



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 DE BIOTECHNOLOGIE



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

Activité antagoniste de
Trichoderma sp et *Beauveria bassiana* vis-à-vis
Diplodia seriata et *Neofusicoccum parvum* agents
du dépérissement de la vigne.

Présenté par

Melle. Ihaddadene Khalida

Devant les jurys ::

Melle. Sabri K.

M.A.A.

Présidente.

Mme BERAF A.

M.C.A.

Promotrice.

Mme AIT SAADI N.

M.A.A.

Co.Promotrice .

Mme AMMAD F.

M.C.B

Examinatrice.

Melle. TOUDJI F.

Doctorante

Examinatrice.

Année Universitaire :2014 / 2015.

Remercîments

Le travail présenté dans ce mémoire de master a été effectué au sein du laboratoire de microbiologie, département des Biotechnologies à *l'Université Saad Dahleb de Blida 1*.

Ce mémoire n'aurait pu voir le jour sans la participation laborieuse, le soutien, la bienveillance ou tout simplement la présence de nombreuses personnes. Je vais donc essayer de trouver les mots justes pour exprimer spécifiquement ma reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail.

Mes remerciements s'adressent à Mme. **BERRAF-TEBBAL A.**, *Maitre de Conférences classe A à l'Université de BLIDA I*, pour avoir accepté d'encadrer et diriger mon travail. Ces idées et ses conseils ont été essentiels pour l'aboutissement de ce modeste mémoire.

A Mme **AIT SAIDI N.**, *Maitre assistant classe A à l'Université de BLIDA I*, pour avoir accepté de co-encadrer et diriger mon travail, de m'avoir fait profiter des connaissances et pour le soutien et conseils qu'elle m'a accordé.

Je tiens également à remercier : M^{lle} **Sabri. K.**, *Maitre assistant classe A à l'université de Blida 1* présidente de jury, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

A Mme **AMMAD F.**, *Maitre de conférences classe B* et M^{lle} **Toudji F.** *doctorante à l'université de Blida 1*, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

A Mme **MOHAMED MAHMOUD F.**, *Maitre assistante classe A à l'Université de BLIDA 1* de m'avoir faite profiter de ces connaissance, et pour ces bons conseils.

A mes collègues **Mounia et Sarah**, pour leur compréhension et leur soutien, je leur adresse ma profonde gratitude et a mes collègues d'étude : **Radhia, Ahlem , Hamida, Amina, Sabrina.** .

A ma très chère amie **Khadidja** pour son amitié et d'avoir aidé et était toujours la avec moi le long du chemin.

Remercîments

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

Un grand merci à *Mme. Amina technicienne de laboratoire de Zoologie du Département de Biotechnologie de l'université de Blida* pour sa générosité pendant ces trois années.

Un très grand Merci à tous mes proches, qui m'ont supportée et soutenue particulièrement dans les derniers instants, *ma sœur, mes frères, et mes parents* pour leurs encouragements, les relectures difficiles. Un grand merci à vous cinq, surtout pour tout le reste.

Enfin, je ne peux clôturer ces lignes mais plutôt je devrais les commencer par adresser mes remerciements les plus sincères à *Khalid*, pour le soutien qu'il m'a apporté tout au long de mon cursus d'étude, de m'avoir épaulé durant mes moments les plus difficiles.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail à :

*à mes parents **Mohamed Ouamer, Chafiaa** qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout le long de mes études.*

*A : Ma grande mère **Tessaadit** que dieu la garde pour nous*

*Ma très chère sœur : **Saadia,***

*Mes très chers frères : **Hakim, et Hamid***

*A mon cher **Khalid,***

*Et a mes très chères amies **Khadidja et Radhia***

Toutes mes amies en qui j'ai toujours trouvé le soutien et le réconfort.

*Toute la promotion de **Phytoprotection Durable** : 2014-2015.*

SOMMAIRE

Remercîment

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Listes des figures

Abréviation

Introduction 1

Partie 1. Donnée Bibliographique

I.	La vigne (<i>Vitis vinifera</i>).....	3
	1. Botanique).....	3
	2. Cycle de développement.....	3
	2.1.cycle végétatif.....	3
	2.2. Cycle reproducteur	4
	3. Place de la vigne dans le monde	4
	4. Place de la vigne en Algérie	5
II.	Maladies de la vigne.....	6
	1. Maladies du a des ravageurs	6
	2. . Maladies du à des microorganismes.....	7
III.	Maladies du bois	9
	1.Eutypiose.....	9
	1.1. Symptomatologie de l'Eutypiose.....	9
	2. L'esca	10
	2.1. Symptôme.....	10
	2.1.1. Forme apoplectique.....	10
	2.1.2. Forme lente.....	11
	3. <i>Botryosheria dieback</i> (ou le dépérissement à <i>Botryosheria</i>)	12
	3.1. Caractéristiques des <i>Botryosphaeriaceae</i>	12
	3.2 Biologie et épidémiologie.....	12
	3.2.1. Conservation et source d'inoculum.....	12

3.2.2.	sporulation, dissémination	13
3.2.3.	Pénétration dans la plante et invasion de l'hôte.....	13
3.3.	les symptômes	14
IV.	Méthode de lutte	15
1.	Pratiques culturales	15
2.	Lutte Biologique	16
V.	Biocontrôle par utilisation de micro-organismes.....	16
1.	Agent de biocontrôle utilisés contre les maladies de la vigne.....	16
1.1.	cas de <i>Trichoderma</i>	17
1.1.	taxonomie	17
1.2.	Mode d'action.....	18
1.2.1.	Antibiose et métabolites secondaires.....	18
1.2.2.	Mycoparasitismes et production des enzymes lytiques.....	19
1.2.3.	Compétition	19
1.2.4.	colonisation racinaire.....	20
1.2.5.	Stimulation de la croissance des plantes.....	20
1.2.6.	induction de la résistance chez les plantes	20
1.2.	Cas de <i>Beauveria bassiana</i>	21
1.2.1.	Mode d'action	22
Partie 2 : MATERIEL ET METHODE		
I.	Matériel.....	23
1.	Matériel biologique	23
	Matériel végétal.....	24
II.	Méthodes	24
1.	Purification des champignons.....	24
2.	Observation microscopique.....	24
3.	Activité antagonistes <i>in vitro</i>	25
3.1.	antagonisme en confrontation directe.....	25
3.2.	Reprise des implants.....	26
3.3.	Production d'acide cyanhydrique (HCN)	26
3.4.	Production de métabolites volatils.....	27
4.	Activité antagoniste <i>in Situ</i>	28
4.1.	Méthodologie.....	28

4.2. Ré-isolément des pathogènes.....	30
5. Evaluation de la phytostimulation.....	31
5.1. Paramètres de croissance	32
5.1.1. H auteur des tiges	32
5.1.2. Longueur des racines.....	33
6. la phytomasse.....	33
6.1. poids frais et poids sec de la partie aérienne	33
6.2. poids frais et sec de la partie racinaire	33
III. Les analyses statistiques.....	33
Partie 3 : RESULTATS ET INTERPRETATION	
I. 1. Etude macroscopique et microscopique de <i>D. seriata</i>	34
I. 2. Etude macroscopique et microscopique <i>N. parvum</i>	35
I. 3. Etude macroscopique et microscopique de <i>Trichoderma</i> sp	35
I. 4. Etude macroscopique et microscopique de <i>Beauveria bassiana</i>	36
II. Activité antagonistes in vitro	36
II. 1. Confrontation directe.....	36
II. 1.1. Les analyses statistiques	38
II. 1.1.a <i>Diplodia seriata</i>	38
II. 1.1.b <i>Neofusicoccum parvum</i>	39
II. 2. Reprise des implan.....	41
II. 3. Production d'acide cyanhydrique d'HCN	42
II. 4. Production de métabolites volatils.....	43
III. Effets antagonistes <i>in vivo</i>	45
III. 1.1. Alphonse Lavallé.....	46
III. 1.2. Cardinal.....	46
III. 2. Ré-Isolement	48
III. 2.1. le cas de <i>Diplodia seriata</i>	48
III. 2.2. le cas de <i>Neofusicoccum parvum</i>	48
IV. Evaluation de la phytostimulation	50
IV. 1. longueurs des tiges et longueurs des racines.....	50
IV. 2. Les analyses statistiques	53
V. La phytomasse.....	55
V. 1. Le poids frais et sec de la partie aérienne.....	55
V. 2. Le poids frai et sec de la partie racinaire	57

V. 3. Les analyses statistiques57
Partie 4 : DISCUSSION GENERALE.....60
CONCLUSION63
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Activité antagoniste de
Trichoderma sp et Beauveria bassiana vis à vis Diplodia seriata et Neofusicoccom
parvum agents du dépérissement de la vigne.

Résumé

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence, l'effet et les potentialités antagonistes des deux isolats fongiques *Trichoderma* sp et *Beauveria bassiana* vis-à-vis de deux pathogènes fongiques, *Diplodia seriata* et *Neofusicoccom parvum*, agents de dépérissement de la vigne.

L'application de ces isolats fongiques a permis de mettre en évidence des potentialités antagonistes inhibant *in vitro* la croissance de *Diplodia seriata* et de *Neofusicoccom parvum* sur milieu PDA avec des taux d'inhibition de la croissance mycélienne allant jusqu'à 45.52 % pour l'espèce *Beauveria bassiana* à l'égard de *Diplodia seriata*.

L'application *in situ* confirme d'avantage les actions antagonistes des deux isolats antagonistes à l'égard des agents pathogènes. Il apparaît que l'effet antagoniste diffère selon l'isolat antagoniste. Les meilleurs résultats sont obtenus avec *Trichoderma* sp et *Beauveria bassiana* avec une réduction moyenne des nécroses de 2.95cm causés par *Diplodia seriata* sur la variété Alphonse Lavallé.

Le test de stimulation de la croissance des boutures de *Vitis vinifera* avec les deux variétés par *Trichoderma* sp et *Beauveria bassiana* appliquées seuls et en association sur les boutures d'Alphonse Lavallé n'a montré aucune différence significative par rapport au témoin non traité.

Mots clés : *Trichoderma*, *Beauveria bassiana*, *Diplodia seriata*, *Neofusicoccom parvum*, antagonisme, *Vitis vinifera*.

Antagonist activity
Trichoderma sp and Beauveria bassiana against Diplodia seriata Neofusicoccom parvum
agents and dieback of the vine.

