beaucoup d'intérêt. Qu'elles trouvent ici l'expression de ma reconnaissance et de ma gratitude les plus profondes pour leurs temps qu'elles m'ont toujours accordés, pour leur grand soutien moral et scientifique ainsi que pour leurs précieux conseils et leurs encouragements.*

*Je tiens à présenter mon grand respect et mes remerciements à Mme. **MOHAMMED MAHMOUD F.**, Maitre assistant classe A à l'Université **BLIDA I**, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire et d'avoir suivi avec intérêt la progression de ce travail.*

*Mes remerciements vont également à Mme. **AMMAD F.**, Maitre de conférences classe B à l'Université **BLIDA I** et Mme **AIGUOUN W.**, Doctorante à l'Université **BLIDA I**, qui ont accepté de porter juge à ce travail.*

*Ma gratitude et ma reconnaissance vont à Mme **KESRI S.**, technicienne au **Laboratoire de Microbiologie** à l'Université **BLIDA I** de nous avoir accueilli dans son laboratoire et pour sa précieuse aide et son soutien moral et scientifique*

*Un grand merci est réservé à Mlle **ARKAM M.**, pour sa bonne humeur, ses encouragements quotidiens, sa patience et son écoute.*

Mes sincères remerciements vont à khalida pour sa précieuse aide durant toute la période d'expérimentation.

Que toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, trouvent l'expression de ma haute considération.

Dédicace

A mes très chers parents ;

Lumière, bonheur et joie de ma vie, je vous offre le fruit de ce travail. De mon plus fond de cœur je vous remercie pour toutes vos prières, vos encouragements et vos conseils qui m'ont suivi durant tout mon parcours d'étude mais surtout de la vie.

A mes adorables sœurs, Nawel, Fatima Zohra, Lamia et mon frère Nourdine
Tout le temps vous étiez présents à me pousser et m'encourager. N'oubliez jamais que c'est de vous que je tire toutes mes forces pour aller de plus en plus loin.

A mes amis : Ibtissem, khalida, Radhia Ahlem, Hamida, Amina, et Sabrine
A cette personne qui m'est très chère et qui même au moment de son absence
était toujours présente pour moi.

Khadidja

RESUME

Utilisation des bactéries antagonistes pour le biocontrôle de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum*, agents du dépérissement de la vigne

Dans le cadre d'une agriculture durable, l'intégration des moyens de biocontrôle par les microorganismes dans les programmes de protection de végétaux permet de réduire l'utilisation de produit chimique et le maintien de la biodiversité.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet et les potentialités antagonistes, *in vitro* et *in vivo* de deux souches bactériennes : *Pseudomonas* spp. et *Bacillus subtilis*, sur deux pathogènes fongiques, *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum*, agents de dépérissement de la vigne.

Les résultats de l'essai *in vitro* montrent que les deux bactéries antagonistes sont performantes sur les milieux de cultures King B et gélose nutritive. Nous avons enregistré un taux d'inhibition de 54,07 % à 65,01%, pour *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. à l'égard de *Diplodia seriata*. et de 43,64% à 49,52% *vis-à-vis* de *Neofusicoccum parvum*. Sur le milieu de cultures PDA, nous n'avons enregistré aucune activité antagoniste à l'égard des deux pathogènes.

Les résultats obtenus sur l'antagonisme *in planta* appliqué sur les deux variétés de la vigne (Alphonse Lavallée et Cardinal) montrent que les isolats antagonistes exercent des effets variables sur la réduction des nécroses causées par les agents pathogènes.

L'essai de promotion de croissance de la plante, montre que les souches antagonistes utilisées sur les deux variétés de la vigne n'ont pas montré un effet stimulateur sur les paramètres étudiés.

Mots clés : *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* spp., biocontrôle, antagonisme, phytostimulation, vigne (*Vitis vinifera*)

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Abréviation

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE1

Chapitre I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. La vigne.....	3
1.1.Taxonomie.....	3
1.2.Développement de la vigne.....	4
1.3.Importance de la vigne	6
2. Maladies de la vigne	8
2.1.Insectes	8
2.2.Microorganismes pathogènes de la vigne.....	9
2.3.Maladies du bois	11
2.4.Dépérissement à <i>Botryosphaeria</i>	12
3. Les stratégies de lutte contre les maladies de la vigne.....	16
3.1.Lutte préventive	16
3.2.Lutte thermique	17
3.3. Biocontrôle	17
4. Biocontrôle par les microorganismes.....	18
4.1.Les agents antagonistes.....	19
4.1.1. Cas de <i>Pseudomonas</i> spp.	19
4.1.2. Cas de <i>Bacillus subtilis</i>	20
4.2.Mécanisme d'action de PGPR	21

Partie II : MATERIEL ET METHODES

I.	Matériel biologique	24
1.	Souches fongique	24
2.	Souches bactériennes	24
3.	Matériel végétal	25
II.	Méthodes.....	25
1.	Purification des isolats	25
1.2.	Purification des champignons.....	25
1.3.	Purification des souches bactériennes	26
2.	Confirmation de l'identification.....	26
2.1.	Etude macroscopique	26
2.2.	Etude microscopique.....	26
3.	Essais d'antagonisme <i>in vitro</i>	26
3.1.	Confrontation directe sur les boites de Pétri	26
3.2.	Reprise des implants.....	28
4.	Essais d'antagonisme <i>in situ</i>	28
5.	Essais de promotion de croissance.....	30
5.1.	Paramètre des croissances	31
5.2.	Phytomasse	31
6.	Les analyses statistiques	32

Chapitre III. RESULTATS ET INTERPRETATION

Résultats	33
Discussion générale	69
Conclusion générale	73

Références bibliographiques

المخلص

استخدام البكتيريا المعادية للمراقبة العضوية *Diplodia seriata* و *Neofusicoccum parvum* عوامل تدهور الكرمة

في سياق الزراعة المستدامة، وادماج وسائل مكافحة عن طريق الكائنات الحية الدقيقة في البرامج وقاية النباتات للحد من استخدام المواد الكيماوية و الحفاظ على التنوع البيولوجي.

الهدف من هذه الدراسة تقييم تأثير وإمكانات المعادية في المختبر والتطبيق لسلاطين من البكتيريا، *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas* ضد اثنين من مسببات الامراض الفطرية النباتية *Neofusicoccum parvum* و *Diplodia seriata* عوامل التدهور كرمه. *subtilis* تظهر نتائج الاختبار في المختبر أن البكتيريا المعادية، أداءها أكثر كفاءة في المستنبت ضد GN و King B سجلت معدلا لتثبيط 54.07 65,01 بالنسبة الى *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. لم نسجل أي نشاط *Diplodia seriata* و 49,52% الى 43,64% ضد *Neofusicoccum parvum* إلى وفي المستنبت PDA تثبيطي بالنسبة لكلا الفطريات الضارة .

نتائج العداء في الموقع تطبيقها على كل أصناف الكرمة (Alphonse Lavallée و Cardinal)

تبين أن العازلات عدائية تمارس تأثيرات متفاوتة على الحد من نخر الناجمة عن الفطريات مسببات الأمراض النباتية.

تعزير نمو النباتات، تبين ان سلالات المتضاربة المستخدمة في كلا اصناف من الكروم لم تبين اثار التحفيز بشأن العوامل المدروسة.

الكلمات الرئيسية: التحفيز النباتي، *Diplodia seriata*، *Neofusicoccum parvum*، *Pseudomonas* spp.، *Bacillus subtilis* التضاد، المراقبة العضوية، الكرمة (vitis vinifera).

ABSTRACT

In the context of sustainable agriculture, the integration of the biocontrol by microorganisms in plant protection programs in order to reduce the use of chemicals and maintaining of biodiversity.

The aim of this study is to evaluate the effect and potentialities antagonists, *in vitro* and *in vivo*, of two bacterial strains: *Pseudomonas* spp. and *Bacillus subtilis* against two fungal pathogens *Diplodia seriata* and *Neofusicoccom parvum*, associated with grapevine dieback.

The results of the *in vitro* test show that the two antagonistic bacteria are efficient on King B and GN culture media. We recorded an inhibition rate of 54.07% to 65.01% for *B. subtilis* and *Pseudomonas* spp. against *Diplodia seriata* and 43.64% to 49.52% against *Neofusicoccom parvum*. On the PDA medium, we didn't record any antagonistic activity against both pathogens.

The results of the *in situ* antagonism applied to both varieties of the vine (Alphonse Lavallée and Cardinal) show that antagonistic isolates carry out variable effects on reducing the necrosis caused by the pathogens.

The test of growth promotion of the plant shows that the antagonistic strains used on both grapevine varieties had not demonstrated a promoting effect on the parameters studied.

Keywords : *Diplodia seriata*, *Neofusicoccom parvum*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* spp., biocontrôle, antagonism, phytostimulation.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 :	les symptômes et dégâts causé par les insectes ravageurs de la vigne.....	8
Tableau 2 :	les symptômes et dégâts causés par les microorganismes pathogènes de la vigne.....	9
Tableau 3 :	Genres et espèces de la famille des <i>Botryosphaeriaceae</i>	12
Tableau 4 :	Caractéristique des souches fongique.....	24
Tableau 5 :	Caractéristiques parcellaires.....	25
Tableau 6 :	Dispositif de travail.....	30
Tableau 7 :	Résultats du test de confrontation directe en boîte de Pétri de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas spp.</i> vis-à-vis de <i>D. seriata</i> et <i>N. parvum</i> sur milieu de culture PDA.....	34
Tableau 8 :	Résultats de test de confrontation direct en boîte de Pétri de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas spp.</i> vis-à-vis de <i>D. seriata</i> et <i>N. parvum</i> sur milieu de culture King B.....	36
Tableau 9 :	Résultats de test de confrontation direct en boîte de Pétri de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas spp.</i> vis-à-vis de <i>D. seriata</i> et <i>N. parvum</i> sur milieu de culture GN.....	37
Tableau 10 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de traitement sur la croissance mycélienne de <i>D. seriata</i> et <i>N. parvum</i> sur milieu de culture (King B) avec la technique de confrontation directe.....	39
Tableau 11:	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de traitement sur la croissance mycélienne de <i>D. seriata</i> et <i>N. parvum</i> sur milieu de culture (GN) avec la technique de confrontation directe.....	41
Tableau 12 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de milieu, sur la croissance mycélienne de <i>D. seriata</i> et <i>N. parvum</i> confronté par <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas spp.</i>	42
Tableau 13 :	la reprise des implants des pathogènes testés en confrontation avec les antagonistes.....	43
Tableau 14 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet antagoniste <i>in vivo</i> sur deux variétés de vigne (Alphonse Lavallée et Cardinal) par <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas spp.</i> contre <i>D.seriata</i> et <i>N. parvum</i>	45
Tableau 15 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet antagoniste <i>in vivo</i> sur une variété de vigne (Alphonse Lavallée) par la synergie de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas spp.</i> contre <i>N. parvum</i>	47

Tableau 16 :	Hauteur des tiges et longueurs des racines.....	53
Tableau 17 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. sur la hauteur de tige de bouture de vigne (Alphonse Lavallée et Cardinal)...	56
Tableau 18 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. en même temps sur la hauteur des tiges des boutures de vigne (Alphonse Lavallée).....	56
Tableau 19 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. sur la longueur des racines des boutures de vigne.....	59
Tableau 20 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. sur la longueur des racines des boutures de la variété Alphonse Lavallée.....	59
Tableau 21 :	Poids frais et pois sec de la partie aérienne.....	61
Tableau 22 :	Poids frais et pois sec de la partie racinaire.....	62
Tableau 23 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. sur le poids frais des tiges des boutures de vigne.....	63
Tableau 24 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. en même temps sur le poids frais des tiges des boutures de vigne (Alphonse Lavallée).....	63
Tableau 25 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. sur le poids sec des tiges des boutures de vigne.....	64
Tableau 26 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. au même temps sur le poids sec des tiges des boutures de vigne (Alphonse Lavallée).....	64
Tableau 27 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. sur le poids frais des racines.....	66
Tableau 28 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. sur le poids sec des racines.....	66
Tableau 29 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. en même temps sur le poids frais des racines sur la variété Alphonse Lavallée.....	66
Tableau 30 :	Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. au même temps sur le poids sec des racines sur une variété Alphonse Lavallée.....	67

LISTES DES FIGURES

Figure 1 :	Taxonomie de la vigne.....	4
Figure 2 :	Superficies totales du vignoble dans le monde.....	6
Figure 3 :	Production mondiale de raisins (kg/ha).....	7
Figure 4 :	Superficies du vignoble en Algérie (ha).....	8
Figure 5 :	a) Lésion sectorielle dans laquelle a été isolé des Botryosphaeriaceae, b) Détail d'une lésion sectorielle à Botryosphaeria, c) Chancre sectoriel à Botryosphaeria sur bois d'un an.....	16
Figure 6 :	Interaction entre les Pseudomonas fluorescent, les micro-organismes phytopathogènes et les cellule racinaires.....	20
Figure 7 :	Les principaux mécanismes d'action des P.G.P.R.....	23
Figure 8 :	Méthode de confrontation directe en boîte de Pétri entre les souches bactériennes et l'agent phytopathogène.....	27
Figure 9 :	Incision de la bouture à l'aide d'un scalpel. b) Inoculation des mycéliums pathogènes et antagonistes. c) Incisions enveloppées avec du coton stérile humide. d) Incisions scellées avec du parafilm.....	29
Figure 10 :	Observation macroscopique (a) et microscopique (b) (X40) de <i>D. seriata</i>	33
Figure 11 :	Observation macroscopique (a) et microscopique (b) (X40) de <i>N. parvum</i>	34
Figure 12 :	Résultats de l'absence de l'effet antagoniste de <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. vis-à-vis de <i>D. seriata</i> et <i>N. parvum</i> sur milieu de culture PDA.....	35
Figure 13 :	Inhibition de la croissance mycélienne <i>D. seriata</i> et <i>N. parvum</i> par <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. sur milieu King B.....	36

Figure 14 : Inhibition de la croissance mycélienne de <i>D. seriata</i> et <i>N. parvum</i> par <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp sur milieu GN.....	38
Figure 15 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de traitement sur la croissance mycélienne de de <i>D. seriata</i> et <i>N. parvum</i> sur milieu (King B) avec la technique de confrontation directe.	40
Figure 16 : Modèle G.L.M. de traitement sur la croissance mycélienne de de <i>D. seriata</i> et <i>N. parvum</i> sur milieu (GN) avec la technique de confrontation directe....	41
Figure 17 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de milieu (PDA, King B, GN) sur la croissance mycélienne de <i>D. seriata</i> et <i>N. parvum</i> avec la technique de confrontation directe	42
Figure 18 : la reprise des implants des pathogènes testés en confrontation avec les antagonistes.....	44
Figure 19 : longueur de nécrose par rapport les deux variétés de la vigne (1) Alphonse Lavallée (2) Cardinal.....	45
Figure 20 : longueur de nécrose par rapport aux traitements.....	46
Figure 21 : longueur de nécrose de bouture traité par <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. vis à vis <i>N. parvum</i>	47
Figure 22 : Effets antagoniste de <i>B. subtilis</i> contre <i>D. seriata</i> sur les deux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) de la vigne	48
Figure 23 : Effets antagonistes de <i>Pseudomonas</i> spp. contre <i>D. seriata</i> sur les deux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) de vigne.....	49
Figure 24 : Effets antagonistes de <i>B. subtilis</i> contre <i>N. parvum</i> sur les deux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) de la vigne.....	50
Figure 25 : Effets de l'antagonisme de <i>Pseudomonas</i> spp. Contre <i>N. parvum</i> sur les deux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) de la vigne.	51
Figure 26 : Effets antagonistes de <i>Pseudomonas</i> spp. et <i>B. subtilis</i> et l'effet de <i>Pseudomonas</i> spp. et <i>B. subtilis</i> contre <i>N. parvum</i> sur la variété (Alphonse Lavallée) de la vigne.....	52

Figure 28 :	la longueur des tiges de la variété Alphonse Lavallée.(a) Témoin (b) traité par <i>B. subtilis</i> (c) traité par <i>Pseudomonas</i> spp.....	53
Figure 29 :	la longueur des tiges de la variété Alphonse Lavallée. (a) Témoin (b) bouture traitée par <i>B. subtilis</i> (c) traité par <i>Pseudomonas</i> spp.(d) bouture traitée par <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp	54
Figure 30 :	la longueur des racines de la variété Cardinal.....	54
Figure 31 :	la longueur des racines de la variété Alphonse Lavallée.....	55
Figure 32 :	la longueur des tiges par rapport aux deux variétés de la vigne (Cardinal et Alphonse Lavallée).....	57
Figure 33 :	la longueur des tiges par rapport aux traitements.....	57
Figure 34 :	La longueur des tiges par rapport aux traitements utilisés sur la variété Alphonse Lavallée.....	58
Figure 35 :	longueur des racines sur les boutures des deux variétés (Cardinal, Alphonse lavalée) traitées par <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp.....	59
Figure 36 :	longueur des racines par rapport aux deux traitements (<i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp.).	60
Figure 37 :	la longueur des racines sur la variété Alphonse Lavallée.....	60
Figure 38 :	poids frais et sec de tiges par rapport aux deux variétés de vigne...	64
Figure 39 :	poids frais et sec des tiges par rapport aux traitements utilisés.....	65
Figure 40 :	poids frais et sec des tiges des boutures traitées par <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. sur la variété Alphonse Lavallée.....	65
Figure 41 :	poids frais et sec des racines par rapport aux deux variétés.....	67
Figure 42 :	Poids frais et sec des racines par rapport aux traitements utilisés...	68
Figure 43 :	poids frais et sec des racines par rapport aux boutures traitées par <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudpmonas</i> spp. sur la variété Alphonse Lavallée.....	68

Introduction générale

La Vigne est l'espèce végétale la plus cultivée dans le monde. Son importance économique considérable se situe au niveau de la production des fruits, le raisin, commercialisé comme raisin de table, jus de fruit, mais surtout utilisé pour la production de vin. La viticulture occupe environ 8 millions d'hectares dans le monde et permet de produire 300 millions d'hectolitres de vin. Il existe également d'autres utilisations des produits issus de la culture de la Vigne : la production de dérivés de la vinification (moûts, alcools de distillation, tartres), de boissons à base de raisin, de dérivés alimentaires (huile de pépins de raisin), et des produits cosmétiques (GALET, 1993).

La vigne est sujette à de nombreuses maladies cryptogamiques telles que celles causées par *Botrytis cinerea* agent de la pourriture grise, *Plasmopara viticola* agent de l'oïdium ou encore *Erysiphe necator* agent du mildiou. Les maladies du bois sont définies comme étant des maladies causées ou associant des champignons pathogènes des parties aériennes, ligneuses et pérennes de la vigne : tronc et bras ou cordons. En cela, elles se distinguent des maladies racinaires, foliaires et des organes fructifères. Elles regroupent plusieurs maladies, certaines affectant les jeunes vignes d'autres les vignes plus âgées (Lorrain *et al.*, 2012). Les maladies du bois, les plus significatives sont l'eutypiose, l'esca et les dépérissements à *Botryosphaeriaceae*. Ces maladies provoquent des dépérissements des ceps de vigne, elles affectent la productivité et la longévité des vignobles et la qualité de la récolte (Bertsch *et al.* 2013).

De plus, la vigne est une monoculture pour laquelle on ne peut pas avoir recours à la stratégie de rotation des cultures pour atténuer ces maladies. Ainsi, la lutte contre les agents de ces maladies s'effectue principalement au moyen de produits phytosanitaires de synthèse, l'utilisation de tels produits se trouve aujourd'hui remise en cause. Afin de réduire l'usage de ces produits, les recherches se portent sur l'identification et la mise en œuvre de nouvelles stratégies de lutte contre les pathogènes, alternatives aux traitements phytosanitaires (Corbaz, 1990).

Plusieurs bactéries du genre *Pseudomonas*, *Bacillus* qui colonisent la rhizosphère possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement attrayantes pour protéger les plantes contre les pathogènes. Pour la plupart, ces

bactéries ont une capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population remarquable (Haas et Keel 2003), sans doute grâce aux échanges de métabolites avec la plante au niveau de la rhizosphère. De nombreuses rhizobactéries sont capables d'agir directement sur l'agent pathogène (par compétition vis-à-vis des éléments nutritifs ou de l'espace, par antibiose ou par parasitisme), ou indirectement *via* l'induction d'une résistance systémique (ISR) chez la plante hôte, ce qui engendre une protection contre un grand nombre d'agents pathogènes fongiques et bactériens (Van Loon *et al.*, 1998).

Les travaux réalisés dans cette étude s'intéresse à mettre en évidence, les effets et les potentialités antagonistes de deux rhizobactéries, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. vis-à-vis de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum* agents du dépérissement de la vigne. En plus des essais d'antagonistes *in vitro*, nous expérimentons *in situ* l'interaction de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum* avec les isolats *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. sur des boutures de deux variétés de vigne *Vitis vinifera* à savoir, le Cardinal et l'Alphonse Lavallée.

Deuxième objectif de ce travail est la mise en évidence des effets bénéfiques des bactéries *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. dans la phytostimulation des boutures de la vigne. Dans nos essais nous expérimentons les effets des deux espèces bactériennes séparément et en combinaison

II. Discussion

Diplodia seriata et *Neofusicoccum parvum* sont des espèces fréquentes dans les ceps atteints d'esca (Larignon et Dubos, 1997; Armengol *et al.*, 2001) et d'eutypiose (Ferreira *et al.*, 1989; Péros *et al.*, 1999) ; elles contribuent de manière importante au dépérissement des vignes.

Diplodia seriata a été signalée comme étant l'espèce la plus répandue des *Botryosphaeriaceae*, dans toutes les régions viticoles (Urbez-Torres, 2011a).

Neofusicoccum parvum est une espèce commune sur les plantes hôtes ligneuses, y compris de nombreuses espèces de *Vitis*, *Actinidia* et *Populus*. Sur les vignes, *N. parvum* est un pathogène virulent (Van Niekerk *et al.*, 2004 ; Slippers *et al.*, 2007a,b et Urbez-Torres *et al.*, 2011a).

L'objectif de cette approche de biocontrôle, est de tenter de détecter un éventuel pouvoir antifongique *in vitro* et *in vivo* des bactéries *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. à l'égard de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum*.

Sachant que les biopesticides microbiens montrent plusieurs avantages en comparaison avec les produits phytosanitaires de synthèse, ils ont une action spécifique *vis-à-vis* des ravageurs. Ils ne sont pas toxiques et se dégradent plus rapidement dans l'environnement (Thakore, 2006).

Les résultats obtenus dans la présente étude sur l'effet antagoniste *in vitro* de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. *vis-à-vis* de *D. seriata* et *N. parvum*, reflètent clairement que ces bactéries ont la capacité inhérente à induire des effets antagonistes sur la croissance mycélienne des agents pathogènes

Les taux d'inhibition toutefois varient selon les agents antagonistes testés, le champignon phytopathogène et selon le milieu de culture utilisé (PDA, KingB et GN).

D'après nos résultats, nous avons noté que le milieu de culture influence sur l'expression de l'activité antagoniste de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. dans les trois milieux de cultures. Ce qui suggère une diversité dans les mécanismes impliqués dans le biocontrôle.

DISCUSSION

L'absence totale de l'activité antagoniste a été signalée dans le milieu de cultures PDA, qui est un milieu adéquat est indispensable au bon développement de *D. seriata*, et *N. parvum* (Jonsthor et Booth, 1983). Le milieu de culture le moins performant pour l'activité antifongique est le milieu GN. L'inhibition de la croissance mycélienne par *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. laisse suggérer qu'elle n'est pas due à l'action des sidérophores. Ceci peut être expliqué par l'implication d'autres mécanismes d'action, telle que les métabolites à effet inhibiteur ou la synthèse des antibiotiques, (phenaz et HCN).

La plupart des *Pseudomonas* spp. fluorescents dont l'efficacité a été prouvée dans le biocontrôle des maladies de plantes, produisent un ou plusieurs antibiotiques autre que les sidérophores. La production d'HCN, in vitro sur milieu solide inhibe la croissance de plusieurs agents phytopathogène fongiques tel que *Tielaviopsis basicola* (Benchabane., 2005). En plus d'après Thomashow et Weller (1988), les phénazines chez *Pseudomonas* jouent un rôle important dans la lutte biologique contre les maladies des plantes.