ABSTRACT

The objective of this study is to highlight the effect and potential of two antagonistic fungal isolates *Trichoderma* sp and *Beauveria bassiana* against two fungal pathogens, *Diplodia seriata* et *Neofusicoccom parvum*, vine dieback agents.

The application of these fungal isolates permitted to identify potential antagonists inhibiting in vitro the growth of *Diplodia seriata* and *Neofusicoccom parvum* on PDA medium with inhibition of mycelial growth rate up to 45.52% for the species *Beauveria bassiana* against *Diplodia seriata*.

In situ implementation confirms the advantage of the opposing actions of two isolates antagonistic against pathogens. It appears that the antagonistic effect differs depending on the antagonist isolate. The best results are obtained with *Trichoderma* sp *Brauveria bassiana* and with an average reduction of 2.95cm necrosis caused by *Diplodia seriata* the Alphonse Lavallée variety.

The growth stimulation test of *Vitis vinifera* cuttings with two varieties by *Trichoderma* sp and *Beauveria bassiana* applied alone and in combination on cutting Alphonse Lavallée showed no significant difference from the untreated control.

Keywords: *Trichoderma*: *Beauveria bassiana*, *Diplodia seriata*, *Neofusicoccom parvum*, antagonism *Vitis vinifera*.

التأثير العدائي لـ *Trichoderma sp* و *Beauveria bassiana sp* ضد فطريات الموت الغير الرجعي للكرمة
Diplodia seriata و *Neofusicoccum parvum*

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تسليط الضوء على تأثير وإمكانات اثنين من العزلات الفطرية العدائي *Trichoderma sp* و *Beauveria bassiana* ضد اثنين من مسببات الأمراض الفطرية *Diplodia seriata* و *Neofusicoccum parvum*

ساعد تطبيق هذه العزلات الفطرية تسليط الضوء الخصوم المحتملين في المختبر على تثبيط نمو *Diplodia seriata* *Neofusicoccum parvum* في *PDA* مع تثبيط معدل نمو فطر تصل إلى 45.52% للأنواع *beauveria* *Diplodia seriata* على *bassiana*

يؤكد تطبيق في النبات كذلك إجراءات معارضة اثنين من العزلة العدائية ضد مسببات الأمراض. يبدو أن التأثير المضاد يختلف تبعاً لعزل خصم ويتم الحصول على أفضل النتائج مع *Trichoderma sp* و *Beauveria bassiana* متوسط الحد من 2.95 سم نخر الناجمة عن *Diplodia seriata* على مجموعة متنوعة *Alphonse laval* اختبار تحفيز النمو قطع من *Vitis vinefera* مع اثنين من الأصناف. بواسطة *Trichoderma sp* و *Beauveria bassiana* تطبيق حده، وبالأشتراك في قطع *Alphonse Lavall* لم تظهر أي اختلاف كبير من سيطرة غير المعالجة.

الكلمات المفتاحية : *Trichoderma, Beauveria bassiana, Diplodia seriata, Neofusicoccom parvum,* ، تضاد *.vitis vinifera*.

LISTE DES ABREVIATIONS

°C: degré Celsius

cm : centimètre

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations.

GTD : grapevine trunk diseases

h : heure

mm : millimètre

mn : minute

PDA : Potato Dextrose Agar

Qx : quintaux

mqx : milliers de quintaux

FAO : Food and agriculture organisation

OIV : Organisation Internationale de la Vigne

GFLV : Grapevine Fanleaf Virus

l'ArMV : Arabis Mosaic Virus

GLRaV Grapevine leafroll-associated virus

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

BCA : Bio Control Agent

PGPM : Plant GrowthPromotingMicroorganism

HCN : acide cyanhydrique

GLM : General Linear Model.

Liste des tableaux

	Pages
Tableau 1 : les ravageurs de la vigne	6
Tableau 2 : les maladies de la vigne.....	7
Tableau 3 : Classification de <i>Trichoderma</i> (Bisset, 2004)	18
Tableau 4 : Taxonomie de <i>Beauveria</i> sp(Veullemin,1912).....	21
Tableau 5 : Caractéristiques des isolats fongiques.....	23
Tableau 6 : Différentes caractéristiques des parcelles.....	24
Tableau 7 : Dispositif expérimental.....	32
Tableau 8 . Zone et taux d'inhibition de <i>Trichoderma</i> et <i>Baeuvéria</i> vis-à-vis de <i>Diplodia</i> et <i>Neofusicoccum</i>	37
Tableau 9 :Modèle G.L.M. appliqué à la zone d'inhibition de <i>Trichoderma</i> sp et <i>B. bassiana</i> sur <i>D. seriata</i>	38
Tableau 10 .Modèle G.L.M. appliqué au taux d'inhibition de <i>Trichoderma</i> sp et <i>B. bassiana</i> sur <i>D.seriata</i>	38
Tableau 11 .Modèle G.L.M. appliqué a la zone d'inhibition de <i>Trichoderma</i> sp et <i>B. bassiana</i> sur <i>N. parvum</i>	39
Tableau 12 .Modèle G.L.M. appliqué a le taux d'inhibition de <i>Trichoderma</i> sp et <i>B. bassiana</i> sur <i>N. parvum</i>	40
Tableau 13 La reprise des implants des pathogènes tester en confrontation avec les antagonistes.....	43
Tableau 14 . La taille des nécroses des boutures testées (en cm).....	45
Tableau 15 .Les résultats du ré-isolement des agents pathogènes à partir des boutures traitées.....	48

Liste des tableaux

Tableau 16. La longueur des tiges et racines par rapport aux traitements et aux variétés.....	51
Tableaux 17. Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>Trichoderma</i> sp et <i>B. bassiana</i> sur la hauteur des tiges des boutures de vigne sur les deux variétés.....	53
Tableau 18. . Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>Trichoderma</i> sp et <i>B. bassiana</i> sur la longueur des racines de bouture de vigne sur les deux variétés.....	53
Tableau19. Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>Trichoderma</i> sp et <i>B. bassiana</i> et l'effet des variétés sur le poids frais des tiges.....	55
Tableau 20 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>Trichoderma</i> sp et <i>B. bassiana</i> et l'effet des variétés sur le poids sec des tiges.....	55
Tableau 21. Poids frais et sec des racines par rapport aux traitements et aux variétés.....	57
Tableau22 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>Trichoderma</i> sp et <i>B. bassiana</i> et l'effet des variétés sur le poids frai et sec des racines.....	57
Tableau 23. Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de <i>Trichoderma</i> sp et <i>B. bassiana</i> et l'effet des variétés sur le poids sec des racines.....	58

.

Liste des tableaux

LISTE DES FIGURE

	Page
Figure 1 : Stades phrénologiques, cycles végétatif et reproducteur de la vigne (Roumpf ;2015.).....	4
Figure 2 : superficie des vignobles en Algérie année 2014 d’après la FAO.....	2
Figure3 : Symptômes de maladies cryptogamiques.(a) Le mildiou; (b) L'oïdium (c)black rot.(Christophe Schneider, INRA, Colmar 2000)	9
Figure 4 : Symptômes associés à l’eutypiose : nanification et rabougrissement des rameaux au niveau des organes aériens (A) et nécrose sectorielle au niveau du bois (B).(Photographies INRA et IFV 2000).....	10
Figure 5 . Photos représentant la forme dite lente (a) et la forme apoplectique (b). (Urbez-Torres et al. 2006).....	11
Figure 6 . Symptômes caractéristiques d’une feuille atteinte par la maladie (Urbez-Torres et al. 2006).....	11
Figure 7 . Cycle biologique de <i>Diplodia seriata</i> (Úrbez-Torres, 2011).....	13
Figure 8 . Symptômes extérieurs causés par les <i>Botryosphaeriaceae</i> (Úrbez-Torres, 2011).....	14
Figure 9 . Nécroses dans le bois dues aux chancres à <i>Botryosphaeria</i> (Úrbez-Torres, 2011).....	15
Figure 10 . Méthode de confrontation directe en boîte de Petri entre les champignons pathogènes et antagonistes.	25
Figure 11 . la méthode du teste de la production d’HCN.....	27
Figure 12 :a) l’incision de la bouture a l’aide d’une scalpel. b) inoculation des mycéliums pathogènes et antagonistes. c) les incisions enveloppées avec du coton stérile humide. d) les incisions du papier aluminium puis scellées avec du parafilm.....	28
Figure 13 : la synergie des mycéliums antagonistes sur les bouture de vigne (Alphonse Lavallé).....	30
Figure 14 . le ré-isolément des souches pathogènes sur milieu PDA.....	31
Figure 15 : (a), Observation Macroscopique, et (b) Macroscopique de <i>D. seriata</i> (X40).....	34