L'inhibition de la croissance mycélienne sur le milieu King B, qui est considéré comme sélectif pour les *Pseudomonas* spp. fluorescents (King *et al.*, 1954), peut être liée à la synthèse des sidérophores, ou d'autre métabolites secondaire. Weller et Cook (1983) avaient auparavant rapporté, que malgré l'importance de la production de sidérophores dans le biocontrôle, ce n'est probablement pas le seul mécanisme impliqué dans l'antagonisme

Les métabolites sécrétés par les bactéries peuvent agir sur les champignons phytopathogènes comme fongistatiques, inhibiteur de la germination, fongicide ou en lysant le mycélium (Gloud, 1990). Plusieurs souches de *Bacillus* pouvaient produire des métabolites antifongiques tels que subtiline, bacitracine, bacilline et bacillonmycine qui appartiennent à la famille des iturines et la plupart des *Pseudomonas* spp. dont l'efficacité a été prouvée dans le biocontrôle des maladies de plantes, produisent un ou plusieurs antibiotiques autre que les sidérophores (Alippi et Monaco ,1994 et Haas et Défago, 2005).

A travers nos résultats, nous avons noté que la croissance mycélienne des agents fongiques n'a pas été inhibée de la même manière par les antagonistes. *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. ont exercé un effet antagoniste beaucoup plus

DISCUSSION

important (taux d'inhibition étend de 54,07 % à 65,01) contre *Diplodia seriata* que sur *Neofusicoccum parvum* (43,64% à 49,52%). Cette différence peut être expliquée par la différence de sensibilité des isolats testés. En effet, il est connu qu'au sein de l'espèce fongique, il existe une variabilité dans l'agressivité des souches (Laveau et al., 2009).

Dans la présente étude, les résultats de l'effet antagoniste *in vivo* de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. vis-à-vis de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum*, sont différents par rapport à ceux obtenus *in vitro*.

Les bactéries ont été plus performantes sur les milieux de cultures (King B et PDA) que sur les boutures de la vigne.

Les résultats obtenus de l'antagoniste *in situ* appliqué sur les deux variétés de la vigne (Alphonse Lavallée et Cardinal) montrent que les isolats antagonistes exercent des effets variables sur la réduction des nécroses causées par les agents pathogènes. Cette variabilité dans les résultats peut être due à la sensibilité de ces cépages

L'application d'un agent de biocontrôle sur les boutures de la vigne peut être dû à l'établissement d'interactions multiples avec d'autres microorganismes, qu'ils soient bénéfiques ou pathogènes. L'absence d'effet protecteur pourrait relever des différents mécanismes impliquant l'antagonisme entre les souches pathogènes inoculés et entre d'autres microorganismes présents comme les populations endophytes.

L'efficacité de biocontrôle peut dépendre à la fois d'un effet synergique entre les deux bactéries antagonistes.

De nombreuses études ont montré que l'application des souches bactériennes en association se traduit par une forte protection contre les agents pathogènes par comparaison aux effets obtenus à l'aide d'une seule souche (Janisiewicz et Bors, 1995 ; Schisler, 1997 ; Dunne *et al.*, 1998 ; Fukui *et al.*, 1999 ; De Boer *et al.*, 1999 ; Guetsky *et al.*, 2002a ; De Boer *et al.*, 2003). Ces effets résulteraient de la combinaison de différents mécanismes d'actions caractérisant ces souches. Comme il a été rapporté par d'autres auteurs chez la tomate, le pommier, l'oranger, le concombre, le maïs ou la betterave (Janisiewicz, 1996 ; Dunne *et al.*, 1998 ; Raupach

DISCUSSION

et Kloepper, 1998 ; Pal *et al.*, 2001 ; Whipps, 2001 ; Szczech et Shoda, 2004 ; Roberts *et al.*, 2005 ; Meziane *et al.*, 2006).

D'après nos résultats, nous pouvons dire que les deux souches utilisés de (*Pseudomonas* spp. et *Bacillus subtilis*) n'ont pas pu stimuler la promotion de croissance de bouture de la vigne. Les résultats enregistrés sur les boutures traitées ne sont pas significatives par rapport au témoin. L'absence de synergie de deux bactéries antagoniste sur la promotion de croissance de la plante pourrait être expliquée par une faible concentration individuelle des bactéries appliquées. Des résultats similaires ont été observés chez d'autres plantes traitées par des combinaisons de différentes bactéries (Schisler, 1997 ; Dunne *et al.*, 1998 ; De Boer *et al.*, 1999 ; Fukui *et al.*, 1999 ; DeBoer *et al.*, 2003),

Certains PGPR dont *Pseudomonas* spp. et *Bacillus subtilis* synthétisent et sécrètent des régulateurs de croissance telle que l'AIA de *Pseudomonas* spp. qui stimule la croissance racinaire en augmentant la longueur de 35-50% (Patten et Glick, 2002). L'augmentation de la concentration en phosphore soluble par les *Pseudomonas* spp. induit à un bon développement du système racinaire. Le phosphore étant souvent immobilisé sous forme de phosphates insolubles (phosphates de calcium, de fer ou d'aluminium...). Des expériences réalisées ont prouvé leur importance en tant qu'une source pour la croissance des plantes (Joergensen and Castillo 2001). Il joue un rôle essentiel dans le transfert d'énergie nécessaire à la croissance et l'amélioration de la productivité des végétaux. (Silini., 2013).

1. vigne

La vigne eurasienne est maintenant cultivée dans les régions suffisamment chaudes du monde entier, en particulier en Europe occidentale, dans les Balkans, en Californie, en Australie, en Afrique du Sud et dans certaines régions d'Amérique du Sud. Elle fut introduite en Amérique du Nord à l'époque coloniale, mais cette première tentative échoua en raison des attaques de parasites (Bertschinger, 2003).

En Afrique du Nord et spécialement en Algérie le raisin était consommé depuis la plus haute Antiquité, mais il s'agissait essentiellement de vignes sauvages dont les petites grappes, aux grains compacts et au goût âpre, étaient dégustées fraîches ou séchées au soleil, son développement commencé à partir de 1860 (El-heit, 1981).

1.1. Taxonomie de la vigne

Le genre *Vitis* appartient à la famille des *Vitaceae*, ordre des *Rhamnales*. Le genre *Vitis* est en fait composé de deux sous-genres (*Euvitis* et *Muscadinia*) sur la base des caractères morphologiques et anatomiques (Galet, 1993). Dans le sous-genre *Euvitis*, on dénombre une soixantaine d'espèces classées en quatre groupes, selon leurs origines géographiques, Amérique, Asie, Tropique et Europe. Les vignes européennes se composent uniquement de l'espèce *Vitis vinifera*, elle comprend deux formes la vigne cultivée, *Vitis vinifera sativa*, et la vigne sauvage, *Vitis vinifera sylvestris* (This et al., 2006).

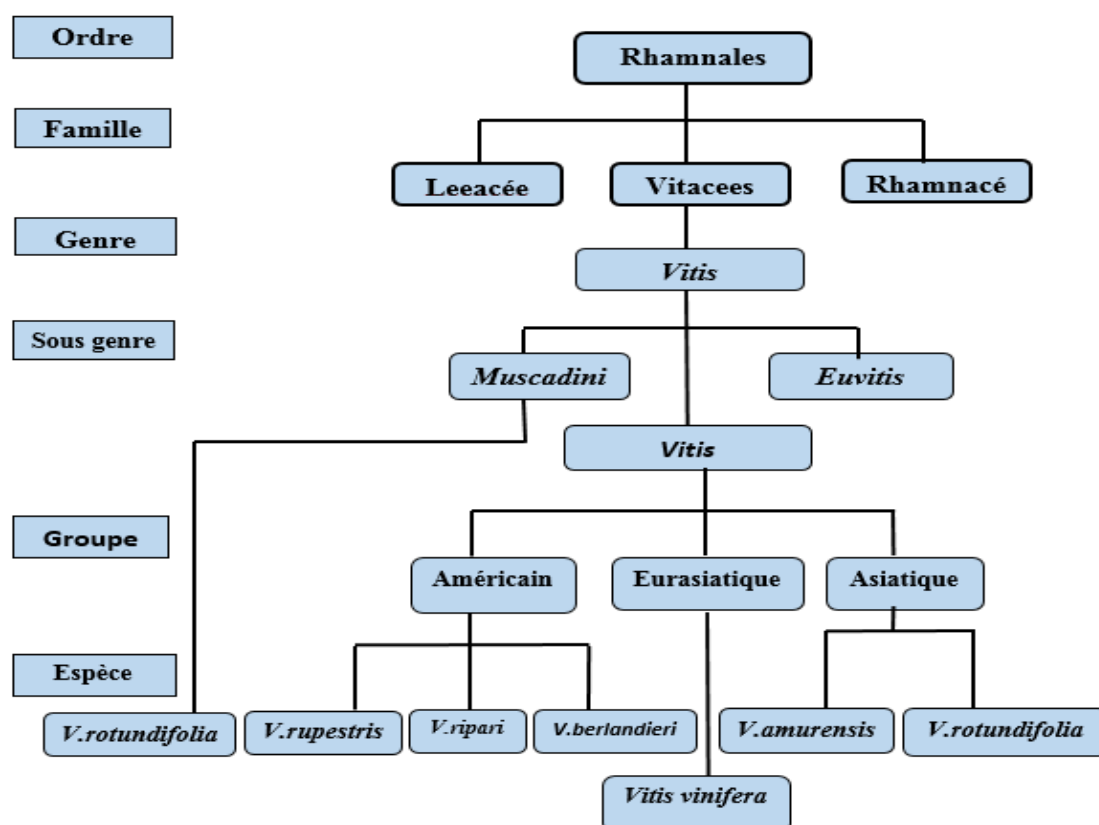


Figure 1: Taxonomie de la vigne (Reynier, 2007).

1.2. Développement de la vigne

1.2.1. Cycle végétatif

Le cycle végétatif débute avec les pleurs précédant le débourrement au départ des bourgeons en végétation donnant naissance à la croissance des rameaux et des feuilles pour se terminer à l'automne par la défeuillaison ou chute des feuilles, qui marque la fin de la vie active.

- **Les pleurs** : Ils constituent la première manifestation externe du passage de la vie ralentie à la vie active et correspondent à l'entrée en activité des racines, sous l'action du relèvement de la température du sol (Galet, 2000). Il se produit une activation de la respiration cellulaire, une reprise de l'absorption de l'eau et des éléments minéraux ainsi qu'une mobilisation des réserves (Reynier, 2007).

Chapitre I : Introduction bibliographique

- **Le débourrement** : lorsque les bourgeons commencent à gonfler au printemps, les écailles protectrices qui recouvrent les yeux s'écartent et laissent apparaître la bourre ; d'où le nom de débourrement(Reynier 2007).
- **La croissance végétative** : La croissance est caractérisée par l'allongement des rameaux issus des bourgeons, l'étalement et l'accroissement de jeunes feuilles préformées dans les bourgeons jusqu'au stade adulte, avec ensuite la naissance de nouvelles feuilles (Galet, 2000).

1.2.2. Cycle reproducteur

Les processus biologiques qui conduisent de l'induction florales dans les bourgeons latents aux raisins mûrs relèvent, en grande partie mais non totalement du cycle reproducteur, du moment où ces bourgeons engendrent à la fois les rameaux et les fruits, et que la genèse des pièces primordiales, de ces deux organes s'y déroulent simultanément en étroite imbrication (Huglin et Schneider, 1998).

- **La floraison** : Elle correspond à l'épanouissement de la fleur par l'ouverture (déhiscence) de la corolle qui se dessèche et tombe. On parle de la floraison c'est-à-dire l'épanouissement de la fleur (Reynier, 2007).
- **Pollinisation** : La pollinisation correspond à la libération et au transport du pollen. La grande majorité des variétés à fruit possède des fleurs hermaphrodites quelques cépages sont cependant femelles et nécessitent donc des variétés pollinisatrices dans leurs plantations (Galet, 2000).
- **La nouaison** : Il s'agit de la transformation de l'ovaire en fruit (Reynier, 2007) ; à partir du moment où l'ovaire commence à se développer, on dit qu'il est noué et l'ensemble du phénomène pour une grappe s'appelle la nouaison (Galet, 2000).

Chapitre I : Introduction bibliographique

- **Développement des baies** : 3 périodes se distinguent au cours de l'existence du raisin à savoir la véraison (période herbacée) pendant laquelle le jeune fruit vert change de couleur c'est la croissance de la baie qui dure de 25 à 45 jours.
- A cette croissance du raisin suit sa maturation, caractérisée par l'accumulation de sucres et la diminution de l'acidité, ensuite vient la période de sur maturation caractérisée par la disparition par combustion d'une partie des sucres, par le flétrissement du grain et par son invasion par des parasites divers nuisible (moisissures et bactérie)(Galet, 2000).

1.3. Importance de la vigne

La vigne a une importance économique considérable qui se situe au niveau de la production des fruits, le raisin, commercialisé comme raisin de table, jus de fruits, mais surtout utilisé pour la production du vin.

1.3.1. La surface totale du vignoble

Selon la FAO(2013), la culture de la vigne couvre environ 7155 millions d'hectares sur l'ensemble des cinq continents. L'Europe occupe presque la moitié de la superficie viticole mondiale.

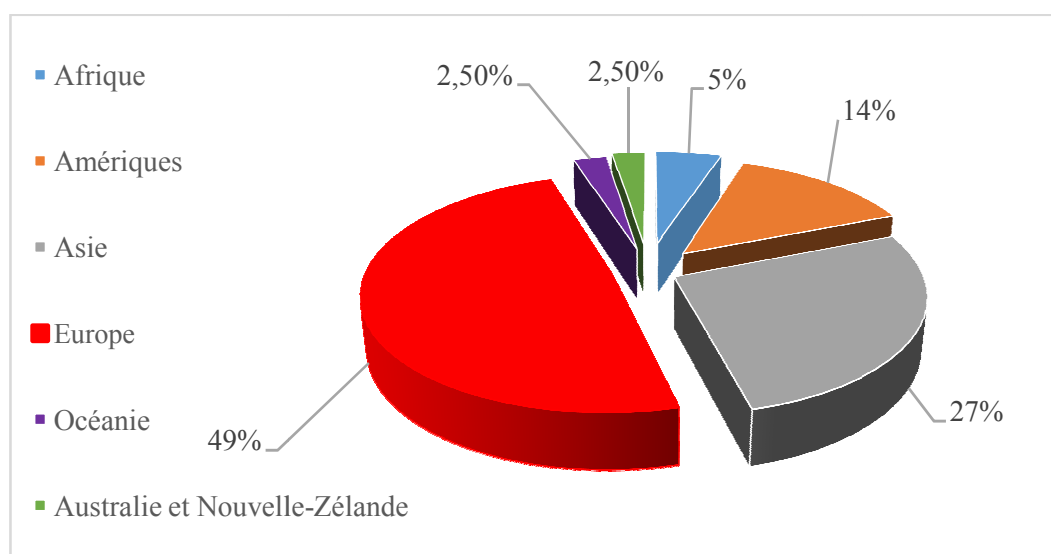


Figure2: Superficies totales du vignoble dans le mondeFAO (2013)

Chapitre I : Introduction bibliographique

1.3.2. PRODUCTION MONDIALE DE RAISIN

La production mondiale de raisin en 2013 s'inscrirait, avec près de 107867.38 kilogramme par hectare.

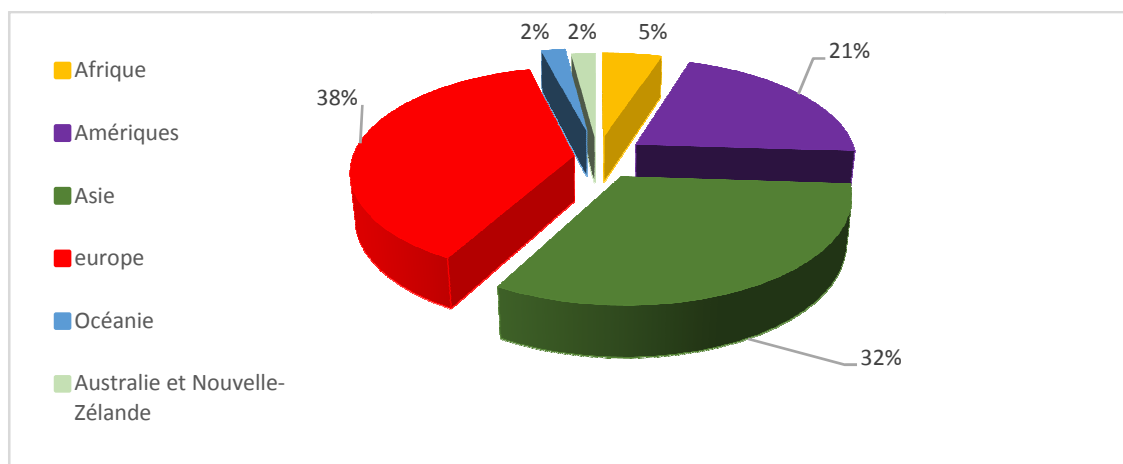


Figure3: Production mondiale de raisins (hg/g)FAO (2013)

La production Européenne est très importante avec 38%, l'Afrique se trouve en quatrième place avec une production de 5%.

1.3.4. Les superficies et la production de la vigne en Algérie

Selon la direction agricole et des systèmes d'information, les superficies total de la vigne occupent 68564 ha, avec une production qui atteinte 8325.6 kilogramme par hectare (M.A.D.R., 2014).

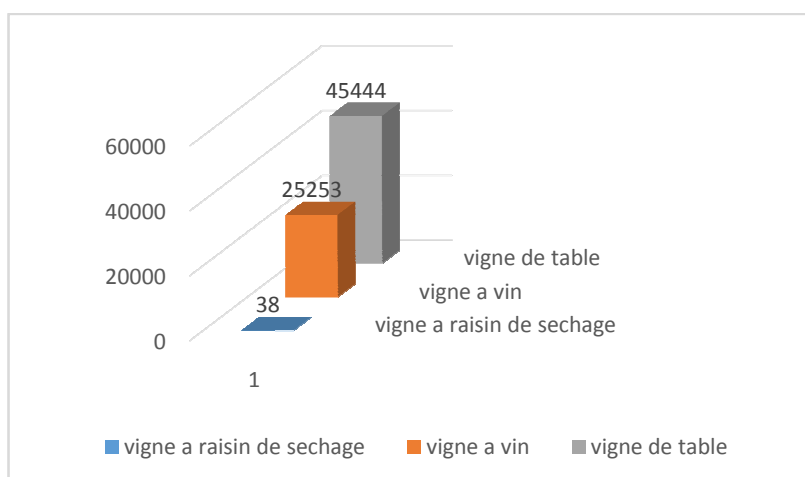


Figure4: Superficies du vignoble en Algérie (ha)(M.A.D.R., 2014)

Chapitre I : Introduction bibliographique

2. Maladies de la vigne

La plupart des maladies qui touchent la vigne, comme chez la plupart des plantes résulte de l'interaction entre un hôte sensible et un organisme pathogène vivant. Ces agents causaux, appelés pathogènes biotiques, sont de natures très variées, principalement des insectes, des virus, des bactéries et des champignons.

2.1. Insectes

Les dégâts causés aux cultures de la vigne par les insectes sont de natures diversifiées car dépendant de système de défense de la plante, et propre à chaque espèce.

Tableau1 : les symptômes et dégâts causé par les insectes ravageurs de la vigne(Galet, 1999).

Ravageurs	Espèce	Symptômes et dégâts
phylloxéra	<i>Daktulosphaira vitifoliae</i>	les symptômes de Phylloxera se présentent sous la forme de nodosités et de tubérosités.
pyrale	<i>Sparganothispilleriana</i>	Son développement au vignoble en foyers peut entraîner l'affaiblissement des ceps touchés et provoquer un mauvais aoûtement des bois. Des attaques répétées sur les mêmes ceps peuvent entraîner leur mort à long terme.
Vers ou tordeuses de la grappe	<i>Eupoeciliaambiguella</i> <i>Lobesiabotrana</i>	une perte de récolte lorsque les populations sont importantes un risque d'installation et de développement de pourriture grise, et ce d'autant plus que les conditions climatiques sont humides ; un risque de pourriture acide (drosophiles) favorisée par les blessures occasionnées par les vers, dans les zones sensibles.
Cicadelle des grillures	<i>Empoascavitis</i>	Les piqûres entraînent le rougissement ou le jaunissement du limbe des feuilles et provoquent une «grillure» du feuillage partant de l'extérieur des feuilles et progressant vers l'intérieur. Ce phénomène perturbe l'activité photosynthétique. Une attaque sévère entraîne une perte importante de taux de sucre et donc de degré alcoolique final.
Cicadelle de la flavescence dorée	<i>Scaphoideus titanus</i>	rougissement sur cépage rouge, jaunissement sur cépages blancs -un bois mal ou non aoûté, une mortalité des inflorescences ou un flétrissement des baies.

Chapitre I : Introduction bibliographique

Coléoptères	<i>Altica lythri</i> <i>Sinoxylon sexdentatum</i> <i>Peritelus sphaeroides</i> <i>Byctiscus betulae</i> <i>Agrilus derasofasciatus</i> <i>Otiorhynchussulcatus</i> <i>Opatrum sabulosum</i>	se nourrissent la matière végétales en décomposition.
-------------	---	---

2.2. Microorganismes pathogènes de la vigne

Les micro-organismes pathogènes sont des champignons, bactéries ou virus affectant la productivité et la longévité des vignobles.

Tableau 2 : les symptômes et dégâts causés par les microorganismes pathogènes de la vigne(Galet, 1999).

	maladies	Agent causal	Symptôme et dégât
Maladies virales	court- noué	- L'ArMV (Arabic mosaic virus) - GFLV (Grapivine fanleaf virus)	des décolorations de couleur jaune à la surface des feuilles parfois accompagnées d'un développement anomal des nervures (Galet, 1977).
	l'enroulement de la vigne	GLRaV (Grapevine leafroll-associated virus)	les feuilles infectées prennent une couleur jaune ou rouge selon les cultivars la maturation des fruits est retardée.
maladies bactériennes	la maladie de Pierce	<i>xylellefastidiosa</i>	Les feuilles deviennent jaunes et brunes puis tombent et les rameaux meurent également. Après 1 à 5 ans, la vigne elle-même meurt.
	La galle du collet	<i>Agrobacteriumvitis</i>	dépérissement de la plante
Maladies cryptogamique	Mildiou	<i>Plasmopara viticola</i>	l'apparition sur les feuilles de ce qu'on appelle la <i>tache d'huile</i> . Les tissus touchés par la tâche se dessèchent
	oïdium	<i>Erysiphe necator</i>	Apparition d'un feutre blanc poudreux et peu épais généralement sur la face inférieure de la feuille les baies prendront une coloration gris cendré pour rapidement se recouvrir de spores, leur donnant une apparence

Chapitre I : Introduction bibliographique

	Pourriture grise	<i>Botrytis cinerea</i>	Sur les feuilles : taches brunâtres à rougeâtres, ayant l'aspect de feuille brûlée, parfois couvert d'un feutrage grisâtre Sur les grains de raisin : les contaminations se font surtout après la véraison ; les grains brunissent et pourrissent en se recouvrant d'efflorescences grises.
Maladies du bois	Esca propre	<i>Phaeomoniellachlamydospora</i> <i>Phaeoacremoniumaleophilum</i> <i>Fomitiporiamediterranea</i>	Au niveau du bois, des coupes transversales du cep montrent une zone centrale claire et molle entouré d'une zone brune dure et sombre
	eutypiose	<i>Eutypalata</i>	rabougrissement de la végétation, jaunissement des feuilles, nécroses sur les troncs
	Dépérissement à <i>Botryosphaeriaceas</i>	<i>Botryosphaeria</i> sp.	Des taches foliaires. Réduction de vigueur. croissance réduite de jeunes pousses. Dépérissement du cep.

2.3. Maladies du bois

Selon Larignon (2012) les maladies du bois sont considérées comme très dommageables pour la pérennité du patrimoine viticole car les champignons responsables de ces maladies attaquent les organes pérennes de la vigne, provoquant à plus ou moins long terme la mort du cep. Les maladies les plus significatives sont l'eutypiose, l'esca et les dépérissements à *Botryosphaeriaceae* (Mugnai et al., 1999 et Bertsch et al. 2013).

2.3.1. Esca

Cette pathologie est la plus ancienne des maladies décrites chez la vigne. L'esca met en jeu un complexe fongique de plusieurs agents pathogènes dont les principaux sont : *Fomitiporiamediterranea* (Fischer & Kassemeyer, 2003), *Phaeomoniellachlamydospora* (Crous & Gams, 2000) et *Phaeoacremoniumaleophilum* (Crous et al., 1996).

- **Symptômes**

La maladie de l'esca se présente principalement sous deux formes : celle dite lente et celle dite foudroyante ou apoplectique. Les symptômes foliaires associés à la forme lente se caractérisent par des décolorations foliaires spécifiques: les tâches internervaires sont jaunâtres chez les

cépages blancs et elles sont bordées de rouges chez les cépages noirs, les nervures restant vertes. Ces tâches évoluent progressivement vers un brunissement et un dessèchement. Les symptômes foliaires peuvent être visibles une année sur un cep et disparaître l'année suivante (Maher et al., 2012). La forme dite apoplectique se manifeste par un dessèchement des organes aériens, rameaux, feuilles et grappes, d'une partie ou de la totalité du cep de vigne (Surico et al., 2006).