LISTE DES FIGURE

Figure16: (a), Observation Macroscopique, et (b) Microscopique de <i>N. parvum</i> (X40).....	35
Figure17. Observation macroscopique de <i>Trichoderma</i> sp	35
Figure 18: (a) Observation macroscopique, et (b) microscopique de <i>B. bassiana</i> (x40).....	36
Figure19 : (a) <i>D. seriata</i> (témoin), (b) <i>Trichoderma</i> sp confrontée avec <i>D. seriata</i> ,(c) <i>B. bassiana</i> confrontée avec <i>D.seriata</i> ,(d) <i>N.parvum</i> (Témoin),(e) <i>Trichoderma</i> sp confrontée avec <i>N.parvum</i> ,(f) <i>B.bassiana</i> confrontée avec <i>N.parvum</i>	37
Figure 20. Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de traitement sur la zone et le taux d'inhibition sur <i>D. seriata</i>	39
Figure 21. Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de traitement sur la zone et le taux d'inhibition sur <i>N. parvum</i>	40
Figure22. (a) : Implant de <i>Trichoderma</i> vis-à-vis <i>N.parvum</i> , (b) :implant <i>B.bassiana</i> vis-à-vis <i>N.parvum</i> , (c) :implant <i>Trichoderma</i> vis à vis de <i>D.seriata</i> , (d) :implant <i>B.bassiana</i> vis-à-vis <i>D.seriata</i>	42
Figure 23 . La production d'acide cyanhydrique (HCN) : (a) : Témoin, (b) : <i>Trichoderma</i> sp , (c) : <i>B. bassiana</i>	43
Figure 24 : (a) : Témoin <i>Diplodia</i> , (b) : <i>Trichoderma</i> vis-à-vis <i>Diplodia</i> , (c) : <i>Beauveria</i> vis-à-vis <i>Diplodia</i> , (d) : Témoin <i>N.parvum</i> ,(e) : <i>Trichoderma</i> vis-à-vis <i>N.parvum</i> ,(f) : <i>Beauveria</i> vis-à-vis <i>N.parvum</i>	44
Figure 25. Taille des nécroses des boutures traitées par rapport aux variétés de <i>Vitis vinifera</i> (Alphonse Lavallé et Cardinal).....	45
Figure 26. Les nécroses présentées sur les boutures de <i>Vitis vinifera</i> (variété Alphonse Lavallé). Témoin <i>D. seriata</i> (a), <i>D. seriata</i> traitée par <i>Trichoderma</i> sp.(b), <i>D. seriata</i> traitée par <i>B. bassiana</i> (c).Témoin <i>N. parvum</i> (d). <i>N. parvum</i> traitée par <i>Trichoderma</i> sp.(e). <i>N. parvum</i> traité par <i>B. bassiana</i> (f).....	47
Figure 27. Les nécroses présentées sur les boutures de <i>Vitis vinifera</i> (variété cardinal). (a) : Témoin <i>D. seriata</i> , (b) : <i>D. seriata</i> traitée par <i>Trichoderma</i> sp., (c) : <i>D. seriata</i> traitée par <i>B. bassiana</i> . (d) : Témoin <i>N. parvum</i> . (e) : <i>N. parvum</i> traitée par <i>Trichoderma</i> sp . (f) : <i>N. parvum</i> traitée par <i>B. bassiana</i>	47

LISTE DES FIGURE

- Figure 28.** le ré-isolement des agents pathogènes sur Alphonse Lavallé: (a) : Témoin, (b) : *Trichoderma* sp. avec *D.serriata*, (c) : *B.bassiana* avec *D.serriata*, (d) : Témoin *N.parvum*,(e) : *Trichoderma* sp. avec *N.parvum*,(f) :*B.bassiana* avec *N.parvum*, (g) : *Trichoderma* sp.et *B. bassiana* avec *N. parvum*.49
- Figure 29.** Le ré-isolement des agents pathogènes sur Cardinal: Témoin *D.serriata* (a), *Trichoderma* sp avec *D.serriata* (b), *B.bassiana* avec *D.serriata* (c), Témoin *N.parvum* (d), *Trichoderma* sp avec *N.parvum* (e),), *B.bassiana* avec *N.parvum* (f).....50
- Figure 30:** la longueur des tiges variétés Alphonse Lavallé: Témoin (a), traité avec *Trichoderma* sp (b), traité avec *B. bassiana* (c). Variété Cardinal : Témoin(d), traité avec *Trichoderma* sp (e), traité avec *B. bassiana* (e).....52
- Figure 31.** La longueur des racines des boutures ;Alphonse Lavallée témoin (a), traité par *Trichoderma* sp (b), traité par *B. bassiana* (c) traité par *Trichoderma* sp + *B. bassiana* (d). Cardinal témoin (e), traité par *Trichoderma* sp (f), traité par *B. bassiana*.52
- Figure32.** Les longueursde tige et racine sur les boutures traitées par *Trichoderma* sp et *B. bassiana* par rapport aux deux variétés de *Vitis Vinifera* (Cardinal et Alphonse Lavallé).....54
- Figure 33.** La longueur des tiges et racines des boutures de *Vitis vinifera* traitées par l'association de *Trichoderma* sp et *B. bassiana*.....54
- Figure34.** Poids frais et sec des tiges par rapport aux variétés.....56
- Figure35.** Poids frais et sec des tiges par rapport aux traitements.56
- Figure36.** Analyse par GLM du Poids frais et sec des racines par rapport aux variétés.....58
- Figure37.** Analyse par GLM de Poids frais et sec des racines par rapport aux traitements.....58

LISTE DES FIGURE

La viticulture fait partie intégrante de la vie économique et sociale de l'Algérie. Ce vaste pays, de par sa position géographique privilégiée et ses diverses conditions pédoclimatiques, a en effet le privilège de mettre en culture la vigne (Benettayeb, 1993).

Avant l'indépendance, l'Algérie était le quatrième producteur mondial de vin, après la France, l'Italie et l'Espagne. En effet, le vignoble algérien couvrait une superficie de 80 423 ha, et produisait 14 à 18 millions d'hectolitres de vin par an (La FAO, 2014). L'Algérie offre par ses caractéristiques pédoclimatiques (nature du sol et ensoleillement) les conditions optimales pour la production de raisin.

Comme toute plante, la vigne est sujette à de nombreuses attaques d'agents pathogènes d'origines virales, bactériennes et fongiques. Ces derniers peuvent pénétrer par différentes voies tels que les plaies de taille, ainsi que par les autres blessures accidentelles et se développent lentement dans le bois et par conséquent, causer des dommages à la plante (Galet, 1995 ; Dubos, 2002).

Les maladies du bois existent dans le monde depuis toujours, mais depuis plus d'une décennie qu'elles sont considérées comme faisant partie des problèmes sanitaires les plus préoccupants des plantes et plus particulièrement des vignobles. Elles sont causées par des champignons lignicoles pénétrant par des blessures, en particulier lors de la taille (Larignon, 2012).

Plusieurs facteurs semblent être impliqués dans ces maladies qui engendrent un stress vasculaire pouvant conduire à la mort de la plante. Plusieurs complexes fongiques ont été mis en cause et associés à ces différentes maladies du bois (Dubos, 2002).

Les maladies du bois font l'objet de plusieurs études à l'échelle mondiale, elles sont surtout étudiées sur la vigne (Chiarappa, 1959; Larignon and Dubos, 1997; Mugnai *et al.*, 1999; Pascoe and Cottral, 2000; Armengol *et al.*, 2001; Rumbos and Rumbou, 2001; Fischer and Kassemeyer, 2003; Sofia *et al.*, 2006, Berraf et Peros, 2005). Plusieurs champignons sont incriminés dans les maladies du bois et sont étudiés par plusieurs chercheurs ; les espèces de la famille des Botryosphaeriaceae, celles *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum* .

Le dépérissement à *Botryosphaeria* est une maladie de la vigne du tronc fongique qui représente actuellement une menace pour la viticulture dans le monde entier en raison des importantes pertes économiques dus à une baisse de plantes touchées et leur mort prématurée.

Neofusicoccum parvum et *Diplodia seriata* sont parmi les agents causaux (Phillips *et al.*, 2013).

En plus de ces problèmes suscités, globalement la lutte chimique est sans efficacité et ne donne pas la réussite dans le cas des maladies vasculaire(Guillaumin *et al.*,1998).

Vis-à-vis de ce genre de pathologie végétales, d'autres alternatives sont proposées, telle que la stimulation des défenses naturelles de la plante, le choix de génotypes tolérants ou résistants et les tentatives de lutte biologique.

Parmi les agents exploités en lutte biologique vis-à-vis des Botryosphaeriaceae, des isolats fongiques antagonistes : *Trichoderma* sp et *Beauveria bassiana* ont été reconnues comme des agents potentiels de biocontrôle.les effets de ces deux agents antagonistes peuvent non seulement permettre de stimuler la croissance des plantes mais aussi de s'opposer aux agents phytopathogènes (Prévost *et al.*,2006 ; Lehr *et al.*, 2008).

Notre travail s'intéresse à mettre en évidence, les effets et les potentialités antagonistes de certaines isolats de *Trichoderma* sp et *B. bassiana* vis-à-vis *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum* agents du dépérissement de la vigne

Notre travail a été réalisé en trois étapes :

- La première étape a été réalisée *in vitro*, en utilisant deux isolats pathogènes *Trichoderma* sp. et *B. bassiana*, sélectionnés à l'égard de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum* par la méthode de confrontation directe en boîte de Pétri.
- La seconde étape a été réalisée *in situ*. , nous avons expérimenté l'interaction de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum* à l'égard des isolats antagoniste *Trichoderma* sp et *B. bassiana* sur des boutures de la vigne *Vitis vinifera* avec deux variétés Cardinal et Alphonse Lavallé.
-
- La troisième étape é été réaliser aussi *in Situ*, pour exprimer l'effet des isolats antagonistes *Trichoderma* sp et *B. bassiana*, sur l'évaluation de la stimulation de la croissance des boutures de la vigne *Vitis vinifera* avec deux variétés Cardinal et Alphonse Lavallé.

Notre expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie du département des Biotechnologies de l'Université de Blida1. L'objectif étant d'étudier les activités et propriétés antagonistes de deux espèces fongiques appartenant à deux genres différents à l'égard de deux espèces fongiques pathogènes.

Notre travail est constitué de deux parties :

- ✓ La première partie comprend un essai *in vitro* qui détermine l'activité antagoniste de deux champignons (déjà connus pour leur pouvoir antagoniste) à l'égard de deux champignons pathogènes.
- ✓ La seconde partie comprend un essai *in vivo* afin de confirmer cette activité antagoniste directement sur des boutures.

I. 1. Matériel biologique

Nous avons sélectionné deux isolats de champignons pathogènes : *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum* qui appartiennent à la famille des *Botryosphaeriaceae*. Ces espèces sont des agents responsables du dépérissement de la vigne (tableau 5).

Concernant les isolats antagonistes, nous avons utilisé *Trichoderma* sp. Et *Beauveria bassiana* connus par leur effet antagoniste (tableau 5).

Tableau 5 : Caractéristiques des isolats fongiques

Espèces	Hôte	identification	Provenance
<i>Diplodiaseriata</i>	<i>Vitis vinifera</i>	Berraf-Tebbal (2013)	Locale
<i>Neofusicoccum parvum</i>	<i>Vitis vinifera</i>	Berraf-Tebbal et al. (2014)	
<i>Trichoderma</i> sp.	<i>Vitis vinifera</i>	–	l'INRA de Bordeaux
<i>Beauveria bassiana</i>	–	–	Laboratoire de bactériologie de l'université de Blida

I. 2. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de deux cépages de vigne: le Cardinal et l’Alphonse-Lavallée. Ces deux cépages sont cultivés pour la production du raisin de table. La densité de plantation est de 1,5 x2.5 m. La superficie des parcelles est de 4 ha. Un seul mode de conduite est adopté : le cordon double. Le 41B est le seul porte-greffe utilisé pour ces parcelles privées (tableau 6).

Tableau 6.: Différentes caractéristiques des parcelles.

Régions	ALGER	
Localité	Ain-Benien	
Cépage	Alphonse-Lavallée	Cardinal
Porte-greffe	41B	41B
Age (an)	24	24
Superficie (ha)	4	4
Densité de plantation(m)	1,5x 2.5	1,5 x2.5
Date de la taille	Janvier	Janvier
Mode de conduite	Cordon double	Cordon double
Transformation de la taille	+	+
Traitement à l’arsénite	+	+

+ :oui

II. Méthodes

II. 1. Purification des champignons

La purification de ces champignons pathogènes et antagonistes a été réalisée après plusieurs repiquages par des transplantations successives des disques mycéliens des isolats testés sur le milieu de culture Potato Dextose Agar (PDA). L’incubation des cultures fongiques a été effectuée à une température de 25°C pendant 7 jours.

II. 2. Observations microscopiques

Après la purification des souches, nous avons réalisé des observations microscopiques sous le grossissement ×10, ×40 et x100 afin de s’assurer des caractères morphologiques des différentes espèces.

Les principaux caractères mycéliens sont: l'aspect, la forme, couleur, nature des hyphes et présence des fructifications asexuées ont été déterminé selon les données décrites par Larignon (1991).

II. 3. Activité antagoniste *in- vitro*

Le test d'antagonisme *in vitro* a été effectué avec les isolats de *Trichoderma* sp, et *Beauveria bassiana* à l'égard de deux isolats pathogènes : *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum*.

3.1. Antagonisme en confrontation directe.

En ce qui concerne cette interaction, le test d'antagonisme *in vitro* a été effectuée selon une technique de confrontation direct en boîte de Pétri, qui consiste à déposer les deux disques mycéliens espacés de 4 cm, l'un des isolats pathogènes (*Diplodia sériata*, ou *Neofusicoccum parvum*), séparément avec l'isolat antagoniste (*Trichoderma* sp., ou *Beauveria bassiana* .) dans des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture PDA (Figure10).

Les témoins sont représentés par des boîtes de Pétri contenant uniquement le champignon pathogène. L'ensemble des boîtes est placé en incubation à une température de 25° C.

L'évolution de la croissance mycélienne des deux champignons a été notée toutes les 24h par la mesure des colonies du champignon pathogène.

Les mesures de la croissance mycélienne sont prises quotidiennement et le test s'achève lorsque la colonie pathogène du témoin aura couvert l'ensemble de la boîte.

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

$$I \text{ Inhibition} = (R \text{ témoin} - R \text{ teste}) / R \text{ témoin} \cdot 100$$

$$(\%) \text{ inhibition} = (R \text{ témoin} - R \text{ test}) / R \text{ témoin} \times 100$$

R témoin : distance radiale max de la croissance du champignon.

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

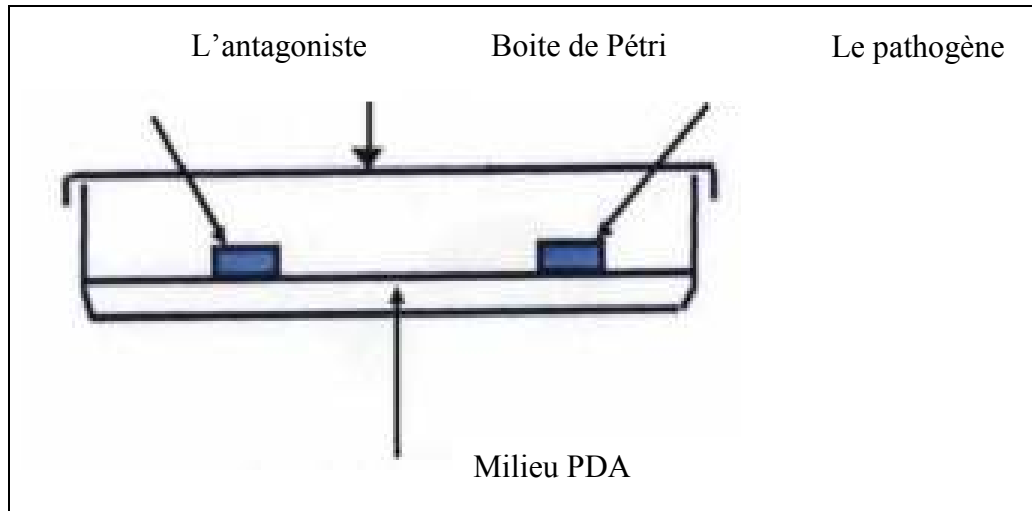


Figure 10. Méthode de confrontation directe en boîte de Pétri entre les champignons pathogènes et antagonistes.

3.2. Reprise des implants

A la fin des confrontations, chaque implant est remis sur un milieu de culture PDA afin de confirmer l'activité antagoniste de *Trichoderma* sp. et *B. bassiana* sur les agents pathogènes *D. seriata* et *N. parvum*. La reprise ou non de la colonie est notée.

3.3. Production d'acide cyanhydrique (HCN)

La capacité des isolats à produire l'acide cyanhydrique a été vérifiée selon la méthode de Bakker et Schippers (1987). Chaque isolat a été repiqué, à l'aide d'une épingle, sur une boîte de Pétri de 90mm. Un papier filtre de 90mm de diamètre, est déposé dans le couvercle de chaque boîte de Pétri en position inverse. Ce papier est par la suite imprégné d'une solution de couleur jaunâtre contenant : 0,5% d'acide picrique et 20 % de carbonate de calcium. La préparation de cette solution a été faite sous une hotte aspirante. Les boîtes de Pétri sont scellées avec du parafilm et incubées à 30°C. Les témoins étaient constitués de boîtes de Pétri contenant du PDA et le papier imprégné de la solution jaunâtre (figure11).

Le virage de la couleur : du jaune vers le brun clair au rouge brun indique respectivement une production modérée ou élevée d'HCN par le champignon producteur. Deux répétitions ont été effectuées, le témoin est représenté par un milieu sans inoculum.



Figure 11. La méthode du test de la production d'HCN.

3.4. Production de métabolites volatils

Procédé de Dennis et Webster (1971b) a été utilisé pour étudier la capacité des souches de *Trichoderma* sp. et *Beauveria bassiana* ., pour inhiber la croissance des deux isolats *Neofusicoccum parvum* et *Diplodia seriata* par antibiose volatile.

Prendre des disques de *Trichodermasp.*, et *Beauveria bassiana* . (6 mm de diamètre) et les placer dans le centre des boîtes de Pétri de 90 mm, contenant 20 ml de PDA et incubées à 22-25°C dans l'obscurité. Après 7 jours d'incubation, prendre les couvercles de ces boîtes et les placer sur les bases des plaques fraîches de PDA inoculé avec des disques des pathogènes. Les boîtes sont scellées avec du parafilm et incubées pendant 5 jours. Le développement ou non des agents pathogènes est noté.

Les témoins sont constitués de plaques des isolats antagonistes inversées sur des plaques avec des bouchons de PDA stériles. Quatre répétitions par traitement sont réalisées. La croissance de chacune des colonies de *Trichodermas p.* et *B. bassiana* a été observé.

II. 4. Activité antagoniste *in Situ*

Afin de confirmer l'action antagoniste des isolats testées (*Trichoderma* sp. et *Beauveria bassiana*) à l'égard de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum*, nous avons effectué le test d'antagonisme *in situ* sur des boutures de vigne *vitisvinifera* (variétés : Aphonse Lavallé 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 pathogénéicité des *Botryosphaeriaceae* associés au dépérissement de la vigne.

4.1. Méthodologie

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. 12a).

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. 12b).

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. 12c). 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 des pastilles des isolats fongiques (figure 12d). Les boutures ont été examinées après un mois d'incubation. Pour chaque bouture, la longueur de la lésion a été mesurée (figure 12d).

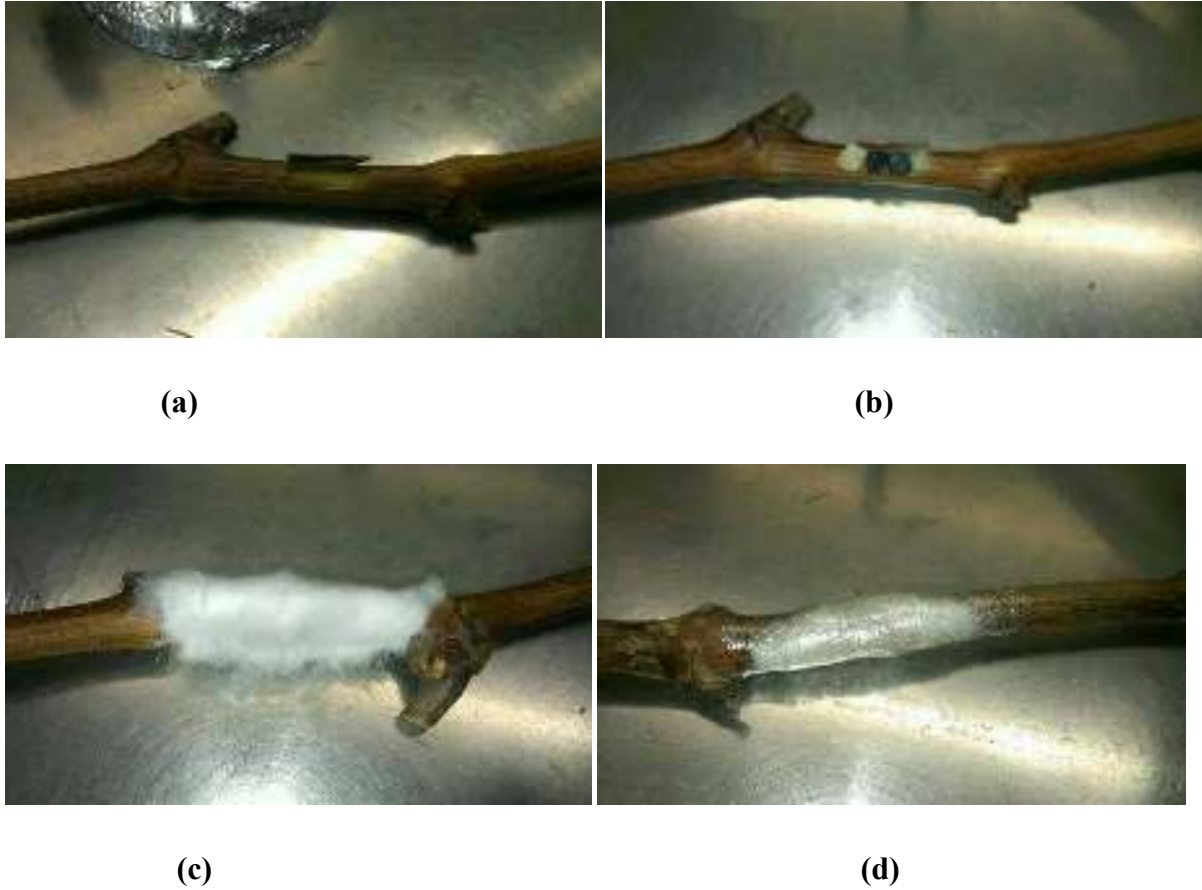


Figure 12: a) Incision de la bouture à l'aide d'un scalpel. b) Inoculation des mycéliums pathogènes et antagonistes. c) Incisions enveloppées avec du coton stérile humide. d) Incisions scellées avec du parafilm.