2.3.2. Eutypiose

L'eutypiose est l'une des plus récentes maladies identifiées sur vigne. Cette maladie de dépérissement est causée par *Eutypalata* (Carter, 1991). Elle a été signalée dans la plupart des grands pays viticoles du monde. D'après Paillassa et al. (1992) Son incidence et sa sévérité fluctuent en fonction des régions, elles semblent étroitement liées à :

- La pluviométrie qui régit l'humectation du bois et donc la formation des périthèces
- La sensibilité des cépages
- La rigueur dans l'application des mesures prophylactiques.

• Symptôme

Elle se manifeste par le rabougrissement des rameaux, qui présentent des feuilles chlorotiques, crispées, déchiquetées avec des nécroses marginales qui peuvent se généraliser sur l'ensemble du limbe (Moller et Kasimatis, 1978). Dans le bois, elle montre la présence d'une nécrose brune et dure en position sectorielle qui montre des rayures plus foncées (Lecomte et al., 2000).

2.4. Dépérissements à *Botryosphaeria*

Selon Blancard (2014) Les dépérissements à *Botryosphaeria* résultent d'une infection de plusieurs champignons dont le rôle est encore mal connu.

2.4.1. Description des champignons

Chapitre I : Introduction bibliographique

La famille des *Botryosphaeriaceae* est constituée à l'heure actuelle par au moins une dizaine de genres et 21 espèces, dont les anamorphes sont réparties dans 7 genres fongiques et sont considérées comme pathogènes sur la vigne.

Le mycélium de cette famille fongique est généralement blanc puis devient pigmenté gris-brun jusqu'à noir avec le temps.

La forme sexuée (téléomorphe) de ces champignons est très rarement rencontrée dans la nature. Les ascospores sont hyalines et aseptées dans un premier temps, elles bruniront légèrement en secloisonnant éventuellement en vieillissant.

La forme asexuée (anamorphe) se matérialise par la formation aisée de pycnides. Celles-ci produisent des conidies (pycniospores) hyalines pour certaines espèces, et pour d'autres devenant brunes avec l'âge (Úrbez-Torres, 2006).

2.4.2. Taxonomie

Chez la vigne, 18 espèces réparties en 6 genres ont été décrites.

Tableau3 : Genres et espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae*.

GENRE	ESPECE	AUTEUR
LASIODIPLODIA	<i>Lasiodiplodiatheobromae</i>	Griffon & Maubl.
	<i>Lasiodiplodiacrassispora</i>	T. Burgess & Barber
	<i>Lasiodiplodiaplurivora</i>	Damm & Crous
NEOFUSICOCCUM	<i>Neofusicoccum parvum</i>	(Pennicook & Samuels)
	<i>Neofusicoccum australe</i>	(Pennycook & Samuels)
	<i>Neofusicoccum vitifusiforme</i>	(Niekerk & Crous)
	<i>Neofusicoccum viticlavatum</i>	(Niekerk & Crous)
	<i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	Crous, M.J. Wingf. & A.J.L. Phillips
DIPLODIA	<i>Diplodia seriata</i>	Shoemaker
	<i>Diplodia mutila</i>	Shoemaker
	<i>Diplodia corticola</i>	Phillips, Alves et Luque
FUSICOCCUM	<i>Fusicoccomaesculi</i>	Mough
DOTHIORELLA	<i>Dothiorellaviticola</i>	Phillips & J. Luque
	<i>Dothiorellaiberica</i>	Phillips, J. Luque & A. Alves
	<i>Dothiorellasarmentororum</i>	Phillips, J. Luque & A. Alves
	<i>Dothiorellaquercina</i>	Schwein
PHAEOBOTRYOSPHAERIA	<i>Phaeobotryosphaeriaporosa</i>	Niekerk & Crous

2.4.3. Biologie, épidémiologie

Les différents champignons de cette famille botanique se conservent sur et dans le bois de vigne, sous la forme de pycnides essentiellement et/ou de périthèces quand le téléomorphe est formé. Les plants de vigne peuvent constituer des sources d'inoculum (Phillips et al., 2013).

- **Sporulation, dissémination**

Durant les périodes humides et pluvieuses, des spores sont produites dans les pycnides et expulsées sous la forme de cirrhes gélatineux ; elles viennent après polluer les organes aériens de la vigne à la suite de projection d'eau sur de courtes distances. Rappelons que ces champignons peuvent être disséminés par les plants de vigne (Úrbez-Torres, 2011).

- **Pénétration dans la plante et invasion de l'hôte**

Les *Botryosphaeriaceae* pénètrent la vigne surtout par les blessures réalisées au cours de la taille ou du greffage. Les plaies de taille sont réceptives à ces champignons durant de nombreux jours, voire plusieurs mois en fonction de la période de l'année et de la zone géographique de production. Par la suite ils colonisent le bois. Ils y demeurent à l'état d'endophyte ou de pathogènes latents, ou développent leur parasitisme consécutivement à des stress biotiques ou abiotiques encore mal connus (Blancard et Lecomte, 2014).

- **Conditions favorables**

Les conditions climatiques affectent clairement l'incidence, la distribution et l'épidémiologie de ces champignons. La sporulation, et en particulier la dispersion des spores sont fortement influencées par l'humidité relative, mais surtout par la pluie et l'irrigation par aspersion. La température influence moins ces composantes du cycle biologique des *Botryosphaeriaceae*. La sporulation peut se produire aussi bien en périodes hivernales qu'estivales (Úrbez-Torres et al. 2006).

2.4.4. Principaux symptômes

Chapitre I : Introduction bibliographique

Les *Botryosphaeriaceae* provoquent sur la vigne des symptômes variés fluctuant en fonction des espèces fongiques et des zones de production dans le monde. Elles sont responsables de nombreux symptômes sur cette plante : des taches foliaires, des pourritures sur fruits, des mortalités de pousses et de bourgeons, des lésions vasculaires et des chancres sur rameaux et sur troncs. Certaines d'entre-elles sont étudiées et redoutées depuis de nombreuses années comme par exemples *Guignardia bidwellii* responsable du black rot, et *Neofusicoccum parvum* associé à des symptômes d'excoriose. D'autres, longtemps perçues comme saprophytes ou pathogènes de faiblesse, ont été et/ou sont maintenant considérées comme des agents de lésions et de chancres sur le tronc et les rameaux (Blancard et Lecomte, 2014).

Des lésions longitudinales et sectorielles, s'initiant ou non à partir de blessures (plaies de taille, craquelures, plaies d'épamprage, désordres vasculaires liés à l'esca...), sont visibles dans le bois (figures 7).

D'autres symptômes sont associés aux dépérissements à *Botryosphaeriaceae* : réduction de vigueur, croissance réduite de jeunes pousses, chlorose foliaire, nécroses et mortalités de bourgeons, retard de débourrement, blanchiments d'écorce ou décolorations de rameaux (Úrbez-Torres et al. 2006).

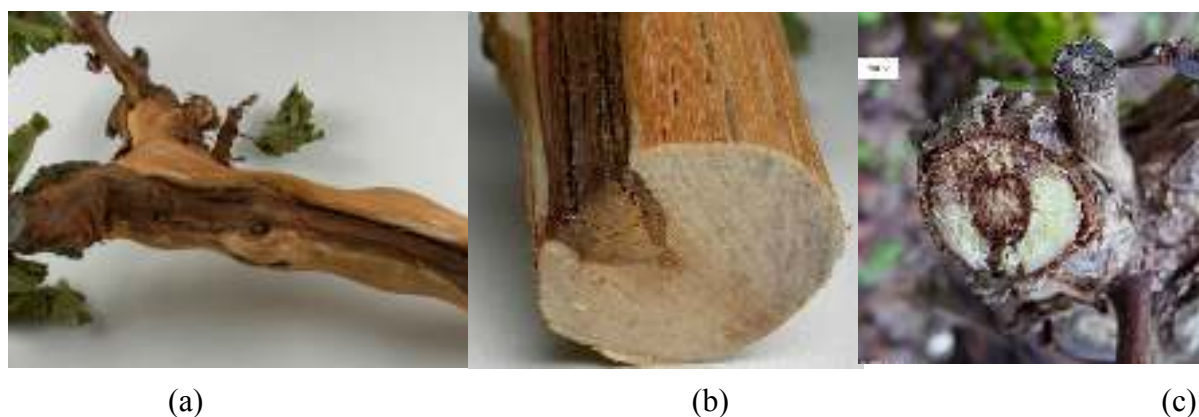


Figure 5: a) Lésion sectorielle dans laquelle a été isolé des *Botryosphaeriaceae*, b) Détail d'une lésion sectorielle à *Botryosphaeria*, c) Chancre sectoriel à *Botryosphaeria* sur bois d'un an (Úrbez-Torres, 2011).

3. Les stratégies de lutte contre les maladies de la vigne

Depuis le retrait de l'homologation de l'arsénite de soude du marché Européen en 2001, aucune solution de remplacement efficace et économiquement acceptable n'a été proposée à la profession. Néanmoins des solutions préventives émergent afin de limiter la propagation de ces agents et l'incidence de ces maladies en pépinière et au vignoble (Bertsch et al., 2009).

3.1. Lutte préventive

Des pratiques visant à limiter les sources en inoculum au vignoble par le ramassage et la destruction des bois de tailles et des organes contaminés, ont été proposées (Fouriet Halleen, 2004). D'autres approches prophylactiques, comme la méthode de « double-taille », ont été proposées pour le contrôle de la formation de chancres dus aux *Botryosphaeria* spp. et à *Eutypalata* en Californie (Úrbez-Torres and Gubler, 2009). Cette méthode vise à différer le temps d'exposition des plaies réalisées à proximité du tronc à l'inoculum. Une première taille longue a lieu à la fin de l'hiver et une seconde, sélective, au début de la période végétative. L'utilisation de fongicide en spray associée à cette méthode de taille semble permettre d'assurer un contrôle efficace de la formation de chancre (Gubler et al., 2010). L'utilisation de système de conduite ne générant pas de plaies de taille importante sur le trajet de sève, comme la taille Guyot-Poussard, semble limiter l'installation de ces champignons par rapport aux systèmes de taille traditionnels (Úrbez-Torres and Gubler, 2009).

3.2. Lutte thermique

La seule méthode curative disponible à l'heure actuelle est le traitement des bois de multiplication à l'eau chaude. Cette méthode consiste à immerger les sarments dans un bain d'eau à 50°C pendant 30 minutes (protocole standard). Cette pratique semble être la plus efficace lorsqu'elle est réalisée sur les sarments avant greffage ou sur les plants greffés-soudés en dormance après leur élevage. La balance optimale entre le temps et la température du traitement sur le contrôle des agents pathogènes et le taux de reprise des plants a fait l'objet de recherches détaillées (Gramaje and Armengol, 2011).

Cependant certaines observations indiquent que le protocole standard est susceptible d'induire une baisse significative du taux de reprise des plants (Bleach, Jones, and Jaspers, 2009; Habib et al., 2009) et de ne pas être effectif sur le contrôle des agents pathogènes (Habib et al., 2009; Serra et al., 2009). D'autres travaux récents menés sur l'utilisation de traitement au-dessus de

50°C (53°C) pendant 30 minutes indiquent que l'effet curatif de ce dernier est supérieur, sans pour autant générer une réduction du taux de reprise des plants (Gramaje et al., 2009).

3.3. Biocontrôle

Les produits de bio-contrôle représentent un ensemble d'outils à utiliser, seuls ou associés à d'autres moyens de protection des plantes, pour la protection intégrée telle qu'elle figure dans l'approche européenne. Les canadiens parlent de « l'éco-gestion des insectes, des mauvaises herbes et des maladies des plantes ». On distingue 4 principaux types d'agents de bio-contrôle :

- Les macroorganismes auxiliaires (ou l'agresseur-agressé) sont des invertébrés, insectes, acariens ou nématodes utilisés de façon raisonnée pour protéger les cultures contre les attaques des bio-agresseurs.
- Les micro-organismes (ou l'agresseur maîtrisé) sont des champignons, bactéries et virus utilisés pour protéger les cultures contre les ravageurs et les maladies ou stimuler la vitalité des plantes.
- Les médiateurs chimiques comprennent les phéromones d'insectes et les kairomones. Ils permettent le suivi des vols des insectes ravageurs et le contrôle des populations d'insectes par la méthode de confusion sexuelle et le piégeage.
- Les substances naturelles utilisées comme produits de bio-contrôle sont composées de substances présentes dans le milieu naturel et peuvent être d'origine végétale, animale ou minérale (Jacques, 2014).

3.3.1. Les avantages du biocontrôle

Dans le cadre d'une agriculture durable, l'intégration des moyens de biocontrôle dans les programmes de protection intégrée permet

- Un haut niveau de protection des cultures et des récoltes,
- Un maintien de la biodiversité,
- Une meilleure préservation de l'efficacité des moyens de protection chimiques utilisés,
- Une réduction des risques pour l'applicateur, phrase à revoir
- La santé des applicateurs et des personnes directement concernées par les opérations de protection des plantes
- Une diminution des risques de pollution de l'eau, l'air et des sols,
- Une meilleure protection du consommateur (moins de risques de résidus),
- Une valorisation de l'image de l'agriculture et de l'agriculteur.

4. Biocontrôle par les microorganismes

Plusieurs auteurs ont montré l'importance de l'activité antibiotique des bactéries dans la limitation de la gravité des maladies d'origine tellurique. La lutte biologique est mieux contrôlée via un antagoniste bactérien, qui va interagir directement avec l'agent pathogène et /ou indirectement c'est-à-dire avec la plante-hôte.

Plusieurs genres bactériens sont des agents de bio-contrôle anti fongique. Les bactéries les plus utilisées sont : *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas sputida*, *Erwinia herbicola*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae* et *Bacillus thuringiensis*.

4.1. Les agents antagonistes

4.1.1. Cas de *Pseudomonas* spp.

Le groupe des *Pseudomonas* fluorescents est composé de bactéries qui, dans des conditions de carence en fer, produisent un pigment jaune-vert fluorescent. La classification des *Pseudomonas* est la suivante :

Règne: *Bacteria*
Division : *Proteobacteria*
Classe: *Gammoproteobacteria*
Ordre: *Pseudomonadales*
Famille: *Pseudomonadaceae*
Genre : *Pseudomonas*

De nombreuses publications concernent des essais réalisés en serre ou au champ qui montrent l'intérêt potentiel des *Pseudomonas* fluorescent non pathogènes en tant qu'agent de lutte biologique contre les pathogènes responsables de maladies des plantes (Whipps, 2001 ; Weller et al ., 2002). Différents mécanismes, agissant seuls ou en combinaison, ont été avancés pour expliquer comment ces *Pseudomonas* fluorescents sont capables de réduire la gravité de ces maladies par la simple occupation des sites d'infection potentielle par colonisation de la rhizosphère, empêchant ainsi la croissance des pathogènes. La production de métabolites inhibiteurs de la croissance des pathogènes. La stimulation des mécanismes de résistance de l'hôte vis-à-vis des agents pathogènes. La colonisation de la rhizosphère susceptible exercée par une protection contre les maladies du sol apparaît liée à un processus d'antagonisme, ou comme

Chapitre I : Introduction bibliographique

un préalable à l'expression de facteurs responsables de l'antagonisme (antibiose, stimulation de la résistance), ce phénomène de colonisation se fait en trois étapes :

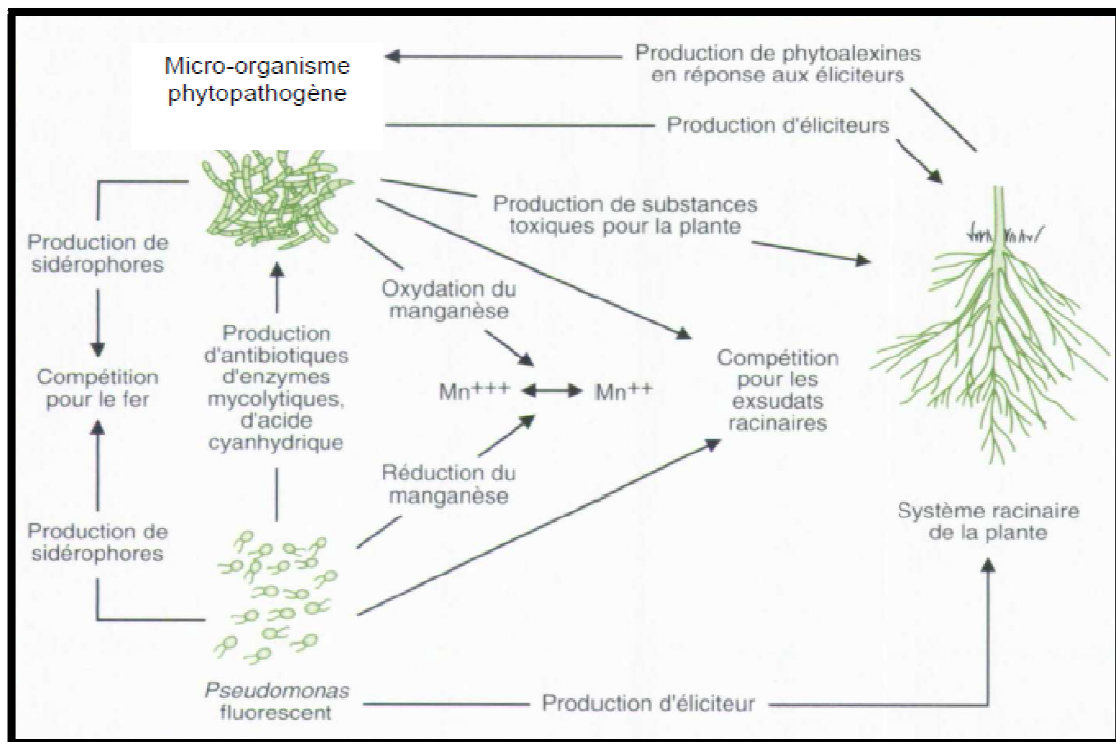
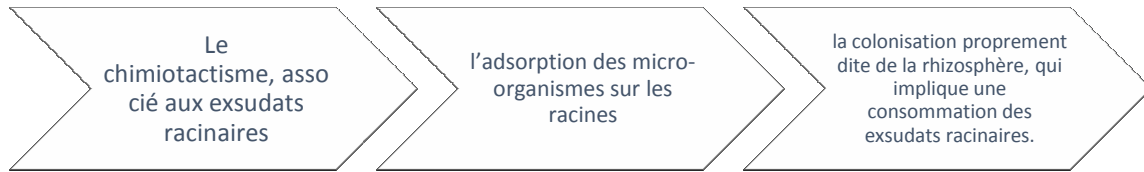


Figure 6 : Interaction entre les *Pseudomonas fluorescens*, les micro-organismes phytopathogènes et les cellules racinaires (Jacque et al., 1993).

4.1.2. Cas de *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis est une bactérie catalase-positve que l'on trouve habituellement dans le sol, mais c'est surtout une espèce ubiquitaire. Elle appartient au genre *Bacillus*, c'est une bactérie Gram⁺, l'espèce de *B. subtilis* est classée comme suit:

Règne	<i>Bactérie</i>
Embranchement	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>

Chapitre I : Introduction bibliographique

Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Bacillaceae</i>
Genre	<i>Bacillus</i>
Espèce	<i>Bacillus subtilis</i>

Sa longueur varie de 2 à 4 μm et sa largeur de 0,5 à 2 μm . Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. Elle est mobile grâce à une ciliature péritriche. Elle est aérobic strict, espèce mésophile et son type trophique est chimiohétérotrophe. Son temps de génération est d'environ 26 minutes (Forsyth, Logan et De Vos, 1998).

Bacillus subtilis est capable de survivre dans des conditions extrêmes, révélant une adaptation très ancienne (Logan et De Vos, 1998).

B. subtilis produit des molécules qui démontrent un effet antifongique, tel que bacilysin inhibe la croissance de la levure, également fengimicina montre une activité contre les champignons filamenteuse (Loeffler et al., 1986). Et la protéine bacisubina présente une activité inhibitrice de la croissance de *Magnaporthe grisea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria oleracea*, *A. brassicae* et *Botrytis* (Yongfeng et al., 2007).

4.2. Mécanismes de PGPR

Les PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) sont la plupart des souches bactériennes exploitées comme biopesticides appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas* (Haas et Defago 2005). Les rhizobactéries favorisent la croissance des plantes, stimulent directement la croissance de celles-ci en augmentant le prélèvement des éléments nutritifs du sol, en induisant et produisant des régulateurs de croissance végétale et en activant les mécanismes de résistance induite chez les végétaux (Radelas et al.). Les PGPR stimulent indirectement la croissance des végétaux par leur effet antagoniste sur la microflore qui leur est néfaste, en transformant les métabolites toxiques et en stimulant la nodulation des légumineuses par les rhizobia. Les effets antagonistes des PGPR impliquent la production d'antibiotiques et la compétition nutritionnelle avec les pathogènes végétaux (Kloepper et al., 1980). L'utilisation des PGPR marquées avec des gènes de bioluminescence permet de visualiser le processus de colonisation racinaire. Suite à l'apparition des exsudats de la semence, l'inoculum bactérien se multiplie, puis les bactéries sont transportées passivement par la racine en développement, hors de la zone d'influence de la semence. Par la suite, les PGPR

Chapitre I : Introduction bibliographique

continuent de se multiplier grâce aux exsudats racinaires et persistent sur les racines. Plusieurs compagnies développent actuellement des inoculants contenant des PGPR, surtout afin de réduire l'utilisation des pesticides de synthèse en agriculture (Peypoux et al. 1999).

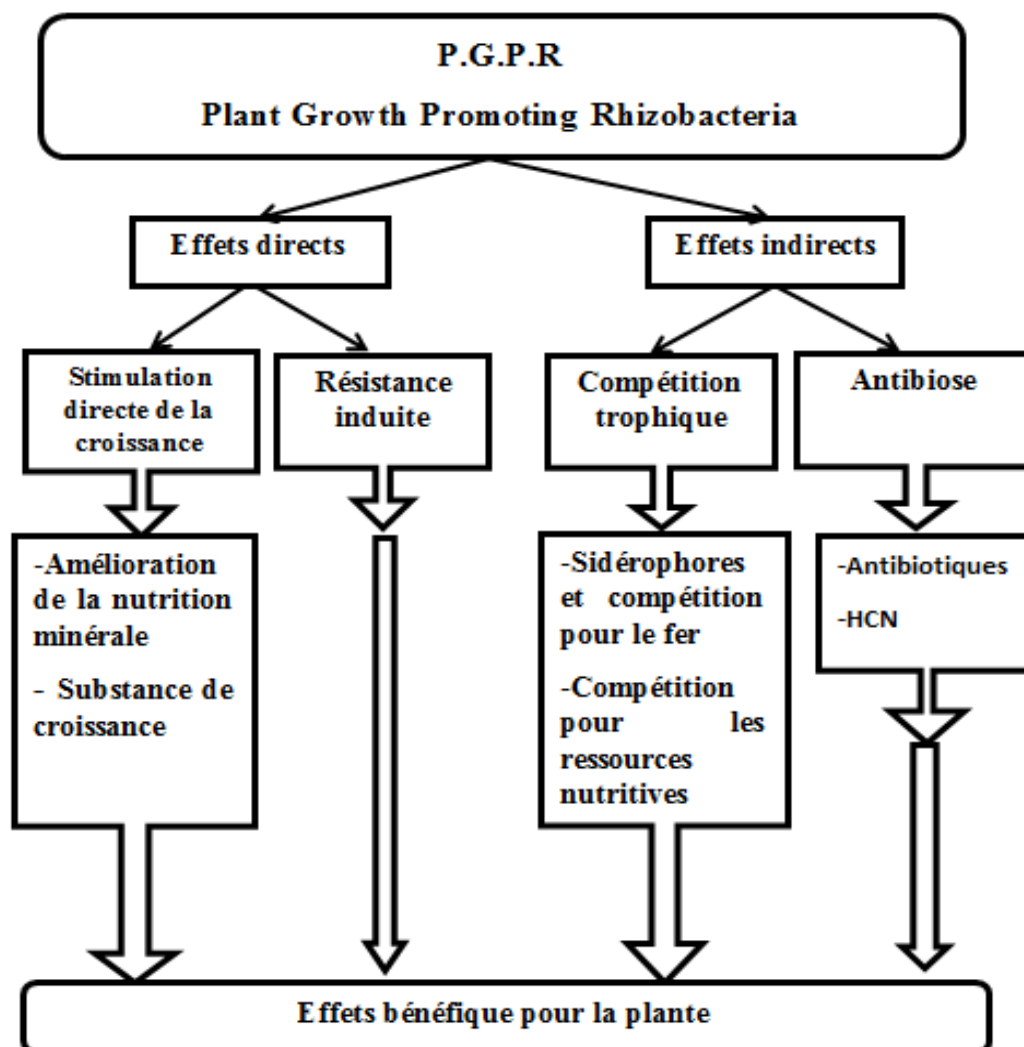


Figure 7 : Les principaux mécanismes d'action des P.G.P.R (Mattar, 1993)

Notre expérimentation a été réalisée au niveau du Laboratoire de Microbiologie du Département des Biotechnologies de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Blida 1.