Afin de confirmer l'effet antagoniste simultané des deux champignons, *Trichoderma* et *Beauveria vis-à-vis* de *Neofusicoccum parvum*, Nous avons testé les trois champignons en même temps sur des boutures d'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 (figure 13). Dix répétitions ont été réalisées.



Figure 13 : les disques mycéliens contenant le pathogène et les deux antagonistes sur une bouture d'Alphonse Lavallée.

4.2. Ré-isolément des pathogènes

Le ré-isolément des souches pathogènes est réalisé en conditions stériles selon la technique décrite par Péros et Berger (1994) et Berraf et Péros (2005) pour confirmer l'action inhibitrice des agents antagonistes. Les buchettes ont été découpées à trois niveaux de la bouture testée (au point d'incision et à environ deux centimètres de part et d'autre de l'incision), avec trois répétition pour chaque test.

Afin d'éliminer les contaminants de surface, les buchettes ont été plongées dans un pilulier contenant une solution d'hypochlorite de sodium à 8° pendant 10mn. Les buchettes sont ensuite rincées par trois bains consécutifs avec l'eau stérile et séchées sur du papier buvard stérile. Les coupes des buchettes sont rafraîchies à l'aide d'un scalpel, puis les buchettes sont disposées par cinq dans des boites de Pétri contenant le milieu PDA (Figure14), scellées avec du parafilm et mises à incuber à 25°C à l'obscurité.

L'observation des boites se fait tous les deux à trois jours et à chaque fois qu'une colonie se Développe, celle-ci est transférée sur une nouvelle boite contenant le milieu PDA.









































































Figure 14. Ré-isolement des souches pathogènes sur milieu PDA.

II. 5. Evaluation de la phytostimulation

Pour évaluer les effets de *Trichoderma* sp. et *B. bassiana* sur la phytostimulation des boutures de la vigne des deux variétés de *Vitis vinéfera* (Alphonse Lavallé et le Cardinal), nous avons réalisé un traitement avec ces deux champignons par des incisions assez profondes à l'aide d'un scalpel. Des disques de 10 mm de diamètre de mycélium de chaque isolat ont été déposés sur les incisions. L'ensemble a été enveloppé avec du coton stérile et 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 champignon et 10 boutures pour tester l'effet synergique des deux champignons antagonistes sur la variété Alphonse Lavallée.

Tableau 7 : Dispositif expérimental

Bloc 1				Bloc 2		
T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3
						
						
						
						
						
						
						
						
						
						

T1 : Témoin négatif (eau distillé).

T2 : Traitement avec *Trichoderma* sp.

T3 : Traitement avec *Beauveria bassiana*

T4 : Traitement avec *Trichoderma* sp. + *Beauveria bassiana*

Bloque 1 : variété 1 d'Alphonse-Lavallée.

Bloque 2 : variété 2 de Cardinal.

II. 5.1.. Paramètres de croissance

5.1.1. Hauteur des tiges

La hauteur des tiges est 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.

6. La phytomasse

6.1.Poids frais et poids sec de la partie aérienne

Chaque bouture est 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.

6.2.Poids frais et poids sec de la partie racinaire

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

III. Les analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été basées 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 $P < 0.05$.

I. La vigne (*Vitis vinifera*)

La Vigne (*Vitis vinifera*) est une plante grimpante pérenne à croissance indéterminée, capable de se multiplier par voie sexuée, par bouturage ou par greffage (Gary *et al.*, 2003). Originellement capable de vivre entre 60 et 100 ans, sa domestication, et en particulier le greffage, ont réduit sa durée de vie au vignoble à 30-50 ans (les pieds de vigne sont généralement arrachés après cette période). La vigne n'est généralement productive qu'au bout de 3, voire 4 ans après la plantation. Elle doit simultanément accumuler des réserves pour la récolte de l'année suivante et alimenter les grappes de l'année en cours. La récolte d'une année est ainsi l'aboutissement d'un cycle de 2 ans. Lors de la première année (n) la vigne stocke des réserves et forme des ébauches de grappes dans des bourgeons dits latents. Au printemps de l'année suivante (n+1), les ébauches donnent des inflorescences qui produisent des grappes après fécondation (Mullins *et al.*, 1992).

I.1. Botanique

La vigne, plante angiosperme dicotylédone est une liane de la famille des Vitaceae, anciennement famille des Ampelideae (Planchon, 1887). Cette famille, associée aux familles des Rhamnaceae et des Leeaceae, forme l'ordre des Rhamnales (Chadefaud et Emberger, 1960). Les Vitaceae sont, pour la plupart, des plantes ligneuses ou herbacées, ainsi que des arbustes à tiges sarmenteuses (Hellman, 2003).

1.2. Cycle de développement

Chaque année, la Vigne effectue au cours de son développement deux cycles en concurrence trophique (Fig. 2). Le cycle végétatif assure la pérennité du cep grâce au développement de l'appareil végétatif. Le cycle reproducteur permet la formation des fleurs, puis des fruits (Roumpf, 2015).

1.2.1. cycle végétatif

Il définit la croissance d'un rameau, du débourrement à la perte de ses feuilles (Galet, 2000).

1.2.2. Cycle reproducteur

Il définit la formation de la fleur et sa transformation en raisin, ainsi que sa maturation (Huglin et Schneider, 1998).

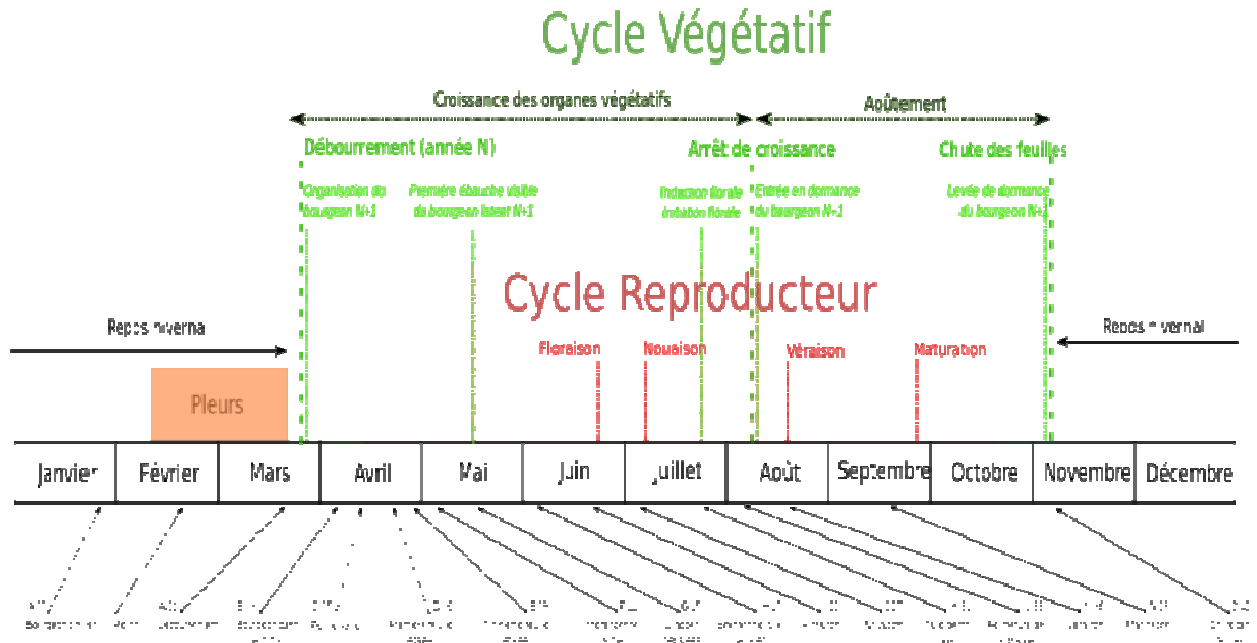


Figure 1 : Stades phénologiques, cycles végétatif et reproducteur de la vigne (Roumpf, 2015).

1.3. Place de la vigne dans le monde

La vigne est l'une des espèces fruitières les plus cultivées dans le monde en termes de surface et de valeur économique. En 2007, la FAO a estimé le vignoble mondial à 7.792 millions d'Ha et la production mondiale de raisin à 665 millions de qx (dont 12.3 mqx de raisin sec) avec 269.9 millions d'hl de vin (Anonyme, 2007)

En 2010, le vignoble présente une large répartition, sur les cinq continents avec une superficie d'environ 8 millions d'ha. La majorité des surfaces viticoles mondiales sont situées en Europe (57.9%), le reste étant réparti entre l'Asie (21.3%), l'Amérique (13,0%), l'Afrique (5.2%) et l'Océanie (2.7%) (OIV, 2010). La production mondiale des raisins en 2010 (consommation directe, séchage) est estimée approximativement à 12 millions de tonnes. Environ 18% (2.2 millions de tonnes) sont acheminés vers les marchés extérieurs. Les exportations sont caractérisées par une forte concentration géographique. Les plus grands

pays producteurs sont l'Italie, la Chine et les USA. Ce dernier est en même temps un grand importateur après l'Allemagne et le Royaume Uni, qui importent surtout des raisins secs (Aigrin, 2003; OIV, 2010). Les pays méditerranéens viennent en tête dans l'importance des surfaces viticoles avec près de 6 millions d'ha. En 2012, la surface du vignoble est passée à 7.528 millions d'ha (OIV, 2012).

1.4. Place de la vigne en Algérie

Avant l'indépendance, l'Algérie était le quatrième producteur mondial de vin, après la France, l'Italie et l'Espagne. En effet, le vignoble algérien couvrait une superficie de 350000 hectares, et produisait 14 à 18 millions d'hectolitres de vin par an. En 1983 le vignoble algérien atteignait la plus grande superficie de son histoire avec 400000 hectares et produisant plus de 21 millions d'hectolitres de vin (Statistiques agricoles, 1999).

L'Algérie offre par ses caractéristiques pédoclimatiques (nature du sol et ensoleillement) les conditions optimales pour la production de raisin. Les régions de production de raisins sont surtout situées au nord du pays, on citera parmi ces régions : Arzew, Mostaganem, Mascara, Sidi-Bel-Abbès et Tlemcen à l'ouest, Boufarik, Médéa, Blida, Chéraga et Tipaza pour le centre (Bendjilali, 1980; M.A.D.R., 2014)

Dans beaucoup de zones et notamment au centre et à l'ouest du pays, la viticulture représente une utilisation optimale du sol. Mais les rendements réalisés sont relativement faibles, si bien que le coût de production par unité de volume est relativement élevé. Ceci est probablement dû à la pluviométrie irrégulière au cours de l'année, aux cépages utilisés, à la vieillesse des plantations, aux itinéraires techniques appliqués inadéquats (Basler, 2000).

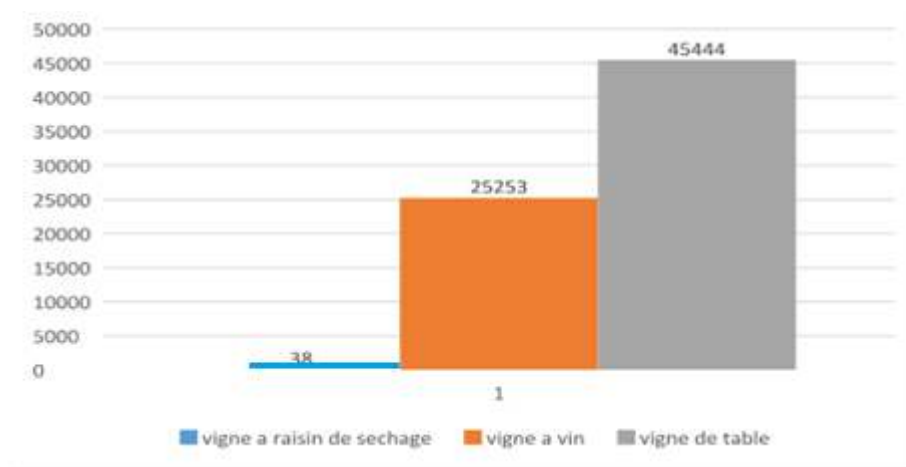


Figure 2 : superficie des vignobles en Algérie année 2014 d'après la FAO.

II. Maladies de la vigne

La vigne est sujette à plusieurs maladies affectant les racines, le bois, les feuilles et les baies (Blouin, 2005).

II. 1. Maladies dues à des ravageurs

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. Parmi les agents causaux, appelés pathogènes biotiques nous citons les ravageurs (Constant, 2010 ; Reynier, 2007 ; Charmillot et al. 1996 et Galet, 1991) :

Tableau 1 : les ravageurs de la vigne

	La maladie	Agent causale	Dégâts
Insectes	Le phylloxéra	<i>Daktulosphaira vitifoliae</i>	Sur les feuilles : au cours du printemps et de l'été, il y'a apparition de nombreuses excroissances comme des verrues appelées galles de couleurs rouge Sur les racines : il y'a apparition des lésions graves appelées tubérosités
	La pyrale	<i>Sparganothis pilleriana</i>	les feuilles sont dévorées et trouées puis rassemblées en paquets au moyen de fils de soie. L'attaque sur grappe est moins fréquente; elle se caractérise par la présence d'un abondant tissage blanc
	Vers ou tordeuses de la grappe	<i>Lobesia botrana</i> (Eudémis) <i>Eupoecilia ambiguella</i> (Cochylis)	nuisibilité directe : est due aux larves de la première génération qui dévorent un certain nombre de fleurs, mais cela n'affecte généralement pas le rendement final ; en deuxième génération les chenilles s'attaquent directement aux baies de raisins en provoquant d'importantes pertes.
	Cicadelle de la flavescence dorée	<i>Scaphoideus titanus</i> . <i>Empoasca vitis</i> <i>Metcalfa pruinosa</i>	

Acarie	Erinose	<i>Calipitrimerus vitis</i>	Les piqûres d'alimentation de l'acarien de l'erinose sur les feuilles se traduisent par une réaction du parenchyme : des boursouffures sur la face supérieure et des dépressions tapissées d'un feutrage blanc sur la face inférieure apparaissent.
	Acariens rouges	<i>Panonychus sulmi</i> (Koch)	Au printemps, des points de nécroses sur feuilles sont observés. En été ces feuilles prennent une teinte plombée caractéristique.
	Acariens jaunes	<i>Eotetranychus carpini</i> (Oudemans)	À l'apparition des inflorescences des piqûres peuvent provoquer leurs dessèchement. Les attaques sur les feuilles se traduisent par taches jaunes pâles ou rouges (en fonction de cépage).

II. 2. Maladies dues à des microorganismes

Les pathogènes biotiques qui touchent la vigne sont de natures très variées, principalement des virus, des bactéries, et des champignons.

Tableau 2 : les maladies de la vigne

	Maladie	Agent causale	Dégâts
Maladies à bactéries	la maladie de Pierce	<i>Xylella fastidiosa</i>	l'occlusion des vaisseaux et empêchant l'eau d'être drainée à travers la plante. -feuilles commençant progressivement à s'assécher à partir des bords pour finalement tomber (Reynier, 2007).
	La galle du collet	<i>Agrobacterium vitis</i>	dépérissement de la plante (Carisse <i>et al.</i> , 2006).
Maladies virales	Le court-noué (dégénérescence infectieuse)	le GFLV (Grapevine Fanleaf Virus) et l'ArMV (Arabis Mosaic Virus)	Des décolorations de couleur jaune à la surface des feuilles parfois accompagnées d'un développement anormal des nervures (Galet, 1977).

PARTIE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

	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(Walter <i>et al.</i> , 2000).
Maladies cryptogamiques	Mildiou	<i>Plasmopara viticola</i>	-l'apparition sur les feuilles de ce qu'on appelle la tache d'huile. Les tissus touchés par la tâche se dessèchent(Dubos, 2002 ; Blouin, 2005).
	Oïdium	<i>Erysi phenecator</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(Blouin, 2005 ; Reynier, 2007).
	Pourriture grise	<i>Botrytis cinerea</i>	Des taches brun-rouge sur le limbe, et le dessèchement des boutons floraux. Les grains prennent une coloration grisâtre, ils brunissent et pourrissent en se couvrant d'inflorescences grises. (Reynier, 2007).
Maladies du bois	Esca	<i>Fomitiporia mediterranea</i> , <i>Phaeoacremonium spp.</i> , <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> , <i>Eutypa lata</i>	Au niveau du bois, des coupes transversales du cep montrent une zone centrale claire et molle (amadou) entouré d'une zone brune dure et sombre(Letousey <i>et al.</i> , 2010)
	Eutypiose	<i>Eutypa lata</i>	Nécroses brunes sectorielles et biendélimitées présentant un aspect de pourriture sèche(Lecomte <i>et al.</i> , 2000)
	Dépérissement a botryospheriaceas	<i>Botyospheriaceae</i>	Des taches foliaires, réduction de vigueur, croissance réduite de jeunes pousses. Dépérissement du cep(Phillips <i>et al.</i> , 2013).



Figure 3 : Symptômes de maladies cryptogamiques. (a) Le mildiou; (b) L'oïdium (c) black rot (Schneider, 2000)

III. Maladies du bois

Les maladies du bois (GTD) provoquent des dépérissements des ceps de vigne. La longévité des vignobles est alors affectée ainsi que la qualité de la récolte (Lorrain *et al.*, 2012). Les maladies du bois les plus significatives sont l'eutypiose, l'esca et les dépérissements à *Botryosphaeria* (Bertsch *et al.*, 2013).

III. 1. Eutypiose

L'eutypiose est causée par le champignon ascomycète *Eutypa lata* (*E. lata*), identifié sur la vigne par Moller et Kasimatis en 1978. La forme asexuée d'*E. lata*, *Libertella blepharis*, ne semble avoir qu'un rôle restreint dans la propagation de la maladie (Cortesi et Milgroom, 2001). Une définition précise de l'espèce, s'appuyant sur des critères morphologiques et moléculaires, a été donnée par Rohsaulsen *et al.* (2006). Cette espèce, ainsi que les espèces lui étant proches en terme phylogénétique, sont connues pour coloniser et causer des symptômes similaires sur une large gamme de plantes ligneuses (Rolshausen *et al.*, 2006). De nombreuses espèces de la famille des *Diatrypaceae* ont cependant été isolées sur la vigne en Californie, et se sont expérimentalement avérées pathogènes (Trouillas and Gubler, 2010).

1.1. Symptomatologie de l'Eutypiose

Les symptômes de l'eutypiose sont les plus visibles au printemps et se caractérisent par une chlorose et un dessèchement des feuilles qui s'accompagnent d'une nanification des organes herbacés, donnant aux bras malades un aspect buissonnant (figure 3A). Dans le bois, ces symptômes se présentent sous forme de nécroses brunes sectorielles de contour net, d'un aspect sec (Lecomte *et al.*, 2000) (figure 3B).



Figure 4: Symptômes associés à l'eutypiose : rabougrissement des rameaux au niveau des organes aériens (A) et nécrose sectorielle au niveau du bois (B). (Photographies INRA et IFV 2000).