Le présent travail a pour objectif d'une part de mettre en évidence l'effet antagoniste de deux bactéries à savoir *Pseudomonas* spp. et *Bacillus subtilis* à l'égard de deux espèces fongiques pathogènes : *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum* et d'autre part l'étude de l'effet phytostimulateur de ces deux souches antagonistes sur les rameaux de vigne (*Vitis vinifera*).

I. Matériel biologique

1. Souches fongiques

Avant d'aborder les différents essais, il convient de présenter l'origine des souches phytopathogènes. Elles ont été isolées par Dr. Berraf-Tebbal et identifiées au laboratoire de microbiologie de l'université Nova de Lisboa (Portugal) (Tab.4).

Tableau 4: Caractéristique des souches fongique.

Souche	Origine	Référence
<i>Dilodia seriata</i>	<i>Vitis vinifera</i>	Berraf-Tebbal, 2013
<i>Neofusicoccum parvum</i>	<i>Vitis vinifera</i>	BerrafTebbal et al., 2014

2. Souches bactériennes

Deux souches bactériennes ont été utilisées : la souche Ps de *Pseudomonas* spp. et *Bacillus subtilis* appartenant à la collection du Laboratoire de Microbiologie du Département des Biotechnologies de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV).

1.3.Purification des souches bactériennes

La pureté des souches bactériennes a été vérifiée sur le milieu King B (KB) pour *Pseudomonas* spp. et sur la gélose nutritive (GN) pour *Bacillus subtilis*. Après incubation à 25°C pendant 24 h, les cultures ont été repiquées plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'aspects culturels purs et spécifiques aux deux espèces.

2. Confirmation de l'identification:

Afin de s'assurer de la pureté des souches fongiques déjà identifiées, des études macroscopiques et microscopiques ont été réalisées.

2.1.Etude macroscopique

L'identification a été faite à l'œil nu. Elle s'est basée essentiellement sur les caractères suivants : la vitesse de croissance, l'aspect du mycélium aérien, couleur de la colonie, l'odeur des colonies et la couleur des conidies.

2.2.Etude microscopique

Cette étude nous permet de reconnaître les caractéristiques des champignons tel que : hyphes, conidiophores, cellules conidiogènes, conidies et les fructifications.

3. Essais d'antagonisme *in vitro*

3.1.Confrontation directe sur les boîtes de Pétri

L'évaluation du phénomène d'antagonisme a été réalisé sur trois milieux de culture (PDA, GN, et King B) par confrontation directe de deux souches bactériennes antagonistes : *Pseudomonas* spp. et *Bacillus subtilis* avec deux isolats fongiques : *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum*.

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, des disques mycéliens de 0,5 cm de diamètre de l'agent pathogène ont été prélevés et déposés au milieu de la boîte de Pétri, contenant le milieu nutritif et à l'aide de l'anse stérile, la bactérie antagoniste a été ensemencé sous forme d'un trait à 1,5 des deux extrémités de la boîte de Pétri (fig10).

Chaque souche bactérienne est confrontée au champignon pathogène à raison de quatre répétitions.

Le témoin est constitué seulement de disques mycéliens de 0.5 cm de diamètre de l'agent pathogène incubés dans des boites de Pétri contenant chacune un milieu de culture (PDA, GN, et King B).

L'incubation des boites a été faite à 28°C pendant cinq jours. La lecture des résultats consiste à mesurer la distance parcourue par le champignon en direction de l'antagoniste bactérien.

L'évolution du taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne des champignons pathogènes est estimée selon la formule suivante (Wang et al., 2002).

$$(I\%)\text{Inhibition} = (R \text{ témoin}-R \text{ test})/R \text{ témoin}.100$$

R témoin : distance radiale maximale de croissance du champignon

R test : distance radiale sur une ligne en direction de l'antagoniste.

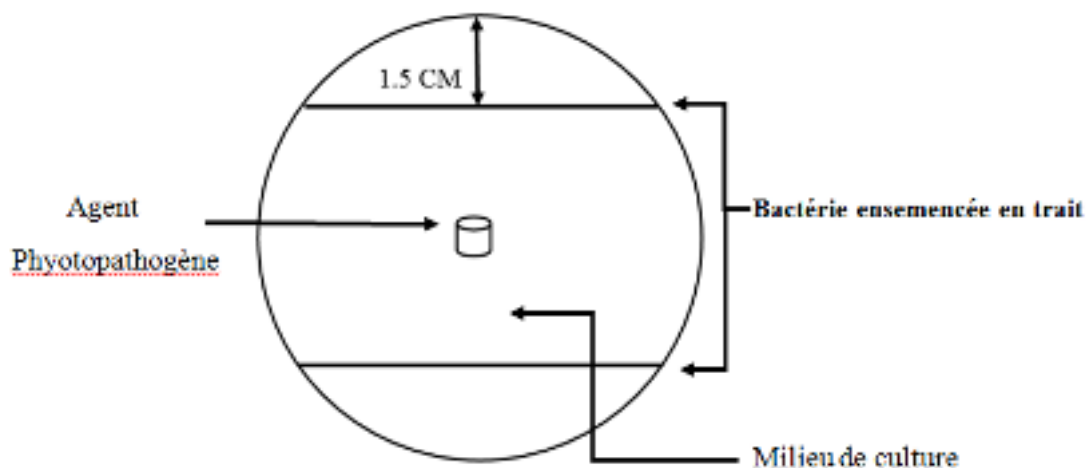


Figure 8 : Méthode de confrontation directe en boite de Pétri entre les souches bactériennes et l'agent phytopathogène.

3.2.Reprise des implants

A la fin des confrontations, chaque implant a été remis sur les deux milieux de culture GN et King B, afin de confirmer l'activité antagoniste de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. sur les agents pathogènes (*D. seriata* et *N. parvum*). La reprise ou non de la colonie est notée.

4. Essais d'antagonisme *in situ*

Le test d'antagonisme *in situ* a été réalisé avec les deux bactéries antagonistes (*B. subtilis* et *Pseudomonas* spp.) vis-à-vis des isolats pathogènes (*Diplodia seriata*, et *Neofusicoccum parvum*). Ce test a été réalisé sur des boutures de vigne *vitisvinifera* (variétés : Alphonse Lavallée et Cardinal).

La méthodologie utilisée est inspirée de celle utilisée par Moral, et al. (2010) pour confirmer l'action inhibitrice des agents antagonistes sur la pathogénicité des *Botryosphaeriaceae* associées au dépérissement de la vigne.

Des boutures de 14 à 18 cm de long et de 10 à 15 mm de diamètre, ont été prélevées à partir des deux variétés de vigne. L'essai a été réalisé sur un ensemble de 130 boutures. Dix répétitions ont été réalisées pour chaque témoin et pour chaque bouture traitée.

Pour chaque bouture, la surface de l'écorce a été désinfectée avec de l'éthanol au point d'inoculation situé au milieu de chaque bouture. A l'aide d'un scalpel, des incisions ont été réalisées pour enlever l'écorce (fig. 11a).

Des pastilles de 10 mm de diamètre de mycélium de chaque isolat ont été prélevées en utilisant une pipette Pasteur puis déposées avec l'antagoniste au niveau des incisions. Dix répétitions par isolats ont été effectuées (fig. 11b).

Après inoculation, les incisions ont été enveloppées avec du coton stérile humide puis scellées avec du parafilm. Les boutures ont été incubées dans des pots contenant de l'eau distillée stérile (fig. 11c). Afin d'éviter le dessèchement, les boutures ont été enveloppées avec des sachets en plastiques durant 04 à 05 jours. Les témoins ont été inoculés avec seulement des pastilles des isolats fongiques.

Les boutures ont été examinées après cinq semaines d'incubation. Pour chaque bouture, la longueur et la largeur de la lésion ont été mesurées (fig.11d).

Cet essai a été réalisé sur un ensemble de 130 boutures, dix répétitions ont été réalisées pour chaque témoin et chaque bouture traitée, et 10 pour tester l'effet synergique de deux bactéries réalisé uniquement pour une seule variété (Alphonse-Lavallée) et un seul champignon (*N. parvum*).

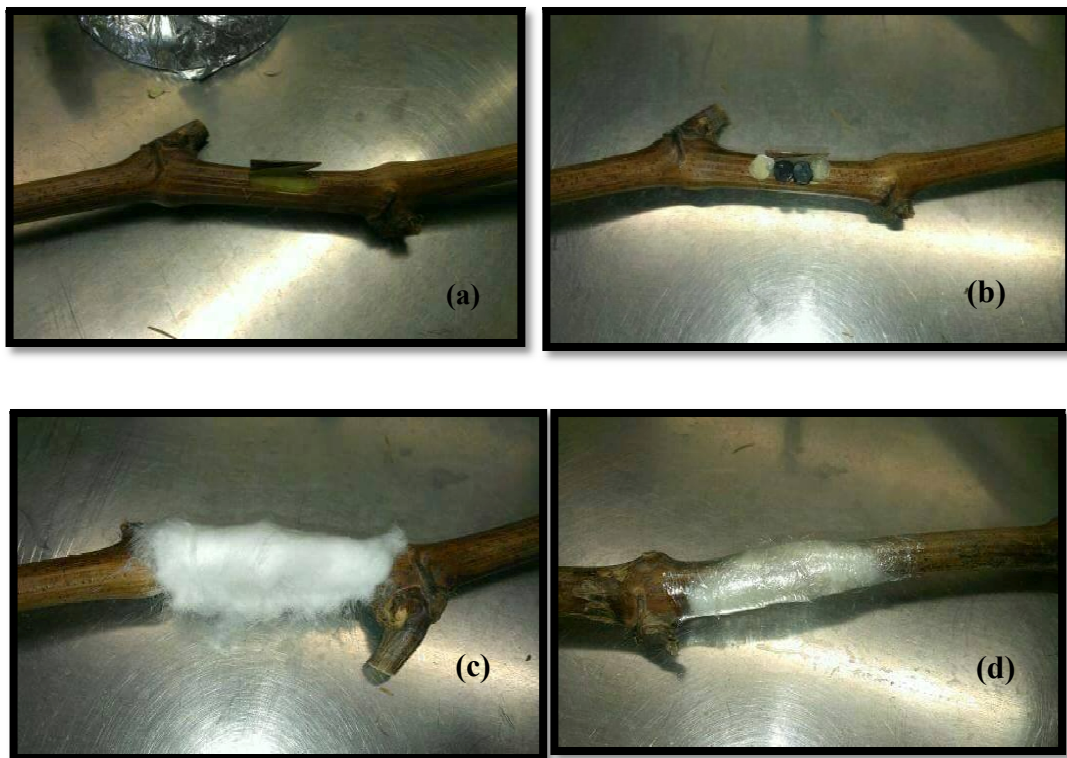


Figure 9:a) Incision de la bouture à l'aide d'un scalpel. b) Inoculation des mycéliums pathogènes et antagonistes. c) Incisions enveloppées avec du coton stérile humide. d) Incisions scellées avec du parafilm.

Afin de confirmer l'effet antagoniste simultané des deux bactéries, *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. vis-à-vis de *Neofusicoccum parvum*, nous avons testé les deux bactéries en même temps avec le champignon sur 10 boutures de la variété de vigne, Alphonse-Lavallée.





































































Nous avons procédé de la même façon que précédemment. Des disques mycéliens de 10 mm de diamètre de chaque isolat ont été prélevés. Pour chaque bouture, trois disques ont été placés à savoir : celui des deux antagonistes et du pathogène. Les boutures ont été incubées dans des pots contenant de l'eau distillée stérile.

5. Essais de promotion de croissance

Pour évaluer les effets de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. sur la phytostimulation des boutures des vigne des deux variétés (Alphonse-Lavallée et Cardinal), nous avons réalisé un traitement avec ces deux bactéries par des incisions assez profondes à l'aide d'un scalpel. Des disques de 10 mm de gélose contenant de la crème bactérienne de chaque isolat ont été déposés sur les incisions. L'ensemble a été enveloppé avec du coton stérile humide puis scellé avec du parafilm. Les boutures ont été incubées dans des pots contenant de l'eau distillée stérile pendant cinq semaines.

Cet essai a été réalisé sur un ensemble de 50 boutures, soit 20 boutures pour chaque bactérie et 10 boutures pour tester l'effet synergique de deux bactéries sur la variété Alphonse-Lavallée (Tab.6).

Tableau 6: Dispositif de travail

Bloc 1				Bloc 2			
T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
							
							
							
							
							
							
							
							
							
							

T1 : Témoin négatif (eau distillée).

T2 : Traitement avec *Pseudomonas* spp.

T3 : Traitement avec *Bacillus subtilis*.

T4 : Traitement avec *Pseudomonas* spp. et *Bacillus subtilis*.

5.1. Paramètres de croissance

Nous avons mesuré les paramètres de croissance relatifs au développement de la partie aérienne et racinaire.

Chaque paramètre a été évalué sur chaque bouture de chaque traitement. Ces paramètres de croissance ont été mesurés et pesés après la 5^{ème} semaine de l'inoculation des boutures.

5.1.1. Hauteur des tiges

La hauteur des tiges a été mesurée à l'aide d'un mètre ruban à partir du collet, jusqu'au sommet de la tige principale.

5.1.2. Longueur du système racinaire

Pour chaque bouture, la longueur racinaire est mesurée à partir de la fin de l'extrémité basale du collet jusqu'à l'extrémité du chevelu racinaire en utilisant une règle graduée.

5.2. La phytomasse

5.2.1. Poids frais et poids sec de la partie aérienne

L'ensemble des boutures a fait l'objet de mensuration. Chaque bouture a été coupée au niveau du collet et pesé immédiatement pour éviter les pertes dues à la déshydratation. Une fois le poids frais est noté, le plant est mis dans un sachet en papier et déposé dans le four Pasteur à 120°C pendant 24h pour déterminer son poids sec.

5.2.2. Poids frais et poids sec de la partie racinaire

Après dépotage, les racines ont été soigneusement écartées et le poids frais noté. Le poids sec a été déterminé de la même façon que pour la partie aérienne.

6. Les analyses statistiques

(SYSTAT vers. 12, SPSS 2009) ce type d'analyses statistiques a été basée sur l'analyse de la variance enregistrées dans les traitements. Dans le cas de différences significatives, la comparaison des traitements est établie par GLM (General Linear Model). Les différences sont considérées significatives à $P < 0.05$.

Conclusion

Notre présent travail a permis de mettre la lumière sur l'importance du biocontrôle par les microorganismes, afin de réduire l'utilisation des produits chimiques sur les vignobles contre les agents phytopathogènes. Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer l'effet antagoniste de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. à l'égard de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum*, agents du dépérissement de la vigne.

L'essai d'antagonisme *in vitro* de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. vis-à-vis de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum* a montré une activité fongistatique sur les deux milieux de culture (King B et GN), et une absence totale de l'activité antagoniste sur le milieu PDA. En effet, ces deux bactéries antagonistes ont les mêmes performances sur l'inhibition de croissance mycélienne des agents phytopathogènes.

Pour une meilleure illustration de ces effets fongistatiques, nous avons procédé à un essai d'antagonisme *in vivo*, il apparaît que l'effet antagoniste est variable selon l'agent phytopathogène (*Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum*) et la variété de la vigne.

A partir de cette étude, nous avons remarqué que la variété de la vigne Alphonse – Lavallée est plus résistante que la variété Cardinal. Pour le cas des souches bactériennes antagonistes, seul *Bacillus subtilis* a pu réduire les nécroses causés par *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum*.

Dans cette étude, l'application de l'association de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. a abouti à un effet synergique représenté par une importante inhibition de la croissance mycélienne des agents phytopathogènes, cette activité antagoniste a été enregistrée significative ($p=0.005$; $p< 0,1\%$) vis-à-vis de *N. parvum* sur les boutures de la variété Alphonse Lavallée.

A travers les résultats obtenus, nous avons trouvé que *Neofusicoccum parvum* est plus pathogène par rapport à *Diplodia seriata*. *Neofusicoccum Parvum* est l'une des espèces de *Botryosphaeriaceae* les plus virulentes sur la vigne dans le monde entier (Phillips, 2002 ; van Niekerk et al., 2004; Urbez-Torres et Gubler, 2009).

CONCLUSION

L'étude de l'essai de promotion de croissance de la plante, les souches de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. utilisées, n'a montré aucun effet positif de phytostimulation sur les deux variétés de vigne Alphonse-Lavallée et Cardinal.

Enfin, bien qu'il s'agisse d'un domaine de recherche assez récent par rapport à la lutte chimique, nous pensons que des possibilités de lutte biologique s'étendront aux différents types de cultures et espèces végétales. D'ailleurs, plusieurs auteurs (Akkopru et Demir, 2005 ; He et al., 2006), estiment qu'elle sera appelée dans un temps proches à jouer le rôle d'un fongicide, puisque dans plusieurs cas, le contrôle de leur application devient souvent difficile, parfois impraticable (Sedra et Maslouhy, 1995 ; Snissi et al., 2006).

S'il est bien vrai que la sélection des agents antagonistes est une des principales voies à nous fournir des agents biologistes efficaces, il est certain aussi qu'elle sera la seule à nous fournir des agents antagoniste et hautement compétiteurs, les résultats des essais que nous avons réalisés confirment la nécessité de continuer à effectuer des tests de pouvoir antagonistes et de sélection d'agents de biocontrôle au laboratoire, puis à petite échelle les compléter par d'autres méthodes plus perfectionnées. Ainsi, une collection d'agents plus ou moins antagonistes serait sélectionnée tout en étant d'origines différentes, adaptées au milieu, pour obtenir à la fin une banque d'agent performant, susceptibles d'être incorporés dans les travaux de lutte biologique.

Pour lutter contre les bio-agresseurs, il faut introduire le bon auxiliaire, au bon moment et à la bonne dose. Cependant, un bon antagoniste défini dans des conditions expérimentales doit posséder certaines propriétés pour être dans la lutte biologique à grande échelle :

- aptitude à la colonisation de la rhizosphère et à la conservation.
- propriété technologique, telle que la multiplication facile de l'antagoniste.
- propriété toxicologique : indemne de pathogénéité pour l'homme, les animaux et les végétaux traités et ne présentant pas de risque lors de sa préparation.
- et une propriété agronomique, l'utilisation de l'antagoniste doit pouvoir s'inscrire dans un itinéraire technique aboutissant à la meilleure stratégie visant à associer la

CONCLUSION

lutte biologique à une lutte chimique ou à une amélioration des plantes (Fernandes, 2005).

En ce qui concerne notre travail, il reste à identifier la nature chimique des substances antibiotiques mises en jeu dans le phénomène d'antibiose vis-à-vis du champignon phytopathogène. La mise en évidence et l'identification de tels composés *in vitro* sont relativement simples, mais sont par contre compliquées *in situ* en raison de leur faible concentration (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Mangenot et Diem, 1979).

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Alippi, A.M. and Monaco, C. I. (1994). In vitro antagonism of *Bacillus* spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Fusarium solani*. *Revista de la Facultad de la planta.*, 70: 91-95.

Armengol J., Vicent A., Torné L., Figueres F. G. and Jiménez J. G. 2001. Fungi associated with esca and grapevine declines in Spain : a three-year survey. *Phytopathol. Mediterr.*40. supplement, 325-329.

Benchaabane, M., Bakour, R., Toua, D., Boutekrabt, A. 2000. Mise en évidence de l'effet antagoniste de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de la tomate. *Bull OEPP/EPPO*, 30, pp.243-246. Benchaabane, M., Boutekrabt,

Berraf A. et Péros J.P., 2005. Importance de l'eutypiose et de l'esca en Algérie et structure de la communauté fongique associée. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 39. 3, 121–128.

Bertsch C, Ramirez-Suero M, Magnin-Robert M, Larignon P, Chong J, Abou-Mansour E, et al (2013) Grapevine trunk diseases: complex and sti.

Bertschinger L., Henauer U., Lemmenmeier L., Stadler W., Schumacher R., 1997. Effect of foliar fertilizers on abscission, fruit quality and tree growth in an integrated apple orchard. *Acta Horticulturae* 448: 43-50.

Carter M.V. (1991). The status of *Eutypalata* as a pathogen. *International Mycological Institute, Phytopathological Paper No. 32.* 10. Bolay A. and Carter M.V. (1985). Newly recorded hosts of *Eutypalata* (*E. armeniaca*) in Australia. *Plant Protection Quarterly* 1:10-12

Crous PW, Gams W, Wingfield MJ, VanWyk PS (1996) *Phaeoacremonium* gen nov associated with wilt and decline diseases of woody hosts and human infection *mycologia* 88:786-796

De Boer, M., Bom, P., Kindt, F., Keurentjes, J.J.B., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M. (2003) Control of fusarium wilt of radish by combining *Pseudomonas putida* strains that have different disease suppressive mechanisms. *Phytopathology* **93** : 626-632.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

De Boer, M., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C. et Bakker, P.A.H.M. (1999) Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strain to enhance suppression of *Fusarium* wilt of radish. *European Journal of Plant Pathology* **105** : 201-210.

De Boer, W., Wagenaar, A.-M., Klein Gunnewiek, P.J.A. et Van Veen, J.A. (2007) *In vitro* suppression of fungi caused by combinations of apparently non-antagonistic soil bacteria. *FEMS Microbiology Ecology* **59** :177-185.

Dunne, C., Moenne-Loccoz, Y., McCarthy, J., Higgins, P., Powell, J., Dowling, D.N. et O'Gara, F. (1998) Combining proteolytic and phloroglucinol-producing bacteria for improved biocontrol of *Pythium*-mediated damping-off of sugar beet. *Plant Pathology* **47** : 299-307.

EL HEIT K., 1981. Le vignoble algérien : problèmes de la reconversion. Thèse de Doctorat de 3eme cycle. Université de la Sorbonne. 272p.

Ferreira J.H.S., Matthee F.N. and Thomas A.C., 1989. Fungi associated with dieback and

Fischer, M. and Kassemeyer, H-M. 2003. Fungi associated with esca disease of grapevine in Germany. *Vitis* **42** (3): 109-116.

Fischer, M. and Kassemeyer, H-M. 2003. Fungi associated with esca disease of grapevine in Germany. *Vitis* **42** (3): 109-116.

Fukui, R., Fukui, H. et Alvarez, A.M. (1999) Comparisons of single versus multiple bacterial species on biological control of *Anthurium* blight. *Phytopathology* **89** : 367-373.

Galet P., 1977. Les maladies et les parasites de la vigne. Les maladies dues à des végétaux, champignons, bactéries, viroses, et phanérogames .Tome I. Imp du paysan du midi Montpellier. 872p.

Galet P., 1991. Précis de pathogènes viticoles.

Galet P., 1995. Précis de pathologie viticole. Imp. JF Impression, Montpellier. 246.

Galet P., 1999. Précis de pathologie viticole. 3eme édition. 81-86.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Galet P., 2000. Précis de viticulture. Ed. JF. 7ème édition.597P.

GALET, P. 2000. Dictionnaire encyclopédique des cépages. Hachette

Gramaje D, Armengol J (2011) Fungal Trunk Pathogens in the Grapevine Propagation

Gramaje, D., Armengol, J., Salazar, D., López-Cortés, I. and García-Jiménez, J. 2009. Effect of hotwater treatments above 50°C on grapevine viability and survival of Petri disease pathogens. *Crop Protection* 28:280-285.

Haas D., Keel., C2003. Regulation of antibiotic product in root-colonizing *Pseudomonas* spp. And relevance for biological control of plant disease. *Annu. Rev. phytopathol.* 41:117-153.

Haas, D. and Dèfago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Rev. Microbiol.* AOP, Publ. Online 10 march, pp: 1-13.

Habib W., S. Pollastro, A. Pichierri, N. Masiello, and F. Faretra, 2008. Osservazioni preliminari sull'efficacia del trattamento con acqua calda di materiale di propagazione della vite contro *Phaeomoniella chlamydospora*. *Atti Giornate Fitopatologiche* 2008, 2, 231-236.

Huglin P, Schneider C, 1998. Biologie et écologie de la Vigne: Tec & doc, Paris
in Alsace. *Vitis* 49: 71-76.

Jacques, P., Defosse, P., Ongene, M., Lepoivre, P., Cornélis, P., Koedam, N., Neirinckx, L., Thonart, P. 1993. Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas* fluorescent dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol. *Cahiers Agricultures*, 2pp301-307.