III. 2. L'esca

L'esca, maladie cryptogamique, décrite sous le nom de pourriture à l'avènement de notre ère (*Plinie l'ancien, Columelle*) est plus particulièrement présente dans les vignobles de l'hémisphère nord. Elle a été décrite tout d'abord sous sa forme apoplectique (Marès, 1865). Son origine fut longtemps indéterminée et attribuée à un accident d'ordre physiologique qui était désigné sous le nom de folletage (Pacottet-Brin, 1899). Ce n'est qu'à la fin du XIXe siècle que cette forme fut attribuée à un champignon et, de ce fait, se distinguait du folletage (Ravaz, 1898). En 1922, le terme esca a été introduit pour désigner cette maladie caractérisée par la présence d'une pourriture blanche et par la forme apoplectique (Viala, 1926). L'esca est un terme d'origine languedocienne ou provençale qui signifie amadou. Il était désigné auparavant sous le nom de Iska en Grèce ou de Yesca en Italie. Entre 1923 et 1926, d'autres formes d'expression ont été décrites (Marsais, 1923 ; Viala, 1926).

2.1. Symptômes

2.1.1. Forme apoplectique

Se caractérise par une perte subite de la turgescence des feuilles, se traduisant par le flétrissement de la totalité de la plante ou d'un rameau (Letousey *et al.*, 2010) (figure 5b).

2.1.2. Forme lente

L'apparition de taches jaunes au niveau du limbe sur les feuilles et prennent une couleur rougeâtre en leurs centres et fusionnent entre elles (figure 5a).



Figure 5. Esca. Forme lente (a) Forme apoplectique (b). (Urbez-Torres *et al.*, 2006).



Figure 6 Symptômes caractéristiques d'une feuille atteinte par la maladie (Urbez-Torres *et al.* 2006)

III. 3. Botryosphaeria dieback (ou le dépérissement à Botryosphaeria)

La famille des *Botryosphaeriaceae* englobe une gamme de divers champignons qui sont soit des agents pathogènes, des endophytes ou des saprobes, principalement sur des hôtes ligneux. Ils sont présents dans toutes les zones géographiques et climatiques du monde, à l'exception des régions polaires. Leur association fréquente avec les maladies des plantes a stimulé l'intérêt substantiel dans ces champignons, et une grande partie de cet intérêt a été portée sur la systématique des espèces et des genres (Blancard et Lecomte, 2014).

Le dépérissement à *Botryosphaeria* est une maladie de la vigne du tronc fongique qui représente actuellement une menace pour la viticulture dans le monde entier en raison des importantes pertes économiques dus à une baisse de plantes touchées et leur mort prématurée. *Neofusicoccum parvum* et *Diplodia seriata* sont parmi les agents causaux (Phillips *et al.*, 2013).

III. 3.1. Caractéristiques des Botryosphaeriaceae

Les *Botryosphaeriaceae* se caractérisent par un mycélium aérien à croissance rapide, d'une couleur blanche qui devient gris à vert foncé sur PDA. Les cultures peuvent montrer des pycnides solitaires ou groupées, de couleur noire. Différents types de conidies sont observées. Elles peuvent être hyalines ou pigmentées et cloisonnées ou aseptées permettant de différencier entre les genres (Phillips *et al.* 2005 et 2007 ; Urbez-Torres *et al.* 2006).

III. 3.2. Biologie et épidémiologie

3.2.1. Conservation et source d'inoculum

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 téléomorpe est formé. En effet, ces structures sont présentes sur les écorces, les parties de bois malades, ainsi que sur les débris de bois de taille laissés sur le sol. Soulignons que ces champignons disposent de potentialités saprophytiques très importantes leur permettant de survivre aisément sur de nombreux substrats et divers hôtes (Blancard et Lecomte, 2014)(figure 6).

3.2.2. Sporulation, dissémination

Durant les périodes humides et pluvieuses, des spores sont produites dans les pycnides et expulsées sous la forme de cirrhes gélatineuses ; elles viennent après polluer les organes aériens de la vigne à la suite de projection d'eau sur de courtes distances. Par exemple dans le cas des *Neofusicoccum* spp., cette distance n'excéderait pas 2 mètres. Ces pycniospores constituent donc l'inoculum primaire. Rappelons que ces champignons peuvent être disséminés par les plants de vigne à la suite de contaminations en pépinières plusieurs espèces ont ainsi pu être isolées de ce matériel ou de pieds mères : *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum*, *Botryosphaeria dothidea*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum mediterraneum*, *Neofusicoccum vitifusiforme*... (Blancard et Lecomte, 2014).

3.2.3. 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 fonctions 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'endophytes ou de pathogènes latents, ou développent leur parasitisme consécutivement à des stress biotiques ou abiotiques encore mal connus (Blancard et Lecomte, 2014).

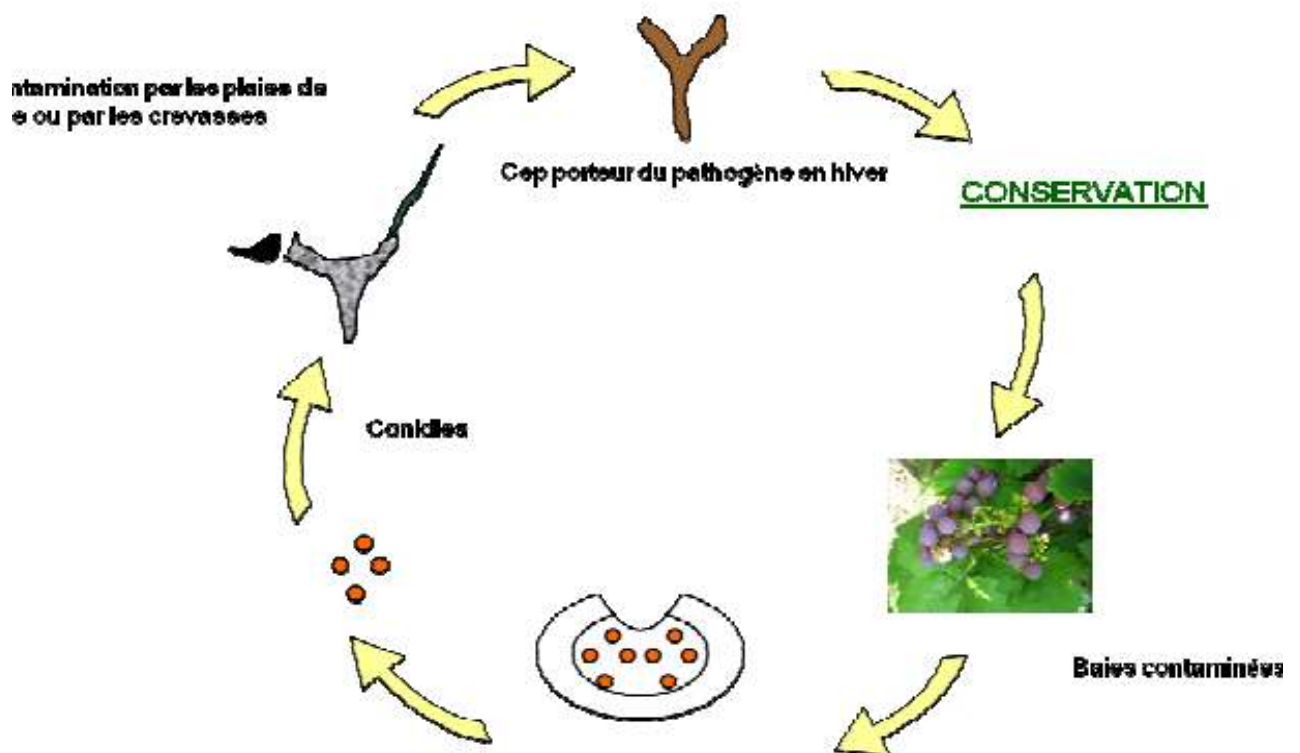


Figure 7. Cycle biologique de *Diplodiaseriata* (Úrbez-Torres, 2011)

3.3. Symptômes

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 chancre sur rameaux et sur troncs. Certaines d'entre-elles sont étudiées et redoutées depuis de nombreuses années comme par exemples, *Neofusicoccum parvum* associé à des symptômes d'excoriose (Phillips et al., 2013) (figure 7 et 8).

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 (Blancard et Lecomte, 2014).

Le pouvoir pathogène des *Botryosphaeriaceae* sur vigne semble fluctuer en fonction des espèces. Trois classes de virulence ont été définies pour le moment sur cette plante : les espèces les plus virulentes (*Lasiodiplodia* spp. et *Neofusicoccum* spp.), les modérément virulentes (*B. dothidea* et *Diplodia* spp.), les faiblement virulentes (*Dothiorella* spp. et *S. viticola*) (Phillips et al., 2013).



Figure 8 . Symptômes extérieurs causés par les *Botryosphaeriaceae* (Úrbez-Torres, 2011)



Figure 9 . Nécroses dans le bois dues aux chancres à *Botryosphaeria* (Úrbez-Torres, 2011).

IV. Méthodes de lutte

D'une manière générale, la lutte contre les maladies du bois ne peut se concevoir aussi aisément que pour les maladies des organes aériens. A ce jour, il n'existe pas de méthode de lutte chimique validée au vignoble. Actuellement, l'emploi de fongicides n'exerce que des effets préventifs. Il n'existe aucun produit curatif contre ces champignons. Les moyens de lutte font surtout appel à une gestion des pratiques culturales (Weber *et al*, 2007). Les méthodes de lutte pratiquées vis-à-vis de l'eutypiose visent à diminuer l'inoculum disponible par des techniques prophylactiques et optimiser la protection des plaies de taille par des produits chimiques (Galet, 1999 et Larignon, 2004).

IV. 1. Pratiques culturales

Les mesures prophylactiques visent à améliorer la vigueur de la vigne par un raisonnement, dès la mise en place de la vigne, par le choix d'un porte-greffe adapté et éventuellement celui du cépage et du clone. Sur une vigne en production, la vigueur peut se maîtriser par la diminution des apports (notamment azotés) et par l'enherbement permanent

(spontané ou maîtrisé) : en fonction des possibilités techniques et de la diminution de vigueur recherchée, la largeur de la bande enherbée pourra être modulée.

Bien aérer les grappes par une taille et un mode de palissage qui assurent une répartition homogène des grappes (Galet, 1999 et Larignon, 2004).

L'ébourgeonnage, le rognage, l'effeuillage, et éventuellement l'éclaircissage permettent d'éviter l'entassement de la végétation. Ainsi, il faut limiter les blessures engendrées lors des opérations d'effeuillage en effectuant les réglages adéquats du matériel utilisé (Galet, 1999 et Larignon, 2004).