Janisiewicz, W. et Bors, B. (1995) Development of a microbial community of bacterial and yeast antagonists to control wound-invading postharvest pathogens of fruits. *Applied Environmental Microbiology* 61 : 3261-3267.

Janisiewicz, W.J.(1996) Ecological diversity, niche overlap, and coexistence of antagonists used in developing mixtures for biocontrol of postharvest diseases of apples. *Phytopathology* 86 : 473-479.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Joergensen, R.G., Castillo, X. (2001) Interrelationships between microbial and soil properties in young volcanic ash soils of Nicaragua. *Soil BiolBiochem* 33:1581–1589.

Journal of Plant Pathology 103: 147–157.

King, E.O., et al., Media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein, *J. Lab. Clin. Med.* 44, 301

KloepperJW., Hume DJ., Scher FM., Lailiberte W., Tipping B., 1986. Emergence promoting rhizobacteria: Description and implication for agriculture, in iron, sidérophores and plants diseases (TR Swinburne. Ed) NaToAsi series life Sic, plenum press, New York 351:155-164.

KUNTZMANN, P., S. VILLAUME, P. LARIGNON, and C. BERTSCH. 2010. Esca, BDA and Eutypiosis: foliar symptoms, trunk lesions and fungi observed in diseased vinestocks in two vineyards

Larignon P. and Dubos B., 1997. Fungi associated with esca disease in grapevine. *European*
Larignon P., 2012. Maladies cryptogamiques du bois de la vigne : symptomatologie et agents

LARIGNON, P., F. FONTAINE, S. FARINE, C. CLEMENT, and C. BERTSCH. 2009. Esca and Black Dead Arm: two major actors of grapevine trunk diseases. *ComptesRendusBiologies* 332: 765-783.

LARIGNON, P., R. FULCHIC, L. CERE, and B. DUBOS. 2001. Observation on black dead arm in French vineyards. *Phytopathologiamediterraneae* 40: S336-S342.

Laveau C, Letouze A, Louvet G, Bastien S, Guerin-Dubrana L. 2009. Differential aggressiveness of fungi implicated in esca and associated diseases of grapevine in France. *PhytopathologiaMediterranea* 48: 32–46.

Lecomte, P. Péros, JP.Blancard, D. Bastien, N. Délyé, C. 2000. PCR assays that identify the grapevine dieback fungus *Eutypalata*. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 4475-4480.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Loeffler W, Tschen JSM, Vanittanakom N, Kulger M, Knorpp E, Hsieh TF, Wu TG. 1986** Antifungal effects of bacilysin and fengycin from *Bacillus subtilis* F29-3. A comparison with activities of other *Bacillus* antibiotics. *J Phytopathol.* 1986;115(3):204–213.
- Logan N.A., De Vos P., Bacillus et industrie. Bull. Soc. Fr. Microbiol., 1998,** 13,130-136.
- LORRAIN, B., I. KY, G. PASQUIER, M. JOURDES, L. GUERIN DUBRANA, L. GENY, P. REY, et al. 2012.** Effect of Esca disease on the phenolic and sensory attributes of Cabernet Sauvignon grapes, musts and wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 18: 64-72.
- LUQUE, J., S. MARTOS, A. AROCA, R. RAPOSO, and F. GARCIA-FIGUERES. 2009.** Symptoms and fungi associated with declining mature Grapevine plants in northeast Spain. *Journal of Plant Pathology* 91: 381-390.
- Maher N, Piot J, Bastien S, Rey P, Guérin-Dubrana L (2012)** Wood necroses in Esca-affected vines: types, relationships and possible links with foliar symptom expression. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 46, 15-27.
- Meziane, H., Gavriel, S., Ismailov, Z., Chet, I., Chernin, L. et Höfte, M. (2006).** Control of green and blue mould on orange fruit by *Serratia plymuthica* strains IC14 and IC1270 and putative modes of action. *Postharvest Biology and Technology* 39 : 125-133.
- Moller M.J., Kasimatis N. (1978).** Dieback of grapevines caused by Eutypa armeniacae. *Plant Disease Report.* 62,254-258.
- MOLLER, W. J., A. N. KASIMATIS, and J. J. KISSLER. 1974.** A dying arm disease of grape in California. *Plant Disease Report* 58: 869-871.
- Moral, J., Muñoz-Díez, C., González, N., Trapero, A., and Michailides, T.J. 2010.** Characterization and pathogenicity of *Botryosphaeriaceae* species collected from olive and other hosts in Spain and California. *Phytopathology* 100:1340-1351
- Mugnai L., Graniti A. and Surico G., 1999.** Esca (black measles) and brown wood-streaking: two old and elusive diseases of grapevine. *Plant Disease* 83: 404–416.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

MUGNAI, L., A. GRANITI, and G. SURICO. 1999. Esca (Black measles) and brown wood-streaking:

MULLINS, M. G., A. BOUQUET, and L. E. WILLIAMS. 1992. Biology of Grapevine.

Paillassa E., Dubos B., Larignon P. and Chevrier J.C. (1992) l'inoculum infectieux d'*Eutypalata*, sa formation, son evolution et sa dispersion : les facteurs qui les influencent. *Phytoma* 440: 21-23.

Pal, K.K., Tilak, K.V.B.R., Saxena, A.K., Dey, R. et Singh, C.S. (2001) Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminearum* by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research* 156 : 209-223.

Patten, C.L. and Glick, B.R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* inoleic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(8): 3795-3801.

Péros J.P., Jamaux-Desprésaux I., Berger G. and Gerba D., 1999. The potential importance of diversity in *Eutypalata* and co-colonising fungi in explaining variation in development of grapevine dieback. *Mycological Research*, 103: 1385-1390.

Peypoux F., Bonmatin J. M., and Wallach J. (1999), Recent trends in the biochemistry of surfactin. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51, 553-563.

Phillips A. J. L., A. Alves, J. Abdollahzadeh, B. Slippers, M.J. Wingfield, J.Z. Groenewald and P.W. Crous, 2013. The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Studies in Mycology* 76, 76–167. *Phytopathol. Mediterr.* (2011) 50 (Supplement), S5–S45

Phillips A.J.L., 2002. *Botryosphaeria* species associated with diseases of grapevines in Portugal. *Phytopathol. Mediterr* 41: 3–18.

pruning wounds of grapevines in South Africa. *South African Journal of Enology and*

Raupach, G.S. et Kloepper, J.W. (1998) Mixtures of plant growth promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology* 88 : 1158-1164.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

REYNIER A., 2007. Manuel de viticulture. Edition TEC & DOC. Paris. 10^{ème} Ed. 527p

Roberts, D.P., Lohrke, S.M., Meyer, S.L.F., Buyer, J.S., Bowers, J.H., Baker, C.J., Li, W., de Souza, J.T., Lewis, J.A. et Chung, S. (2005) Biocontrol agents applied individually and in combination for suppression of soilborne diseases of cucumber. *Crop Protection* **24** : 141-155.

Rodelas B., Saimeron M.V., Martinz-Toiedo et Loper G.J 1993. Production of vitamins by *Azospirillumfcras/ fense* in chemically defined media. P/anfSo//153,97-101.

Schisler, D.A. (1997) Effects of antagonist cell concentration and two-strain mixtures on biological control of *Fusariumdry* rot potatoes. *Phytopathology* **87** : 177-183.

Serra S., M.A. Mannoni and V. Ligios 2008. Studies on the susceptibility of pruning wounds to infection by fungi involved in grapevine wood diseases in Italy. *PhytopathologiaMediterranea* 47, 234–246

Spagnolo, A., Marchi, G., Peduto, F., Phillips, A.J.L., Surico, G. 2011. Detection of Botryosphaeriaceae within grapevine woody tissues by nested PCR, with particular emphasis on the *Neofusicoccum parvum/N. ribis* complex. *European Journal of Plant Pathology* 129: 485–500.

Surico G., Mugnai L. and G. Marchi, 2006. Older and more recent observations on Esca: a critical overview. *Phytopathologia. Mediterranea.* 45:68-86

SURICO, G., L. MUGNAI, and G. MARCHI. 2006. Older and more recent observations on esca: a

Szczech, M. etShoda, M. (2004) Biocontrol of *Rhizoctonia*damping-off of tomato by *Bacillus subtilis* combined with *Burkholderiacepacia*. *Journal of Phytopathology* **152** : 549-556.

Thakore, Y. (2006). The biopesticide market for global agricultural use. *IndustrialBiotechnology.*2: 194-208.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

This, P., Lacombe, T., and Thomas, M.R. (2006). Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics* 22:511-519.

Urbez-Torres J. R., 2011a. The status of Botryosphaeriaceae species infecting grapevines.

Urbez-Torres J. R., Peduto. F, Striegler R. K., Urrea Romero K. E., Rupe J. C., Cartwright R. D. and Gubler W. D. 2011b. Characterization of fungal pathogens associated with grapevine trunk diseases in Arkansas and Missouri. *Fungal Diversity*. DOI 10.1007/13225-011-0110-4

Úrbez-Torres J.R. and W.D. Gubler, 2009a. Pathogenicity of Botryosphaeriaceae species isolated from grapevine cankers in California. *Plant Disease* 93, 584–592.

Úrbez-Torres J.R. and W.D. Gubler, 2009b. Double pruning, a potential method to control Bot canker disease of grapes, and susceptibility of grapevine pruningwounds to infection by Botryosphaeriaceae. *PhytopathologiaMediterranea*48, 185.

Úrbez-Torres, J.R., Leavitt, G.M., Voegel, T.M. and Gubler, W.D. 2006. Identification and distribution of *Botryosphaeria*spp. associated with grapevine cankers in California. *Plant Disease* 90 (12): 1490- 1503.

Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., and Pieterse, C.M.J. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36, 453–483.

Van niekerk J.M., Bester W., Halleen F., Crous W., and. Fourie P., 2011. The distribution and symptomatology of grapevine trunk disease pathogens are influenced by climate *Phytopathol. mediterr.* 50 (supplement), 98–111

Van Niekerk, J.M., Fourie, P.H., Halleen, F. and Crous, P.W. 2006. *Botryosphaeria*spp. as grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathol. Mediterr.* 45: S43-S54. *Viticulture* 10 (2), 62–66.

Wang S.L., Chang W.T. et al 2002., purification and characterization of an antimicrobial chitinaseextracellularly produces *Monosascuspurpureus* CCR31499in a shrimp and crab shell powder medium. *J.Aric,Food.Chem.*, 50:2249-2255.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Weller DM, Cook RJ (1983). Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. *Phytopathology* 73: 463.

Weller, D.M., Raaijmakers, J.M., McSpadden-Gardener, B B. and Thomashow, L S., 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: 309–348.

Whipps, J.M. (2001) Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* **52** : 487-511.

1. Etude macroscopique et microscopique de *Diplodia seriata*

D'après nos résultats, nous remarquons que les colonies fongiques de *Diplodiaseriata* ont une croissance rapide sur le milieu PDA. Le mycélium est cotonneux avec un pourtour régulier, sa couleur est blanche au départ et vire avec le temps vers le gris foncé puis elle devient noirâtre après deux semaines d'incubation (Fig 12.a).

Les observations microscopiques ont montré des stromas conidifères isolés et dépourvus de mycélium. Ils sont de couleur brune foncée à noire et à paroi épaisse. Une fois mûres, elles prennent souvent une forme globuleuse percée au sommet d'un ostiole qui s'ouvre vers l'extérieur en libérant les conidies. Celles-ci ont une forme ovoïde et elles sont de couleur marron. (Fig 12.b).

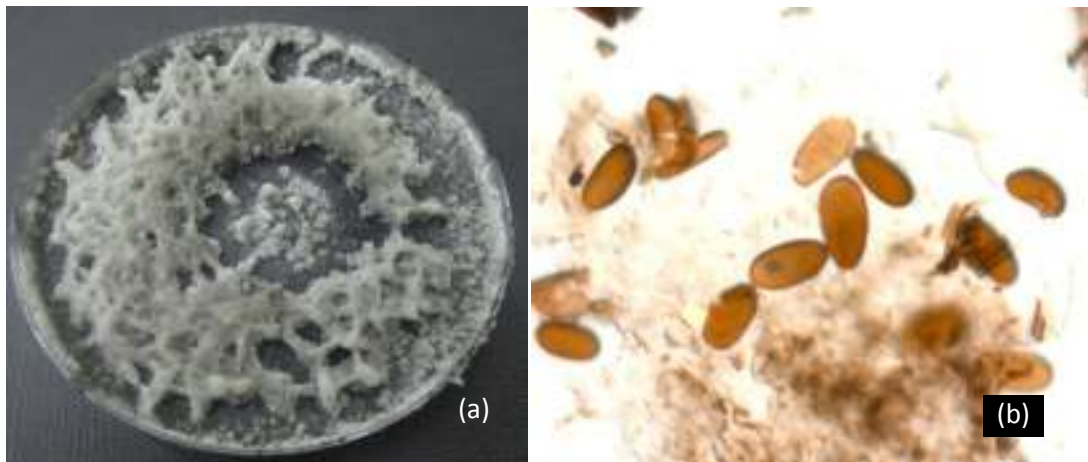


Figure 10: Observation macroscopique (a) et microscopique (b) (X40) de *D. seriata*

2. Etudes macroscopique et microscopique de *Neofusicoccum parvum*

Les colonies de *N. parvum* sur PDA sont d'abord blanches et deviennent noires après une semaine de croissance. Le mycélium est aérien abondant et se développe rapidement (Fig 13.a).

Les observations microscopiques ont montré des conidies hyalines, fusiformes à ellipsoïdale, à paroi mince, non cloisonnées et lisses (Fig 13.b).

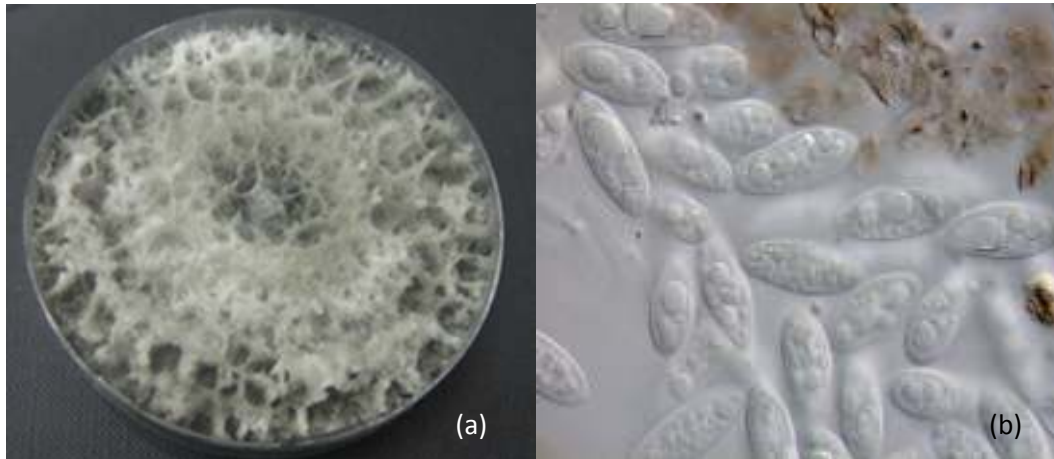


Figure 11: Observation macroscopique (a) et microscopique (b) (X40) de *N. parvum*

3. Essais d'antagonisme *in vitro*

L'étude du pouvoir antagoniste de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas* spp. vis-à-vis de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum* réalisée sur trois milieux de culture (PDA, King B, GN) par la méthode de confrontation directe en boîte de Pétri, a montré des activités antagonistes variables. Nous avons remarqué également que l'activité antagoniste dépend non seulement des souches testées mais aussi du milieu de culture utilisé.

Sur milieu PDA

Les résultats du test d'antagonisme *in vitro* de *B. subtilis* et de *Pseudomonas* spp. vis-à-vis des *D. seriata* et *N. parvum* sur PDA sont représentés par le tableau 7 et la figure 14.

Tableau 7: Résultats du test de confrontation directe en boîte de Pétri de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. vis-à-vis de *D. seriata* et *N. parvum* sur milieu de culture PDA.

	<i>Diplodia seriata</i>			<i>Neofusicoccum parvum</i>		
	MC(mm)	ZI (mm)	TI%	MC (mm)	ZI(mm)	TI%
Témoin	85	-	-	85	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	85	00	00	85	00	00
<i>Pseudomonas spp.</i>	85	00	00	85	00	00

(MC) : moyenne de croissance mycélienne, (ZI) : zone d'inhibition, (TI%) : taux d'inhibition.

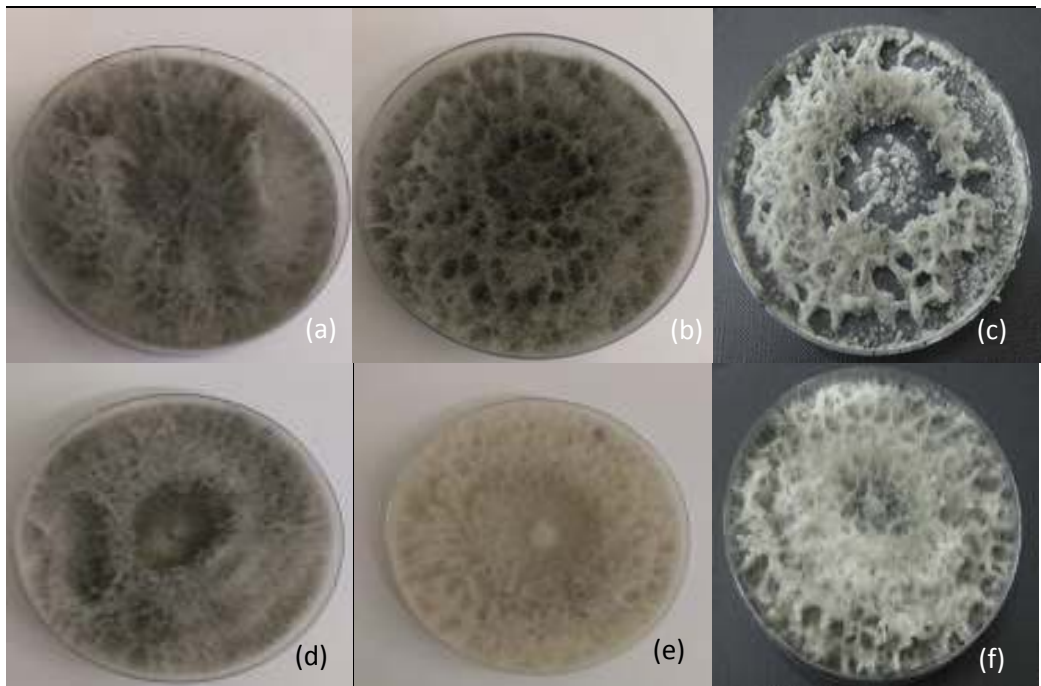


Figure 12: Résultats de l'absence de l'effet antagoniste de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. vis-à-vis de *D. seriata* et *N. parvum* sur milieu de culture PDA.

(a) : effet antagoniste de *B. subtilis* vis à vis de *D. seriata* (b) effet antagoniste de *Pseudomonas* spp. vis à vis de *D. seriata*. (c) *D. seriata* Témoin
(d) effet antagoniste de *B. subtilis* vis à vis *N. parvum*, (e) effet antagoniste de *B. subtilis* vis à vis *N. parvum* par *Pseudomonas* spp., (f) *N. parvum* Témoin

Les résultats du test de détection de l'activité antagoniste *in vitro*, de *B. subtilis* et de *Pseudomonas* spp. vis-à-vis de *D. seriata* et *N. parvum* sont négatifs (absence totale d'activité antagoniste).

Sur King B

Les résultats du test d'antagonisme *in vitro* *B. subtilis* et de *Pseudomonas* spp. vis-à-vis des *D. seriata* et *N. parvum* sur King B sont représentés par le tableau 8 et la figure 16.

Tableau 8 : Résultats de test de confrontation direct en boîte de Pétri de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. vis-à-vis de *D. seriata* et *N. parvum* sur milieu de culture King B

	<i>Diplodia seriata</i>			<i>Neofusicoccum parvum</i>		
	MC(mm)	ZI(mm)	TI%	MC(mm)	ZI (mm)	TI%
Témoin	85	-	-	8,5	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	33,75	49	59,21	4,5	38,8	45,97
<i>Pseudomonas spp.</i>	38,	44,7	54,07	4,225	40,5	49,52

(MC) : moyenne de croissance mycélienne, (ZI) : moyenne zone d'inhibition, (TI%) : taux d'inhibition.

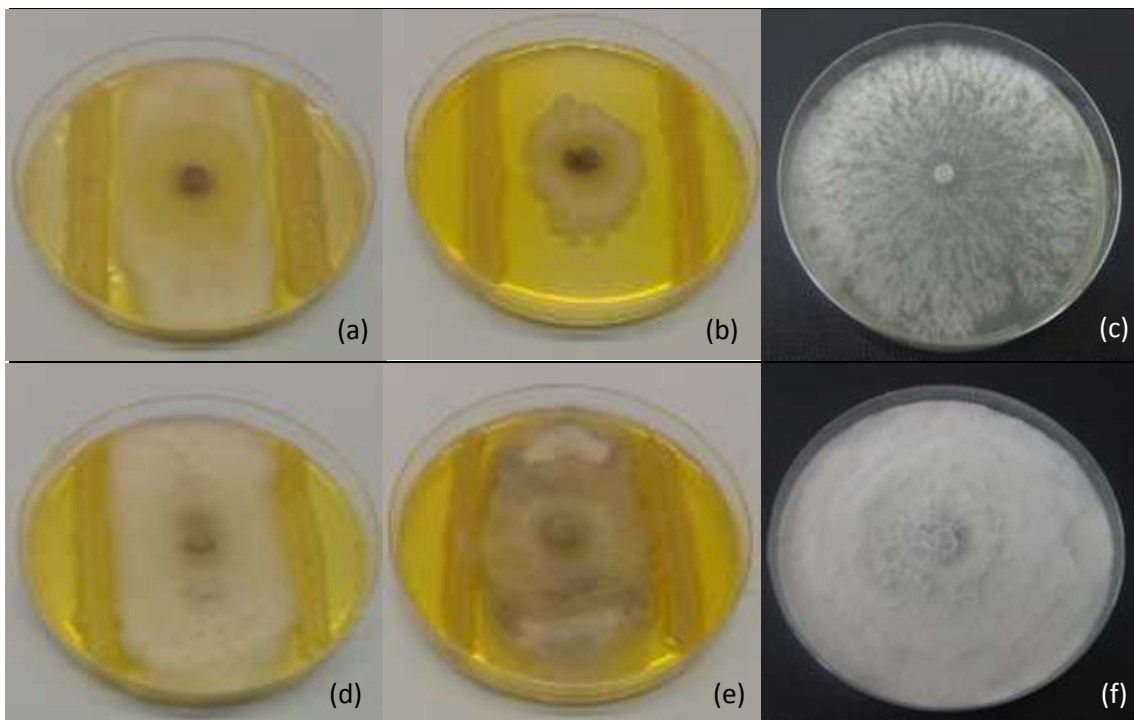


Figure 13: Inhibition de la croissance mycélienne *D. seriata* et *N. parvum* par *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. sur milieu King B

(a) : effet antagoniste de *B. subtilis* vis à vis de *D. seriata* (b) effet antagoniste de *Pseudomonas* spp. vis à vis de *D. seriata*. (c) *D. seriata* Témoin

(d) effet antagoniste de *B. subtilis* vis à vis *N. parvum*, (e) effet antagoniste de *B. subtilis* vis à vis *N. parvum* par *Pseudomonas* spp., (f) *N. parvum* Témoin

Les résultats des tests de détection de l'activité antagoniste *in vitro*, réalisé par *B. subtilis* et de *Pseudomonas* spp. vis-à-vis de *D. seriata* et *N. parvum*, montrent la

présence d'une activité antagoniste avec des taux variables (Tab.8) .Cependant, nous avons remarqué que les deux bactéries *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. ont noté un taux d'inhibition un peu élevé vis-à-vis *D. seriata* par rapport *N. parvum*.

Cependant, les taux d'inhibition les plus élevés ont été enregistré par *B. subtilis* (59,21%) et *Pseudomonas* spp. (54,07%) vis-à-vis de *D. seriata*, tandis que pour *N. parvum*, les taux d'inhibition se situent entre 45,97% et 49,52% enregistrés respectivement par *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp.

Sur GN

Les résultats du test d'antagonisme *in vitro* *B. subtilis* et de *Pseudomonas* spp. vis-à-vis des *D. seriata* et *N. parvum* sur GN sont représentés par le tableau 9 et les figures 16.

Tableau 9 : Résultats de test de confrontation direct en boîte de Pétri de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. vis-à-vis de *D. seriata* et *N. parvum* sur milieu de culture GN

	<i>Diplodia seriata</i>			<i>Neofusicoccum parvum</i>		
	MC(mm)	ZI (mm)	TI%	MC(mm)	ZI (mm)	TI%
Témoin	70,7	-	-	76,7	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	24,7	46	65,01	43,2	32,8	43,64
<i>Pseudomonas</i> <i>spp.</i>	28,2	42	60,07	39,2	37	48,85

(MC) : moyenne de croissance mycélienne, (ZI) : moyenne zone d'inhibition, (TI%) : taux d'inhibition.

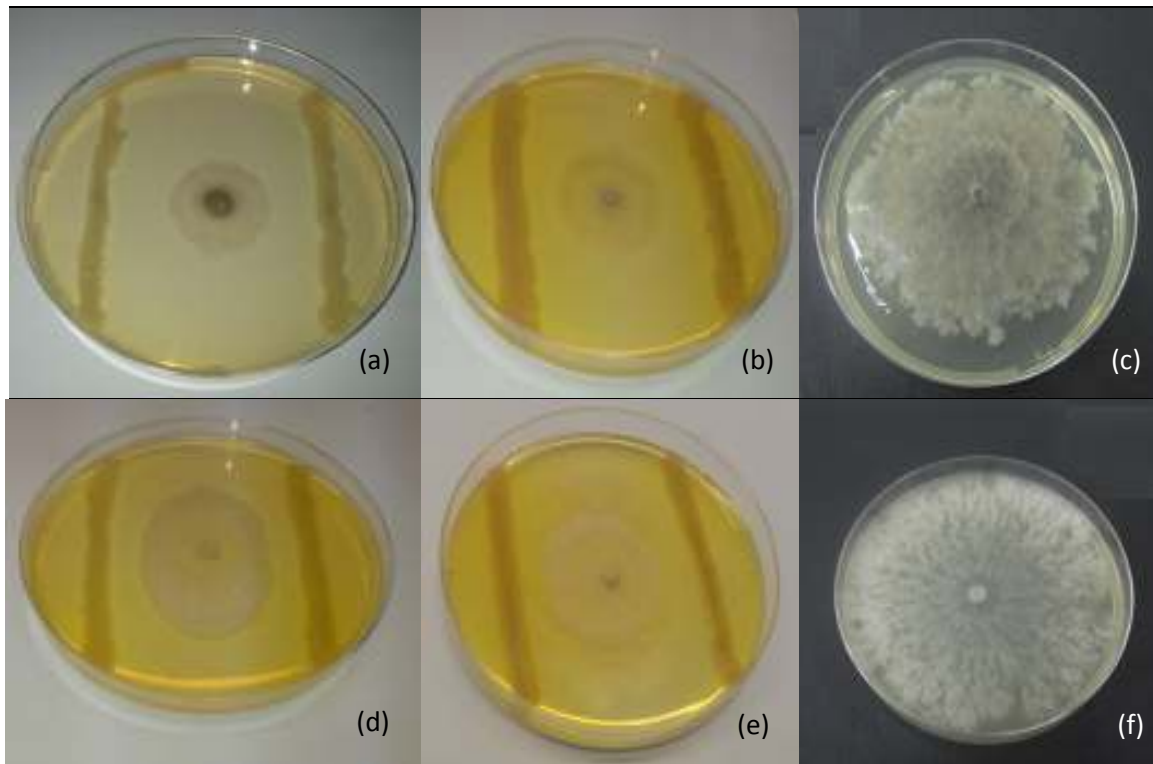


Figure 14: Inhibition de la croissance mycélienne de *D. seriata* et *N. parvum* par *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp sur milieu GN

(a) : effet antagoniste de *B. subtilis* vis à vis de *D. seriata* (b) effet antagoniste de *Pseudomonas* spp. vis à vis de *D. seriata*. (c) *D. seriata* Témoin

(d) effet antagoniste de *B. subtilis* vis à vis *N. parvum*, (e) effet antagoniste de *B. subtilis* vis à vis *N. parvum* par *Pseudomonas* spp. (f) *N. parvum* Témoin

Les résultats des tests de détection de l'activité antagoniste *in vitro*, réalisé par *B. subtilis* et de *Pseudomonas* spp. vis-à-vis des *D. seriata* et *N. parvum*, montrent la présence d'une activité antagoniste avec des taux variables (Tab8). Cependant, nous avons remarqué que les deux bactéries *B. subtilis* et *Pseudomonas* ont noté un taux d'inhibition un peu élevé vis-à-vis de *D. seriata* par rapport *N. parvum*.

Cependant, les taux d'inhibition les plus élevés ont été enregistré par *B. subtilis* (65,01%) et *Pseudomonas* spp. (60,07%) vis-à-vis de *D. seriata*, tandis que pour *N. parvum* leur taux d'inhibition se situent entre 43,64% et 48,85% enregistré respectivement par *B. subtilis* *Pseudomonas* spp.

4. Analyse comparative de confrontation direct en boîte de Pétri de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. avec *D. seriata* et *N. parvum*

4.1. Etude comparative de confrontation directe entre les traitements utilisés :

L'utilisation du modèle général linéaire (G.L.M.) a permis d'étudier la variation de la croissance mycélienne en fonction de traitement appliqué.

Sur PDA

Le model G.L.M. n'a pas pu faire l'analyse de la variance de la zone d'inhibition par rapport aux traitements, car il y a absence de l'effet d'antagonisme de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. à l'égard de *D. seriata* et *N. parvum* sur le milieu de culture PDA.

Sur King B

Les résultats d'étude comparative de confrontation directe entre les traitements utilisés *vis-à-vis* de *D. seriata* et *N. parvum* sur (King B) sont représentés par le tableau 10 et la figure 18.

Tableau 10: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de traitement sur la croissance mycélienne de *D. seriata* et *N. parvum* sur milieu de culture (King B) avec la technique de confrontation directe.

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
Traitement	10129.833	5	2025.967	67.708	0.000***

N.B. : non significative, * : moyennement significative à 5 % ; ** : hautement significative à 1 % ; *** : très hautement significative à 0,1 % .

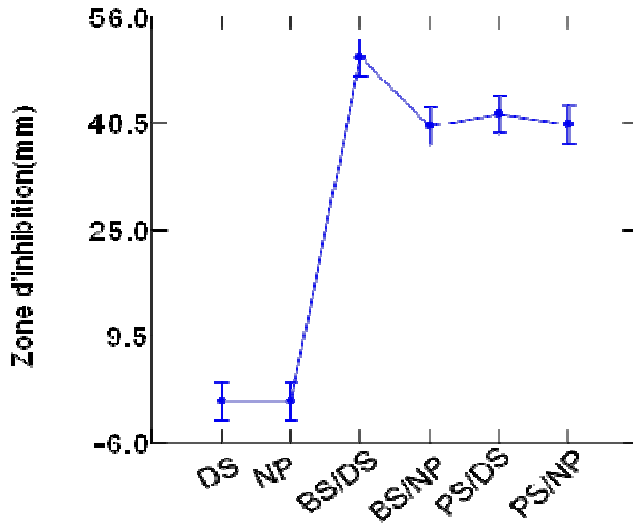


Figure15: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de traitement sur la croissance mycélienne de de *D. seriata* et *N. parvum* sur milieu (King B) avec la technique de confrontation directe.

Le tableau (Tabl) dénote que le mode de traitement par rapport au temps révèlent la présence d'une différence très hautement significative sur la croissance mycélienne. Traitement (F-ratio= 39.642; p=0.000; p< 0,1%).

Sur GN

Les résultats d'étude comparative de confrontation directe entre les traitements utilisés *vis-à-vis* des *D. seriata* et *N. parvum* sur (GN) sont représentés par le tableau 11 et la figure18.

Tableau 11 :Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de traitement sur la croissance mycélienne de *D. seriata* et *N. parvum* sur milieu de culture (GN) avec la technique de confrontation directe

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
Traitement	8198.833	5	1639.767	13.523	0.000***

N.B. : non significative, * : moyennement significative à 5 % ; ** : hautement significative à 1 % ; *** : très hautement significative à 0,1 %

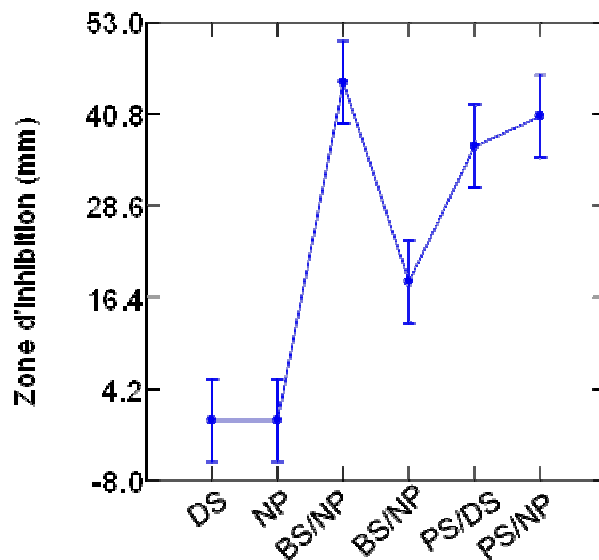


Figure16: Modèle G.L.M. de traitement sur la croissance mycélienne de de *D. seriata* et *N. parvum* sur milieu (GN) avec la technique de confrontation directe.

Le tableau (Tab11) dénote que le mode de traitement par rapport au temps révèlent la présence d'une différence très hautement significative sur la croissance mycélien. Traitement (F-ratio= 33.387; p=0.000; p< 0,1%).

4.2. Etude comparative de confrontation directe entre les milieux de culture (PDA, King B, GN)

Les résultats d'étude comparative de test d'antagonisme in vitro de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. vis-à-vis des *D. seriata* et *N. parvum* sur les trois milieux (PDA, King B et GN) sont représentés par le tableau 12 et la figure 19.

Tableau 12: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de milieu, sur la croissance mycélienne de *D. seriata* et *N. parvum* confronté par *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp.

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
milieu	11181.444	2	5590.722	38.279	0.000***

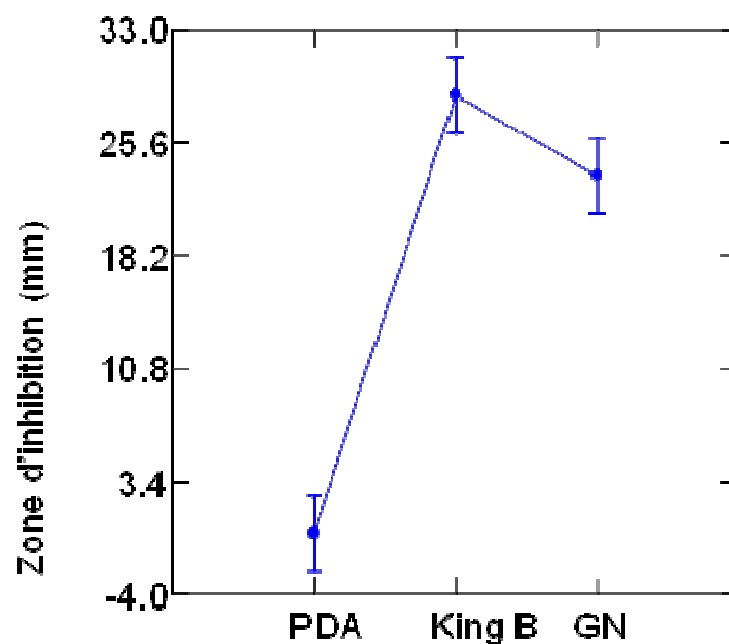


Figure 17: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de milieu (PDA, King B, GN) sur la croissance mycélienne de *D. seriata* et *N. parvum* avec la technique de confrontation directe

L'application du modèle G.L.M. sur les résultats de test de confrontation direct, nous permet de déduire que le facteur milieu, présente une différence très hautement

CHAPITRE III : RESULTATS ET INTERPRETATIONS

significative sur les taux d'inhibition de la croissance mycélienne (F-ratio= 115.644; p=0.000; p< 0,1%).

5. Reprise des implants

Les résultats de La reprise des implants de *D.serriata* et *N. parvum* testé en confrontation direct en boites de Pétri sont représentés par le tableau 13 et la figure 20.

Tableau 13: la reprise des implants des pathogènes testés en confrontation avec les antagonistes.

	King B		GN	
	<i>B. subtilis</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>
<i>D. seriata</i>	+	-	-	+
<i>N. parvum</i>	+	+	-	+

(+) présence (-) absence de croissance mycélienne

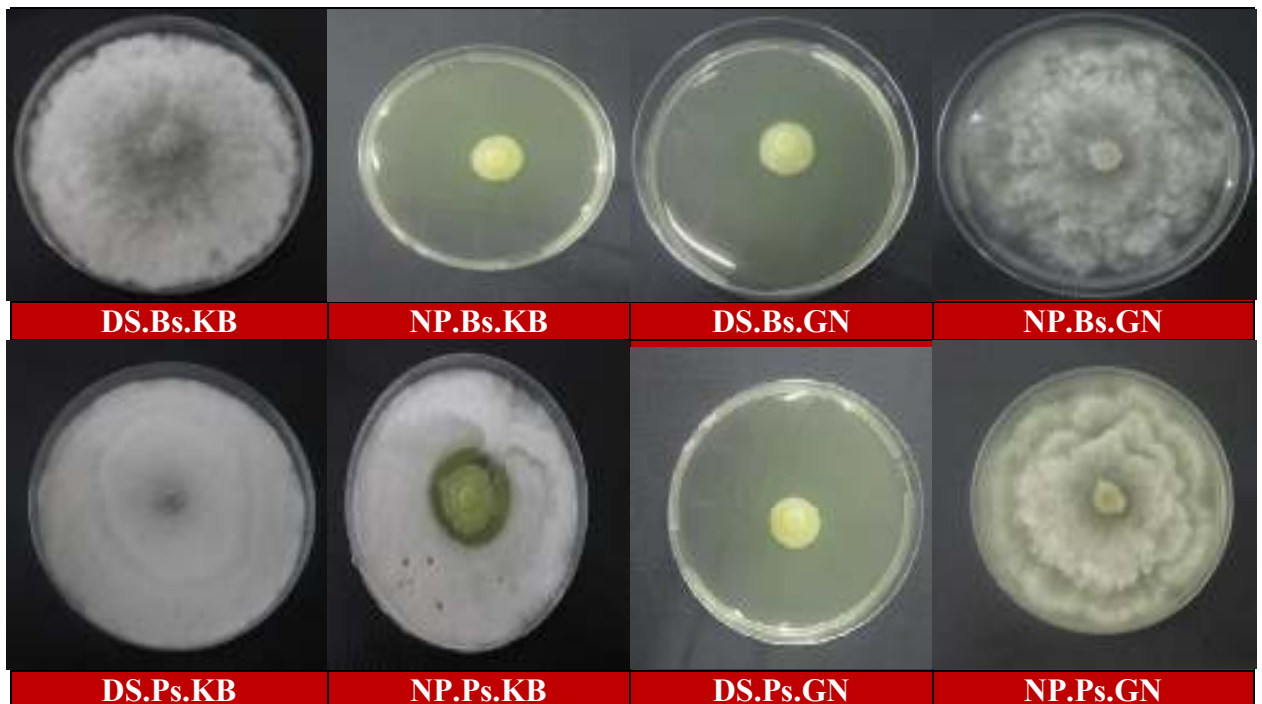


Figure 18 : la reprise des implants des pathogènes testés en confrontation avec les antagonistes.

D'après les résultats de la reprise des implants de *D.serriata* et *N. parvum* sur milieu de culture King B et GN, nous remarquons que pour *D.serriata* et *N. parvum* traités par *B. subtilis*, le mycélium a pu se développer sur le King B, par contre sur le GN nous avons remarqué seulement la présence d'une crème bactérienne tout autour de l'implant.

Pour le cas des implants des deux champignons pathogènes traités par *Pseudomonas* spp. sur KingB, nous remarquons l'absence de développement de *Diplodia seriata* par contre pour *N. parvum*. sur GN les implants ont été entourés par la crème bactérienne.

6. Essais d'antagonisme in situ

L'utilisation du modèle général linéaire (G.L.M.) a permis d'étudier la variation de l'effet antagoniste, par rapport à la variété de la vigne et le traitement.

- Les résultats du test d'antagonisme *in vivo* de *B. subtilis* et de *Pseudomonas* spp. vis-à-vis des *D. seriata* et *N. parvum* sur les deux variétés sont représentés par le tableau 14 et la figure 21.22.

Tableau14 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet antagoniste *in vivo* sur deux variétés de vigne (Alphonse Lavallée et Cardinal) par *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. contre *D. seriata* et *N. parvum*.

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
variété	4.408	1	4.408	0.631	0.429
traitement	66.142	5	13.228	1.894	0.101

N.S. : non significative, * : moyennement significative à 5 % ; ** : hautement significative à 1 % ; *** : très hautement significative à 0,1 %

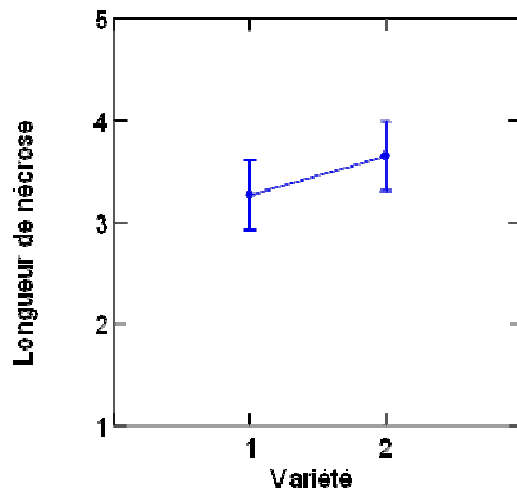


Figure 19: longueur de nécrose par rapport les deux variétés de la vigne (1) Alphonse Lavallée (2) Cardinal.

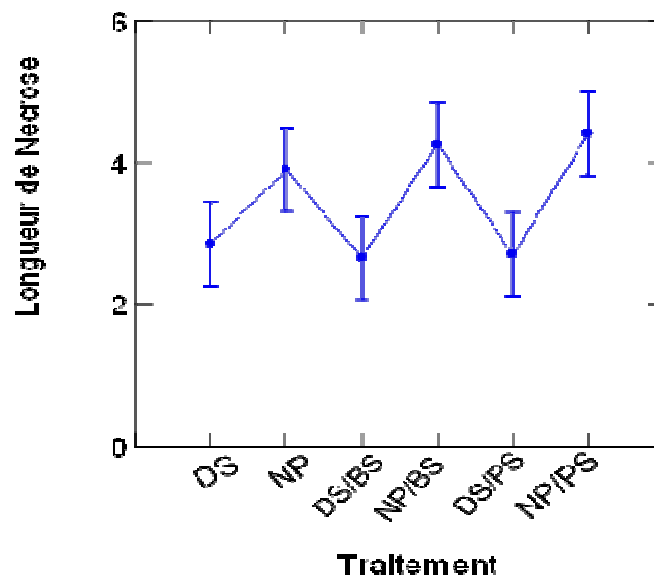


Figure 20: longueur de nécrose par rapport aux traitements

DS: boutures de témoin inoculé par *Diplodia seriata*

NP: boutures de témoin inoculé par *Neofusicoccum parvum*

DS/Bs : boutures inoculé par *Diplodia seriata* et *Bacillus subtilis*

NP/Bs : boutures inoculé par *Neofusicoccum parvum* et *Bacillus subtilis*

DS/Ps : boutures inoculé par *Diplodia seriata* et *Pseudomonas* spp.

NP/Ps : boutures inoculé par *Neofusicoccum parvum* et *Pseudomonas* spp.

Le tableau (Tab 14) dénote que le mode de traitement par rapport à la variété de la vigne révèle l'absence d'une différence significative sur la longueur des lésions nécrotiques. Variété (F-ratio= 0.631; p= 0.429; p > 0,1%), Traitement (F-ratio= 1.894; p= 0.101; p > 0,1%).

- Les résultats d'étude comparative du test d'antagonisme *in vivo* de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. vis-à-vis des *N. parvum* sur les boutures de la vigne (Alphonse Lavallée) sont représentés par le tableau 15 et la figure 23.

Tableau 15: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet antagoniste *in vivo* sur une variété de vigne (Alphonse Lavallée) par la synergie de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. contre *N. parvum*.

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Traitement	83.700	3	27.900	5.140	0.005*

N.S. : non significative, * : moyennement significative à 5 % ; ** : hautement significative à 1 % ; *** : très hautement significative à 0,1 %

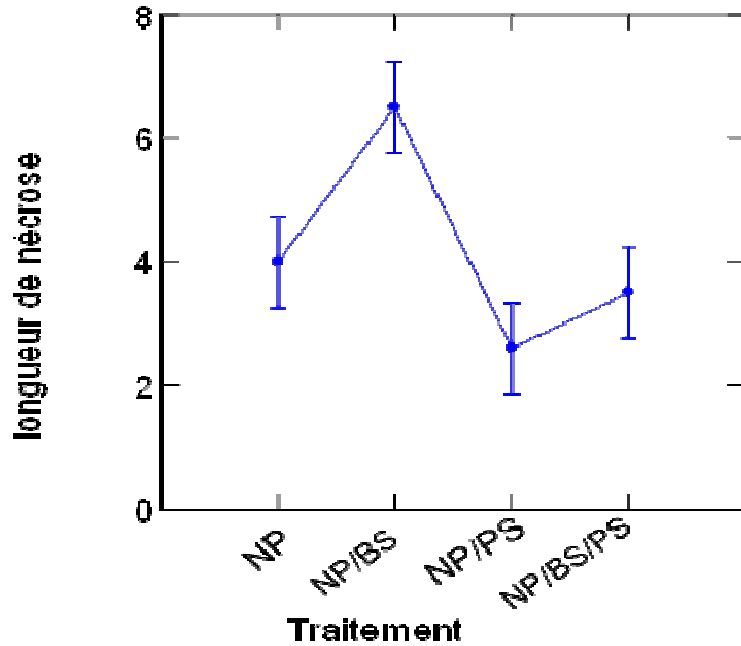


Figure21 : longueur de nécrose de bouture traité par *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. vis à vis *N. parvum*.

NP: boutures de témoin inoculé par *Neofusicoccum parvum*

NP/Bs : boutures inoculé par *Neofusicoccum parvum* et *Bacillus subtilis*

NP/Ps : boutures inoculé par *Neofusicoccum parvum* et *Pseudomonas* spp.

NP/Bs/Ps : boutures inoculé par *Neofusicoccum parvum*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp.

L'application du modèle G.L.M. sur les résultats de l'activité antagoniste de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. vis-à-vis de *N. parvum* présente une activité antagoniste significative (F-ratio= 5.140; p=0.005; p< 0,1%) vis-à-vis de *N. parvum* sur les boutures de la variété Alphonse Lavallée. (Tab14).

Cas de *Bacillus subtilis* contre *Diplodia seriata*

Les résultats de l'effet antagoniste de *B. subtilis* contre *D. seriata* sur les deux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) de la vigne sont illustrés par la figure 24.

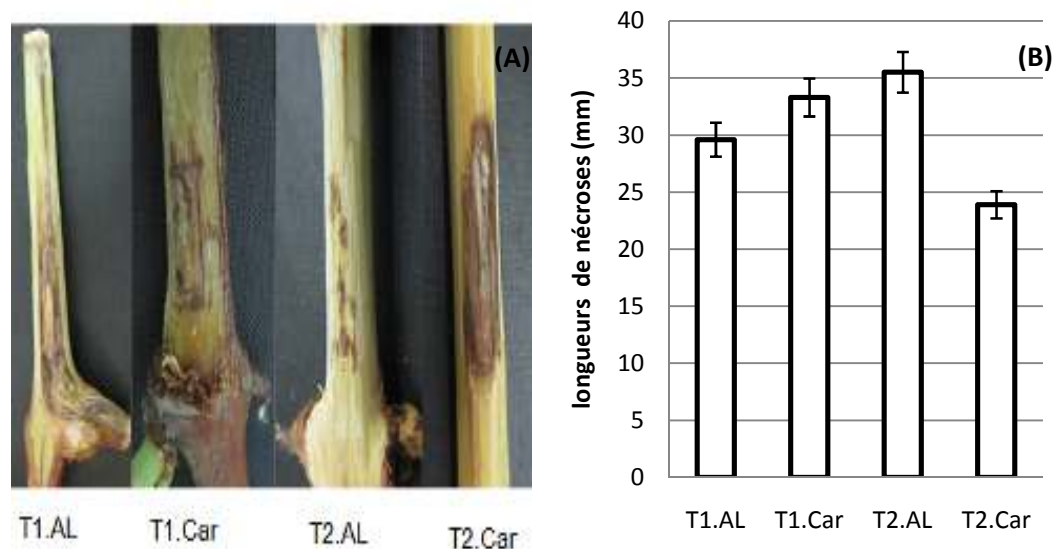


Figure 22 : Effets antagoniste de *B. subtilis* contre *D. seriata* sur les deux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) de la vigne T1 (témoin) T2 (traité par *B. subtilis*) (A) photographie des nécroses des boutures de la vigne (B) Graphique indiquant les moyennes de longueurs des nécroses.

D. seriata produit des lésions nécrotiques sur les boutures témoins des deux variétés, avec des longueurs moyennes de T1.AL= 29,6 mm ; T1 Car= 33,3 mm. Pour les boutures traitées par *B. subtilis* de la variété Alphonse Lavallée (T2.AL) nous remarquons la présence de nécroses plus longues que celle du Témoin (T1.AL). Tandis que Les nécroses des boutures de la variété Cardinal (T2.Car) sont moins importantes que celles du témoin (T1.Car), avec une moyenne des nécroses de T2.AL= 23,9 et T2.Car = 35,5mm.

Cas de *Pseudomonas* spp. contre *Diplodia seriata*

Les résultats de l'effet antagoniste de *Pseudomonas* spp. contre *D. seriata* sur les deux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) de la vigne sont illustrés par la figure 25.

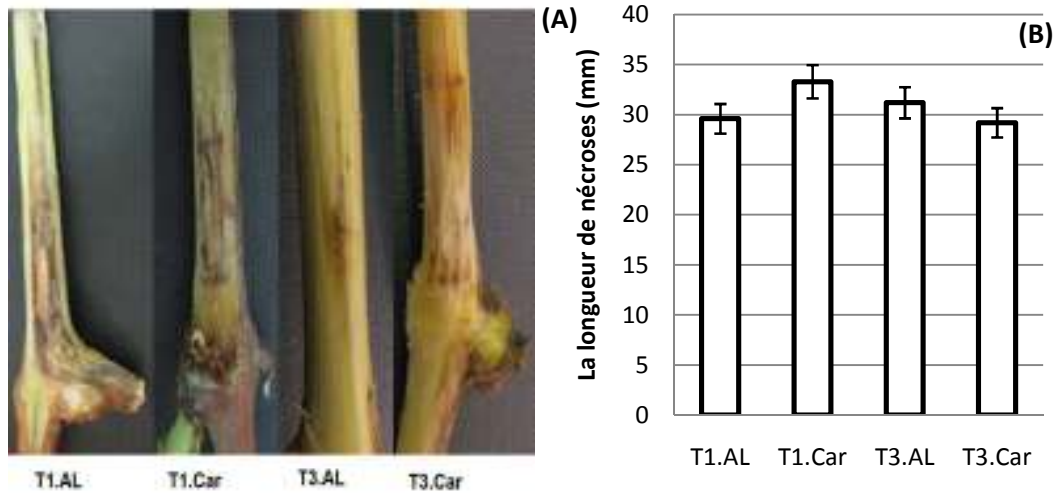


Figure 23: Effets antagonistes de *Pseudomonas spp.* contre *D. seriata* sur les deux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) de vigne T1 (témoin) T3 (traitée par *Pseudomonas spp.*) (A) photographie des nécroses des boutures de la vigne (B) Graphique indiquant les longueurs moyennes des nécroses.

Sur les boutures témoins des deux variétés, *D. seriata* produit des lésions nécrotiques avec des longueurs moyennes de T1.AL= 29,6 mm et T1 Car= 33,3 mm. Concernant les boutures de la variété Alphonse Lavallée (T3.AL) traitées par *Pseudomonas spp.*, nous remarquons des nécroses plus importantes que celles du Témoin (T1.AL). En ce qui concerne les boutures de la variété Cardinal (T3.Car) traitées par *Pseudomonas spp.*, nous remarquons la présence de nécroses moins importantes que celles du témoin (T1.Car) (T2.AL= 31,2 ; T2.Car = 23,9mm) (Fig 25).

Cas de *Bacillus subtilis* contre *Neofusicoccum parvum*

Les résultats de l'effet antagoniste de *B. subtilis* contre *N. parvum* sur les deux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) de vigne sont illustrés par la figure 26.

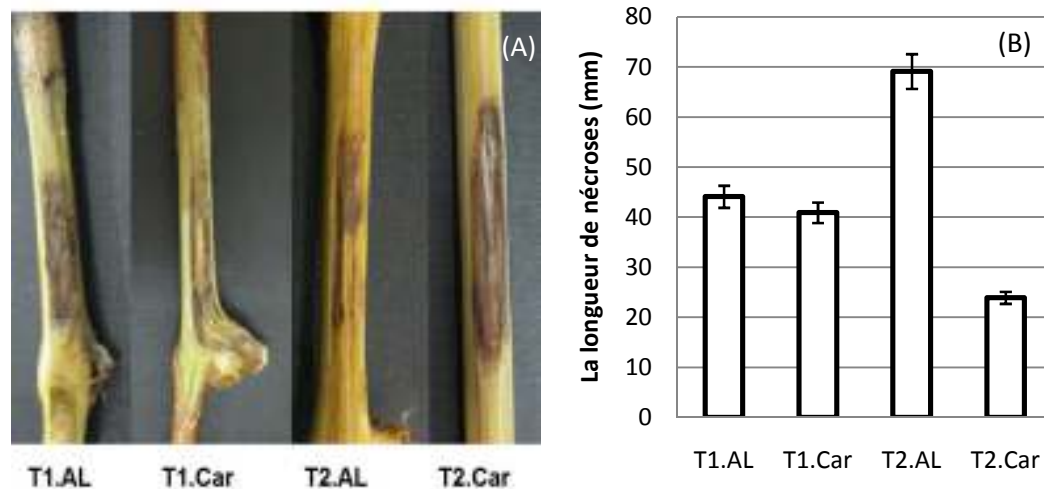


Figure 24: effets antagonistes de *B. subtilis* contre *N. parvum* sur les deux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) de la vigne. (A) photographie des nécroses des boutures, T1 (témoin) T2 (traité par *B. subtilis*) (B) Graphique indiquant les longueurs moyennes des nécroses.

Sur les boutures témoins, *N. parvum* produit des lésions nécrotiques sur les deux variétés, avec des longueurs moyennes de T1.AL= 4,41mm ; T1 Car= 40,9 mm. Concernant les boutures de la variété Alphonse-Lavallée traitées par *B. subtilis* (T2.AL) nous remarquons des nécroses plus longues que celles du témoin (T1.AL). Les boutures de la variété Cardinal (T2.Car) présentent des nécroses moins importantes que le témoin (T1.Car), avec des moyennes de T2.AL= 69,1; T2.Car = 23,9mm.

Cas de *Pseudomonas* spp. contre *Neofusicoccum parvum*

Les résultats de l'effet antagoniste de *Pseudomonas* spp. Contre *Neofusicoccum parvum* sur les deux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) de vigne sont illustrés par la figure 27.

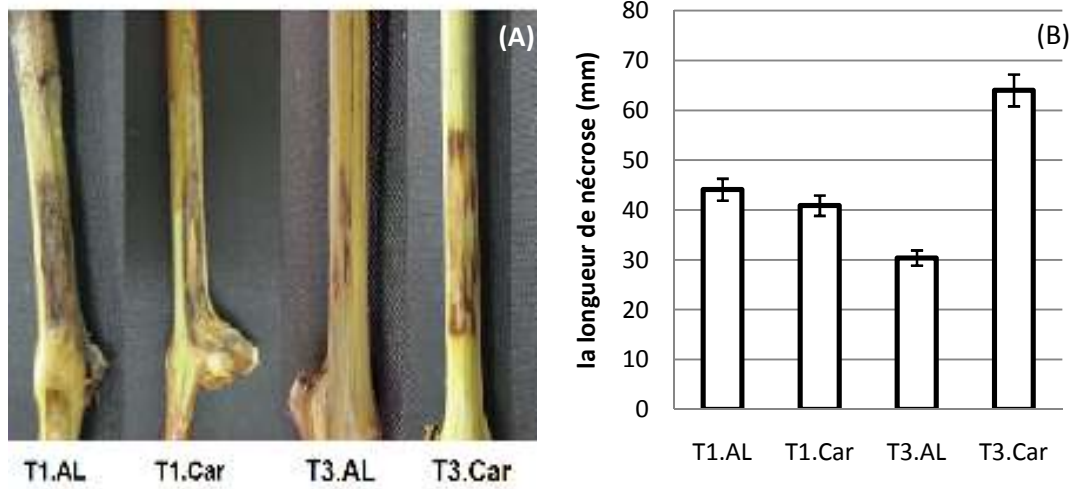


Figure 25: effets de l'antagonisme de *Pseudomonas* spp. contre *N. parvum* sur les deux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) de la vigne. (A) photographie des nécroses des boutures de la vigne T1 (témoin) T3 (traité par *Pseudomonas* spp.) (B) Graphique indiquant les longueurs moyennes des nécroses.

Au niveau des boutures témoins des deux variétés, *N. parvum* produit des lésions nécrotiques dont la longueur moyenne est de T1.AL= 4,41mm ; T1 Car= 40,9 mm. Les boutures traitées par *B. subtilis* de la variété cardinal (T2.AL) présentes des nécroses plus longues que celles du témoin (T1.AL). Contrairement aux boutures de la variété Cardinal (T2.Car) dont les nécroses sont moins que celles du témoin (T1.Car).

Cas de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* spp. contre *Neofusicoccum parvum* sur la variété de vigne (Alphonse Lavallée)

Les résultats de l'effet antagoniste simultané de *Pseudomonas* spp. et *B. subtilis* et l'effet de *Pseudomonas* spp. et *B. subtilis* contre *N. parvum* sur la variété (Alphonse Lavallée) de vigne. Les résultats sont illustrés par la figure 28.

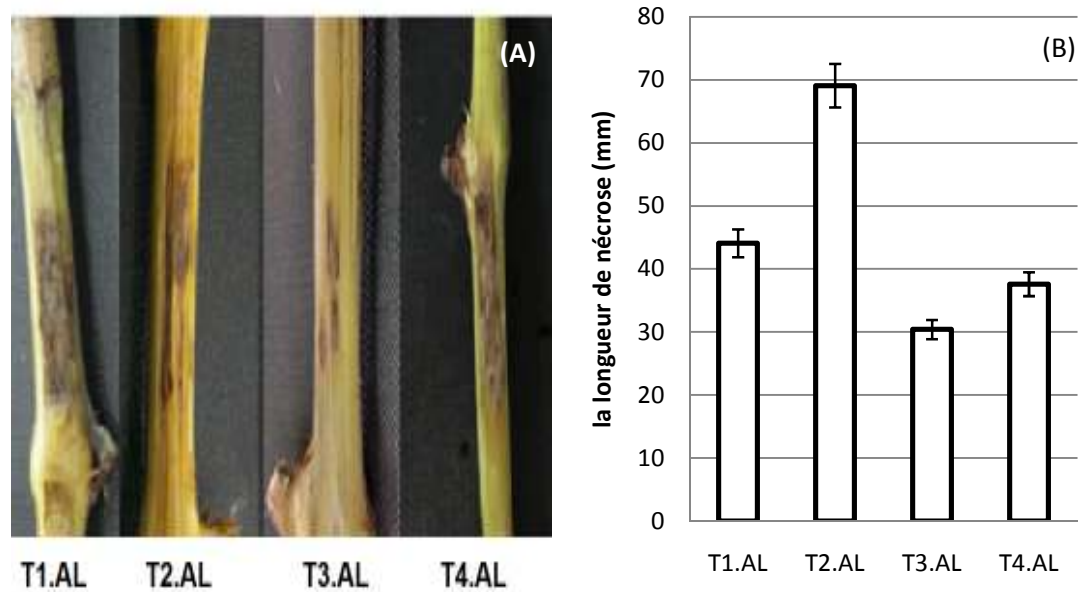


Figure 26: effets antagonistes de *Pseudomonas* spp. et *B. subtilis* et l'effet de *Pseudomonas* spp. et *B. subtilis* contre *N. parvum* sur la variété (Alphonse Lavallée) de la vigne. (A) photographie des nécroses des boutures de vigne T1 (témoin) T2 (traité par *B. subtilis*) T3 (traité par *Pseudomonas* spp.) T4 (*Pseudomonas* spp. et *B. subtilis*) (B) Graphique indiquant les longueurs moyennes des nécroses.

Sur les boutures témoins, *N. parvum* produit des lésions nécrotiques de longueurs moyennes de T1.AL= 44,1mm. Sur les boutures de la variété Alphonse-Lavallée (T2.AL) traitées par *B. subtilis* nous remarquons des nécroses plus longues que celles du témoin (T1.AL). Les boutures traitées par *Pseudomonas* spp. (T3.AL) présentent des nécroses moins importantes que celles du témoin (T1.AL). L'effet synergique des deux bactéries a permis d'avoir des nécroses moins importantes que celles du témoin.

7. Essais de promotion de croissance

7.1. Moyennes de la longueur des tiges et des racines

Les résultats des moyennes de la hauteur des tiges et la longueur des racines, sont représentés par le tableau 16 et la figure 30.31.32.33.

Tableau 16 : Hauteur des tiges et longueurs des racines

	Cardinal		Alphonse Lavallée	
	Hauteur des tiges (cm)	Longueurs des racines (cm)	Hauteur des tiges (cm)	Longueurs des racines (cm)
Témoin	13,55	3,82	13,98	6,1
<i>B. subtilis</i>	16,4	8,6	17,1	7,1
<i>Pseudomonas spp.</i>	15,85	15,05	14,65	8,15
<i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas spp.</i>	-	-	9,6	5,55

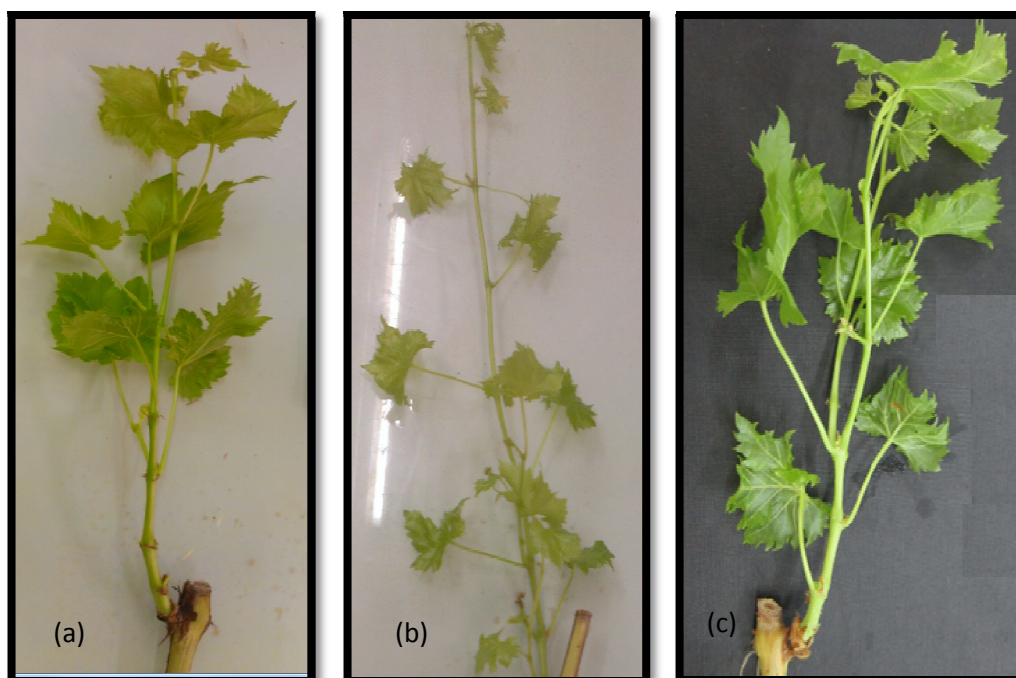


Figure 28: la longueur des tiges de la variété Alphonse Lavallée. (a) Témoin (b) traité par *B. subtilis* (c) traité par *Pseudomonas spp.*

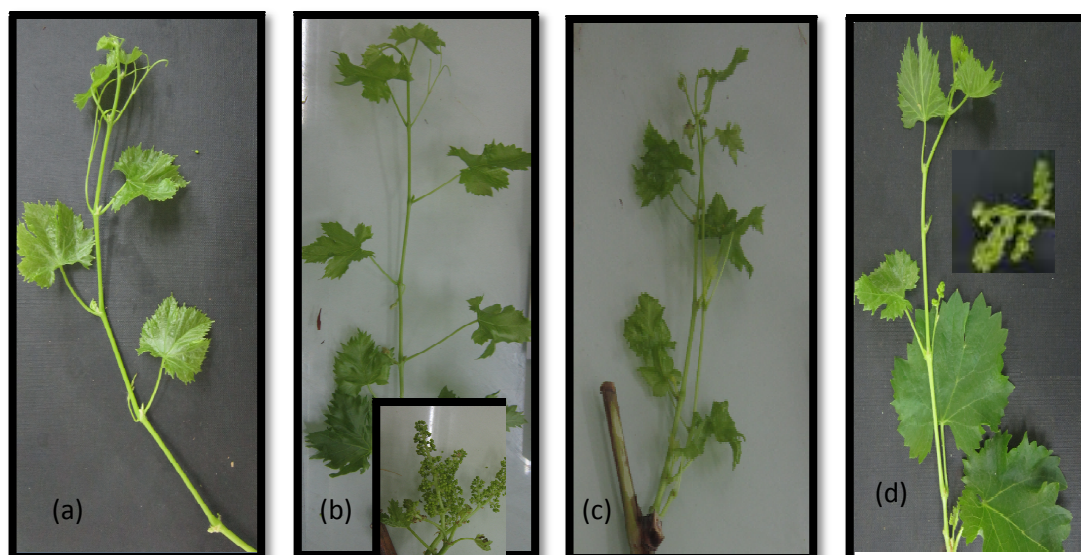


Figure 29: la longueur des tiges de la variété Alphonse Lavallée.(a) Témoin (b) bouture traitée par *B. subtilis* (c) traité par *Pseudomonas* spp.(d) bouture traitée par *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp.

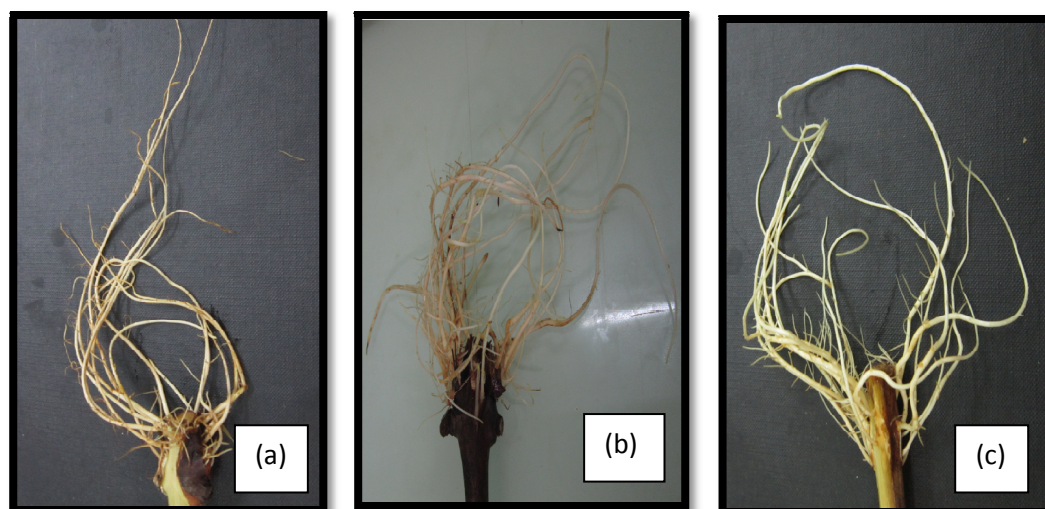


Figure 30: la longueur des racines de la variété Cardinal. (a) Témoin (b) bouture traitée par *B. subtilis* (c) bouture traitée par *Pseudomonas* spp.



Figure 31: la longueur des racines de la variété Alphonse Lavallée. (a) Témoin (b) bouture traitée par *B. subtilis* (c) bouture traitée par *Pseudomonas* spp. (d) bouture traitée par *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp.

Nous avons remarqué que la bacterisation des boutures des deux variétés par les souches antagonistes n'a aucun effet significatif sur le poids frais et le poids sec de la partie racinaire comparativement au témoin.

Pour la variété Cardinal, la hauteur des tiges et la longueur des racines traitées par *Pseudomonas* spp. (15,58 cm et 15,05 cm) sont supérieures à celles enregistrées pour le témoin (13,55 cm et 3,82 cm).

Pour la variété Alphonse-Lavallée, la bacterisation des boutures avec *B. subtilis* a un effet positif uniquement sur la hauteur des tiges (17,1 cm) comparé à *Pseudomonas* spp. et au témoin (14,65 cm et 13,98 cm). Nous avons enregistré 7,1 cm de long pour les racines des boutures traitées par *B. subtilis* et 8,15 cm pour celles traitées par *Pseudomonas* spp.

L'étude de l'association des deux souches antagonistes sur la stimulation du poids frais et le poids sec des racines n'a montré aucun effet synergique sur les paramètres étudiés.

7.2. Etude comparative des paramètres de croissance entre les variétés de la vigne et les traitements

- L'utilisation du modèle général linéaire (G.L.M.) a permis d'étudier les variations des paramètres de croissance des boutures d'Alphonse Lavallée et du Cardinal.

7.2.1. Hauteur des tiges

Les résultats d'étude comparative de la longueur des tiges par rapport aux variétés de la vigne et les traitements utilisés, sont représentés par le tableau 17, 18 et les figures 34.35.36.

Tableau 17: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. sur la hauteur de tige de bouture de vigne (Alphonse Lavallée et Cardinal).

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
variété	53.902	1	53.902	0.326	0.570
traitement	250.224	2	125.112	0.757	0.474

N.B. : non significative, * : moyennement significative à 5 % ; ** : hautement significative à 1 % ; *** : très hautement significative à 0,1 %

Tableau 18: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. en même temps sur la hauteur des tiges des boutures de vigne (Alphonse Lavallée).

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
traitement	354.785	3	118.262	0.785	0.510

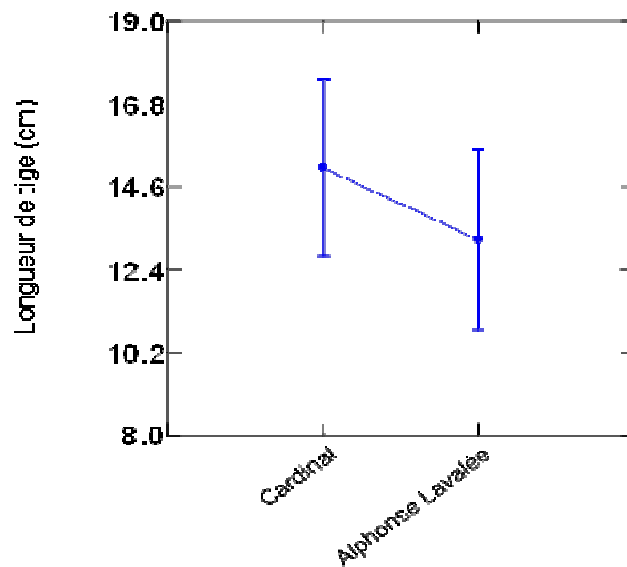


Figure 32: la longueur des tiges par rapport aux deux variétés de la vigne (Cardinal et Alphonse Lavallée)

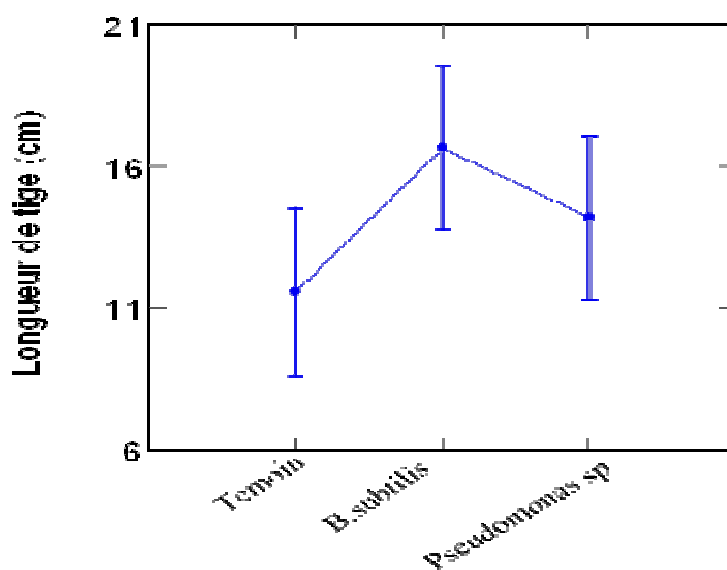


Figure 33: la longueur des tiges par rapport aux traitements.

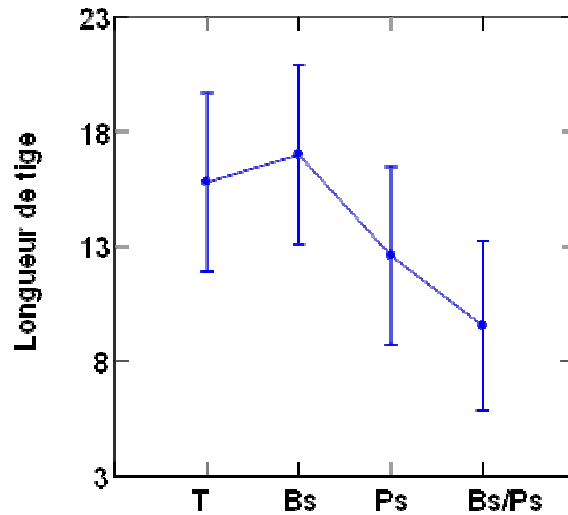


Figure 34: La longueur des tiges par rapport aux traitements utilisés sur la variété Alphonse Lavallée.

Le tableau (17) dénote le mode de traitement sur la hauteur des tiges pour les deux variétés de vigne. Les résultats révèlent l'absence d'une différence significative sur la hauteur des tiges. Variété ($p= 0.570$; $p> 0,1\%$). Traitement ($p= 0.474$; $p> 0,1\%$). Pour les résultats du tableau (18) nous signalons une absence d'une différence significative sur la hauteur de tige par rapport au traitement utilisé (Bs/Ps) sur Alphonse Lavallée. Traitement ($p= 0.510$; $p> 0,1\%$).

7.2.2. Longueurs des racines

Les résultats d'étude comparative de la longueur des racines par rapport aux variétés de vigne et les traitements utilisés, sont représentés par les tableaux 19 et 20 et les figures 37.38.39.

CHAPITRE III : RESULTATS ET INTERPRETATIONS

Tableau19 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *B. subtilis* et *Pseudomonasspp.* sur la longueur des racines des boutures de vigne.

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
variété	63.999	1	63.999	0.068	0.796
traitement	1630.346	2	815.173	0.860	0.429

N.B. : non significative, * : moyennement significative à 5 % ; ** : hautement significative à 1 % ; *** : très hautement significative à 0,1 %

Tableau20 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *B. subtilis* et *Pseudomonas spp.* sur la longueur des racines des boutures de la variété Alphonse Lavallée.

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
traitement	479.708	3	159.903	0.187	0.905

N.B. : non significative, * : moyennement significative à 5 % ; ** : hautement significative à 1 % ; *** : très hautement significative à 0,1 %

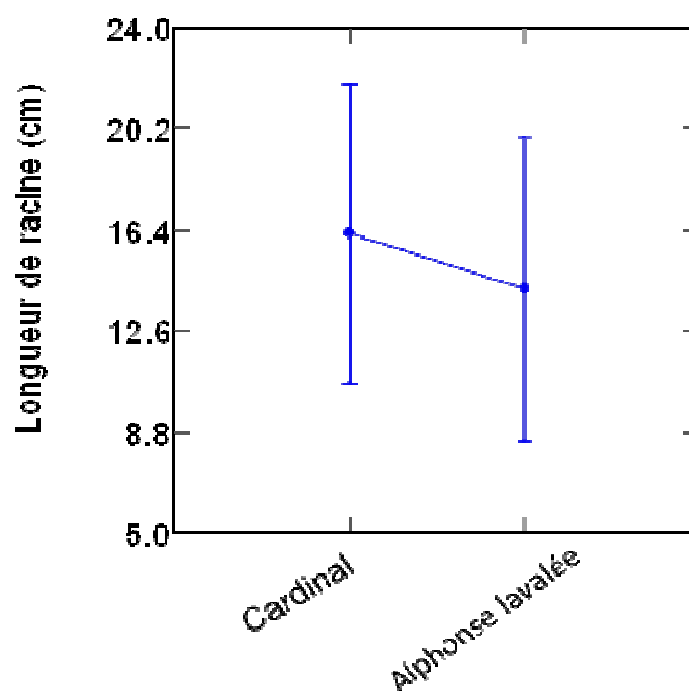


Figure 35: longueur des racines sur les boutures des deux variétés (Cardinal, Alphonse lavalée) traitées par *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp..

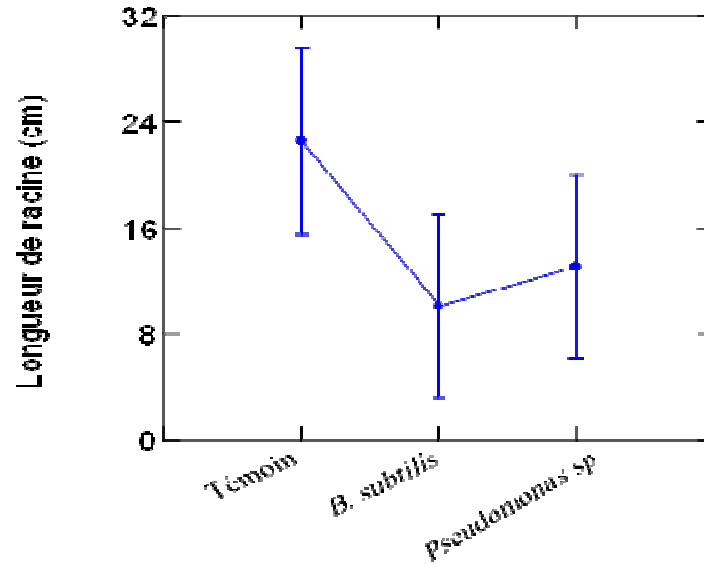


Figure36 : longueur des racines par rapport aux deux traitements (*B. subtilis* et *Pseudomonas* spp.).

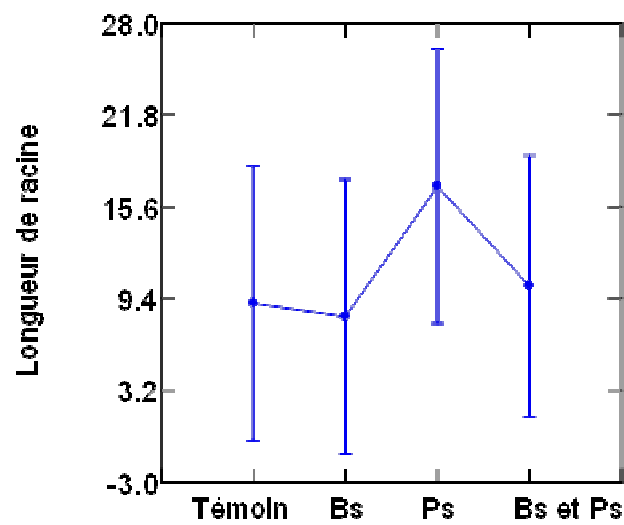


Figure 37: la longueur des racines sur la variété Alphonse Lavallée.

Le tableau (Tab19) dénote le mode de traitement sur la longueur des racines pour les deux variétés de vigne. Les résultats révèlent la présence aucune différence significative sur la longueur des racines. Variété ($p= 0.796$; $p> 0,1\%$). Traitement ($p= 0.429$; $p> 0,1\%$).pour résultats du tableau (Tab20) nous signalons une absence d'une différence significative sur la longueur des racines par rapport au traitement utilisé (Bs/Ps) sur Alphonse Lavallée. Traitement ($p=0.905$; $p>0,1\%$).

7.3.La phytomasse

7.3.1. Poids frais et poids sec de la partie aérienne

Les résultats des moyennes du poids frais et sec des tiges, sont représentés par le tableau 21.

Tableau 21: Poids frais et poids sec de la partie aérienne

	Cardinal		Alphonse Lavallée	
	Poids frais des tiges (g)	Poids sec des tiges (g)	Poids frais des tiges (g)	Poids sec des tiges (g)
Témoin	3,04	0,34	2,7	0,31
par <i>B. subtilis</i>	3,813	0,449	3,068	0,34
Traité par <i>Pseudomonas spp.</i>	3,195	0,392	2,148	0,331
traité par <i>B. subtilis</i> et <i>Pseudomonas spp.</i>	-	-	1,111	0,335

Nous avons remarqué que le poids frais et le poids sec de la partie aérienne des boutures traitées et du témoin ne présentent aucune différence et ceci chez les deux variétés.

Chez la variété Cardinal, le poids frais des tiges du témoin est de 3,04 g, celui des boutures traitées par *B. subtilis* est de 3,81 g et celui des boutures traitées par *Pseudomonas spp.* est de 3,19 g.

Chez la même variété, le poids sec des tiges du témoin est de 0,34 g. Celui des boutures traitées par *B. subtilis* est de 0,449 g et 0,39 g pour les boutures traitées par *Pseudomonas spp.*

En ce qui concerne la variété Alphonse Lavallée, le poids frais des tiges du témoin est de 2,7g. Les boutures traitées par *B. subtilis* ont un poids de 3,06 g, et celui des boutures traitées par *Pseudomonas spp.* ont un poids de 2,14 g.

7.3.2. Poids frais et poids sec de la partie racinaire

Les résultats des moyennes des poids frais et sec des racines, sont représentés dans le tableau 22.

Tableau 22 : Poids frais et poids sec de la partie racinaire

	Cardinal		Alphonse Lavallée	
	Poids frais des racines (g)	pois sec des racines (g)	Poids frais des racines (g)	pois sec des racines (g)
Témoin	0.22	0,015	0,47	0,07
traité par <i>B. subtilis</i>	0,952	0,077	0,706	0,037
traité par <i>Pseudomonas spp.</i>	0,175	0,032	0,756	0,014
traité par <i>B. subtilis</i> + <i>Pseudomonas s</i>	-	-	0,575	0,023

Selon le tableau 22, nous avons remarqué que la bactérisation des boutures des deux variétés par les souches antagonistes n'a aucun effet sur le poids frais et le poids sec de la partie racinaire comparativement avec le témoin.

Pour la variété Cardinal, le poids frais et le poids sec des racines traitées par *B. subtilis* est de 0,95 g et 0,077 g, respectivement. Ces poids sont supérieurs à ceux enregistrés par *Pseudomonas spp.* (0,17g, 0,032) et le témoin (0.22 g à 0,015).

Pour la variété Alphonse Lavallée, la bactérisation des boutures avec les souches antagonistes a un effet positif uniquement sur le poids frais des racines en comparant avec le témoin.

L'étude de l'association des deux souches antagonistes sur la stimulation du poids frais et le poids sec des racines n'a montré aucun effet synergique sur les paramètres étudiés.

7.4. Etude comparative des paramètres de croissance (poids frais et sec de tiges et racines) entre les variétés de la vigne et les traitements

7.4.1. Poids frais et sec des tiges

L'utilisation du modèle général linéaire (G.L.M.) a permis d'étudier les variations des paramètres de croissance de boutures de la vigne par rapport aux variétés (Alphonse Lavallée et Cardinal) et les traitements (*B. subtilis* et *Pseudomonas* spp.). Les résultats sont représentés par les tableaux 23, 24, 25, 26 et les figures 40, 41, 42.

Tableau 23: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. sur le poids frais des tiges des boutures de vigne.

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
variété	3.350	1	3.350	0.641	0.427
traitement	7.246	2	3.623	0.693	0.504

Tableau 24: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. en même temps sur le poids frais des tiges des boutures de vigne (Alphonse Lavallée).

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
traitement	24.974	3	8.325	1.723	0.179

Tableau 25: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. sur le poids sec des tiges des boutures de vigne.

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
variété	925.557	1	925.557	1.293	0.260
traitement	12490.985	2	6245.492	8.728	0.001

N.B. : non significative, * : moyennement significative à 5 % ; ** : hautement significative à 1 % ; *** : très hautement significative à 0,1 %

Tableau 26 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. au même temps sur le poids sec des tiges des boutures de vigne (Alphonse Lavallée).

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
traitement	5439.922	3	1813.307	1.814	0.162

N.B. : non significative, * : moyennement significative à 5 % ; ** : hautement significative à 1 % ; *** : très hautement significative à 0,1 %

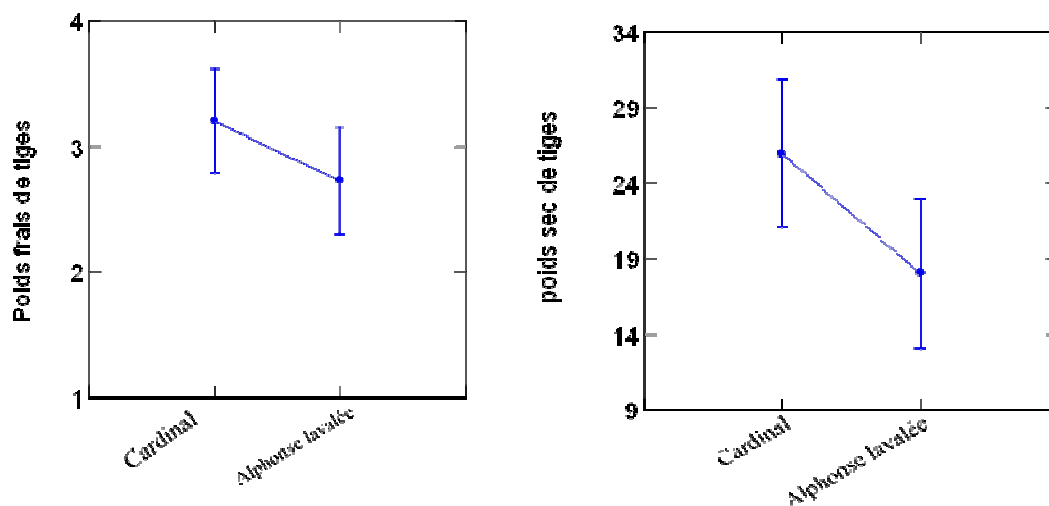


Figure 38: poids frais et sec de tiges par rapport aux deux variétés de vigne.

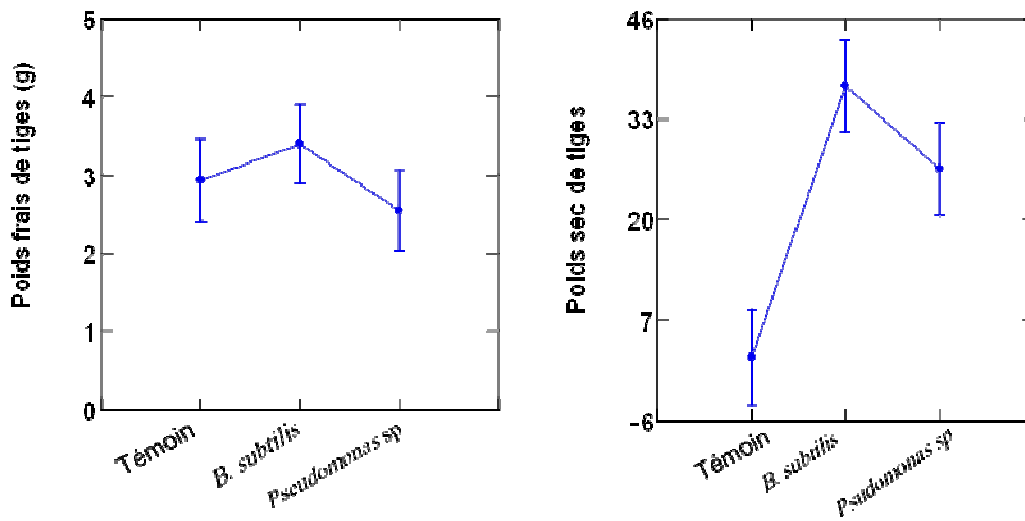


Figure 39: poids frais et sec des tiges par rapport aux traitements utilisés.

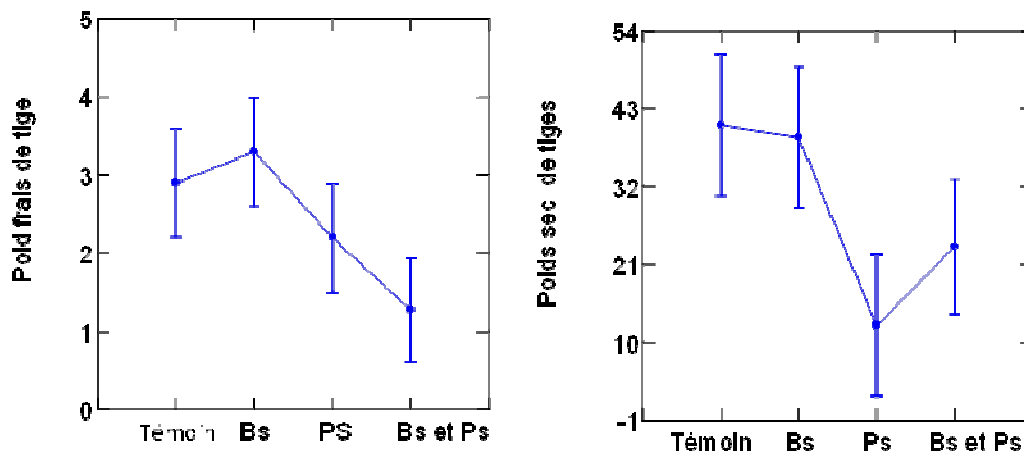


Figure 40: poids frais et sec des tiges des boutures traitées par *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. sur la variété Alphonse Lavallée.

Les tableaux dénotent que le mode de traitement et la variété révèlent la présence d'aucune différence significative sur la promotion de la croissance des boutures de vigne. Poids frais de tige : variété ($p = 0.427$; $p > 0,1\%$) traitement ($p = 0.504$; $p > 0,1\%$) traitement de Bs et Ps ($p = 0.179$; $p > 0,1\%$). Poids sec de tiges : variété ($p = 0.260$; $p > 0,1\%$), traitement de Bs et Ps ($p = 0.162$; $p > 0,1\%$). Sauf le cas de traitement présente une différence significative ($p = 0.001$; $p > 0,1\%$).

7.4.2. Poids frais et sec des racines

L'utilisation du modèle général linéaire (G.L.M.) a permis d'étudier les variations des paramètres de croissance des boutures de vigne (Alphonse Lavallée et Cardinal). Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux 27, 28, 29, 30 et les figures 45, 46, 47.

Tableau 27: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. sur le poids frais des racines.

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
variété	2253.554	1	2253.554	4.887	0.031
traitement	2791.005	2	1395.502	3.027	0.057

N.B. : non significative, * : moyennement significative à 5 % ; ** : hautement significative à 1 % ; *** : très hautement significative à 0,1 %

Tableau 28: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. sur le poids sec des racines.

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
variété	26.222	1	26.222	0.189	0.665
traitement	697.308	2	348.654	2.512	0.090

N.B. : non significative, * : moyennement significative à 5 % ; ** : hautement significative à 1 % ; *** : très hautement significative à 0,1 %

Tableau 29 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. en même temps sur le poids frais des racines sur la variété Alphonse Lavallée.

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
traitement	4215.667	3	1405.222	3.667	0.021

Tableau 30: Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. au même temps sur le poids sec des racines sur une variété Alphonse Lavallée.

source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	p
traitement	5596.451	3	1865.484	0.667	0.578

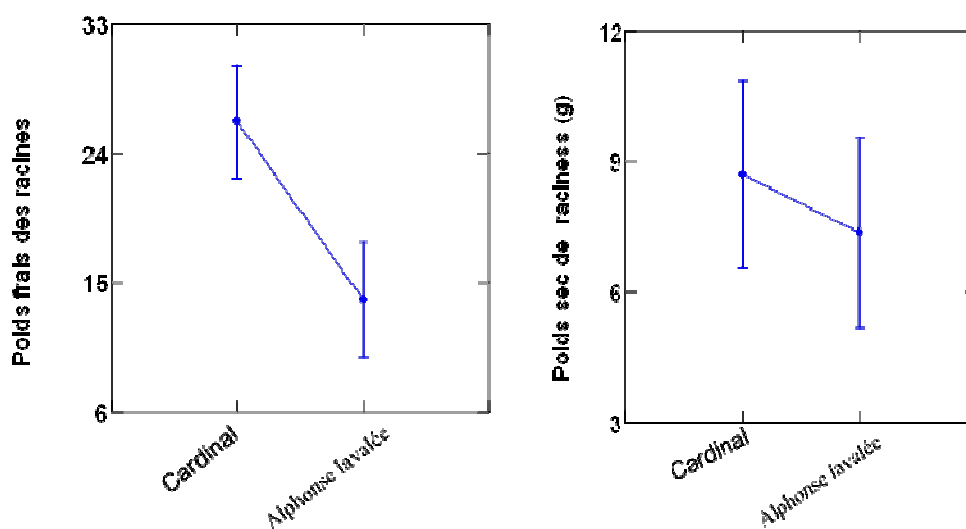


Figure 41: poids frais et sec des racines par rapport aux deux variétés.

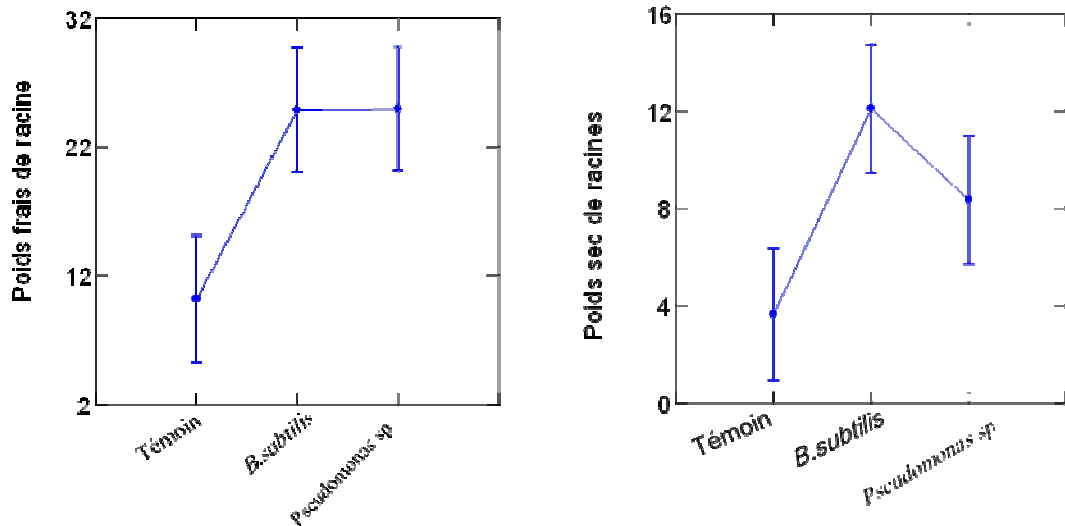


Figure 42: Poids frais et sec des racines par rapport aux traitements utilisés.

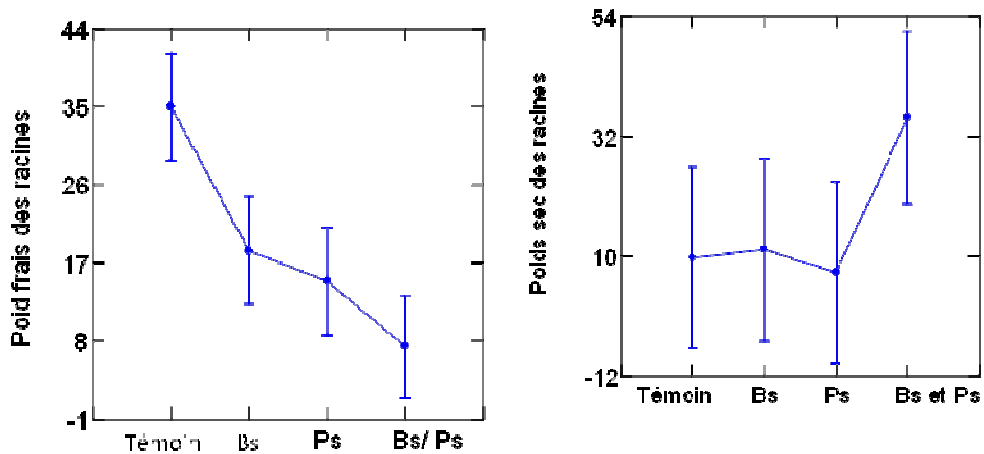


Figure 43: poids frais et sec des racines par rapport aux boutures traitées par *B. subtilis* et *Pseudomonas* spp. sur la variété Alphonse Lavallée.

Les tableaux (29 et 30) dénotent que le mode de traitement et la variété ne présentent aucune différence significative sur la promotion de croissance des boutures de vigne. Poids frais de racine : variété ($p= 0.031$; $p> 0,1\%$) traitement ($p= 0.057$; $p> 0,1\%$) traitement de Bs et PS($p= 0.021$; $p> 0,1\%$) . poids sec de racines : variété($p= 0.665$; $p> 0,1\%$), traitements($p= 0.090$; $p> 0,1\%$), traitement de Bs et Ps($p= 0.578$; $p> 0,1\%$).