IV.2. Lutte biologique

La lutte biologique a pour principe d'utiliser des agents biologiques capables d'entrer en compétition (antagonisme) avec les agents pathogènes et les ravageurs sans avoir d'activité néfaste pour la plante. Ces agents naturels sont réunis sous le concept de biopesticides. La faune auxiliaire du vignoble (typhlodromes, coccinelles, chrysopes...) renferme des prédateurs naturels des parasites de la vigne d'où l'importance de la conserver en évitant l'emploi de substances chimiques trop agressives. Sa disparition pourrait, en effet engendrer un déséquilibre qui favoriserait l'apparition ou la réapparition de certains pathogènes. Plusieurs microorganismes du sol ont été utilisés pour lutter contre les maladies des plantes (Mao *et al.*, 1998 ; Emmert et Handelsman, 1999 ; Whipps, 2001 ; Singh *et al.*, 2003 ; Reyes *et al.*, 2004 ; Haas et Defago 2005 ; Valdebenito *et al.*, 2006 ; Rahman *et al.*, 2007). Ces microorganismes utilisent différents mécanismes pour lutter contre les agents phytopathogènes du sol, à savoir : L'antibiose, la compétition, le parasitisme et/ou l'induction des mécanismes de la résistance de la plante (; Paulitz et Bélanger, 2001 ; Lugtenberg *et al.*, 2002 ; Spadaro et Gallino, 2004 ; Bouizgarne *et al.*, 2006 ; Prévost *et al.*, 2006 ; Lehr *et al.*, 2008).

V. Biocontrôle par utilisation de micro-organismes

1. Agents de biocontrôle utilisés contre les maladies de la vigne

Les pesticides de synthèse chimiques utilisés depuis de nombreuses années pour lutter contre les agents pathogènes des plantes sont aujourd'hui l'objet de nombreuses critiques en

raison des effets néfastes qu'ils exercent sur l'environnement, les aliments et, au final, sur les consommateurs.

Cette prise de conscience et la volonté politique en matière de réduction des risques associés à une utilisation très forte, parfois abusive, de produits chimiques font que le développement rapide de nouvelles méthodes de protection des végétaux respectueuses de l'environnement est plus que jamais d'actualité. « L'âge d'or » des pesticides chimiques semble donc révolu et la mise au point de méthodes alternatives de lutte, comme la lutte biologique (ou biocontrôle) à l'aide de micro-organismes, suscite un intérêt grandissant (Fernandes, 2005).

Les micro-organismes utilisés en lutte biologique sont principalement des champignons, des oomycètes, des bactéries. Les modes d'action peuvent être différents et multiples. Deux termes sont parfois rencontrés dans la littérature pour nommer ces derniers :

- Celui de BCA, pour « BioControl Agent », est utilisé dans le cas où son action est directe sur l'agent pathogène.
- Lorsque le micro-organisme a une action sur la plante, le terme de PGPM pour « Plant GrowthPromotingMicroorganism » est employé; il se décline en PGP-F (Fungi) pour les champignons, PGP-Y (Yeast) pour les levures, PGP-B pour les bactéries et PGP-R pour les rhizobactéries (Fernandes, B. 2005).

Néanmoins, comme évoqué précédemment, les agents de biocontrôle sont généralement PGPM et BCA en même temps, exemple des *Trichoderma* spp., *Pseudomonas* spp. Et *Pithiumoligandrum* (Hermosa *et al.* 2012).

1. Cas de *Trichoderma*

1.1 .Taxonomie

Le genre *Trichoderma* a été décrit par Persson en 1874, est utilisé depuis les années 1930 dans la lutte biologique appliquée en agriculture. Différentes espèces de ce genre ont montré leur efficacité dans la lutte contre les agents phytopathogènes aériens et telluriques.

La taxonomie moderne des champignons a aboli l'embranchement des *Deuteromycotina*, auquel appartenait le genre *Trichoderma*. La position taxonomique actuelle des *Trichoderma* se présente comme suit (Bisset, 2004) :

Tableau 3 : Classification de *Trichoderma* (Bisset, 2004)

Classification	
• Embranchement	<i>Amastigomycota et /ou Eumycètes</i>
• Sous embranchement	<i>Ascomycotina</i>
• Classe	<i>Sordariomycètes</i>
• Ordre	<i>Hypocréales</i>
• Famille	<i>Hypocraceae</i>
• Genre	<i>Trichoderma</i>

1.2. Mode d'action

Trichoderma sp possède des mécanismes d'attaque potentiellement utilisables mais demeurent toutefois complexes. Il peut employer un ou plusieurs modes d'action en même temps pour maîtriser un agent pathogène.

Le déploiement de mode d'action varie également selon les partenaires et les conditions physico-chimiques du milieu (températures, humidité, etc...). *Trichoderma* est efficace lorsqu'on lui permet de s'installer avant l'arrivée des champignons pathogènes. Son action est donc préventive. Au niveau des racines, *Trichoderma* crée un manchon protecteur contre l'entrée des agents pathogènes à l'intérieur des racines. Une fois installée, *Trichoderma* peut avoir un effet stimulant pour la plante en absence de champignons pathogènes (Caron, 2002).

1.2.1. Antibiose et métabolites secondaires

L'antibiose inhibe la croissance de l'agent pathogène par la production des métabolites secondaires (Cook et Baker, 1983). Ghisalbert et Sivasithamparam (1991) ont décrit divers substances antibiotiques produites par *Trichoderma* sp qui seraient responsables de leurs propriétés antagonistes.

La mise en évidence de la production de métabolites secondaires par *Trichoderma* sp a été rapportée pour la première fois par Weiding (1943). La littérature montre que les métabolites importants de *Trichoderma* sp. sont principalement des enzymes et des molécules bioactives. Elle résulte de la production de substances qui agissent comme des « antibiotiques

et antifongiques » et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène (Vizscaino *et al*, 2005), telles que :

- **Métabolites secondaire volatiles:** *6pentyl a pyrone*, *cyanure d'hydrogène* (HCN), alcools, *aldéhydes*
- **Métabolites non volatiles diffusibles :** *polycétates*(antifongiques), les *trichodermines*.

1.2.2. Mycoparasitisme et production des enzymes lytiques

Les enzymes qui dégradent les parois cellulaires fongiques sécrétées par *Trichoderma* sp. telles que les *chitinases* et les β *glucanases* sont considérées comme étant les déterminants majeurs de l'activité antagonistes (Elad *et al*, 1982 ; Lorito 1998). Des nombreux travaux indiquent clairement qu'en particulier les *chitinases* jouent un rôle principal (Kubicek *et al* ; 2001).

1.2.3. Compétition

Elle se manifeste par l'aptitude de *Trichoderma* sp. à utiliser les mêmes ressources du milieu (aire d'alimentation, sites de développement) que les champignons pathogènes, mais *Trichoderma* sp. emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des pathogènes. Lors de la compétition, *Trichoderma* sp. croit fréquemment en parallèle avec son hôte et s'attache au mycélium de l'hôte par des crochets ou par les haustorium soit par enroulement, ou par les appressoriums (Elad *et al* ; 1983, Harman *etal* ; 1993 ; Papavizas, 1995).

Les souches de *Trichoderma* peuvent également être agressives, et agir en tant que concurrents aux pathogènes fongiques dans leurs phases saprophytiques, surtout lorsque les nutriments constituent un facteur limitant (Simon et Sivasithamparam, 1989).

1.2.4. Colonisation racinaire

La capacité de *Trichodermas* p. à produire des métabolites antifongiques, y compris des composés volatils, explique bien cet usage. Les *chitinases*, *glucanases* et *protéases* libérées par ces *Trichoderma* dégradent les parois des champignons pathogènes sans altérer les cellules des racines des plantes. Les métabolites antibiotiques, tels les *peptaibols* par exemple,

trichorzianines), agissent en synergie avec les enzymes pour attaquer les champignons cibles.(Fernandes, 2005).

1.2.5. Stimulation de la croissance des plantes

La colonisation des racines par *Trichoderma* sp. peut augmenter la croissance et le développement des racines, le rendement des cultures, la résistance aux stress abiotiques et l'absorption et l'utilisation des nutriments (Harman *et al*, 2004).

Selon Harman *et al* (2004), les champignons bénéfiques tel que *Trichoderma* sp. peuvent stimuler la croissance des plantes par l'augmentation des éléments nutritifs, par une efficacité dans l'utilisation de l'azote, et par la solubilisation des éléments nutritifs dans le sol.

les effets de stimulation de la croissance proviennent de l'action directe des *Trichoderma* sur les plantes et ne soit pas directement liés aux antagonismes avec les pathogènes. Ces effets sont visibles aussi bien sur des substrats de culture non désinfectés que sur des substances stériles (Menzies, 1993).

1.2.6. Induction de la résistance chez les plantes

Plusieurs exemples de succès de la lutte biologique ont été attribués aux mécanismes de mycoparasitismes et ou l'antibiose, à la rhizosphère compétence, aux enzymes lytiques telles que les *chitinases* et les *glucanases* et a l'induction des mécanismes de résistances de la plante (Chet, 1987 ; Yedidia *et al.*, 1999). Le renforcement des activités antifongiques a été montré chez les plantes et les microorganismes.

2. Cas de *Bauveria bassiana*

Le genre *Beauveria* a été décrit par Beauverie en 1911 sous le nom de *Botrytis bassiana*.La position taxonomique se présente comme suit (Veullemin, 1912).

Tableau 4 : Taxonomie de *Beauveria* sp (Veullemin, 1912).

Classification	
• Règne	<i>Fungi</i>
• Division	<i>Ascomycota</i>
• Classe	<i>Sordariomycetes</i>
• Ordre	<i>Hypocreales</i>
• Famille	<i>Ophiocordycipitaceae</i>
• Genre	<i>Beauveria</i>
• Espèce	<i>Beauveria bassiana</i>

2.1. Mode d'action

Le champignon *B. bassiana* infecte l'insecte par contact et n'a pas besoin d'être ingéré par son hôte pour causer l'infection. En général, le processus d'infection de *B. bassiana* est divisé en quatre phases distinctes : Adhésion, germination, différenciation et pénétration.

L'adhésion se caractérise par une phase de reconnaissance de la compatibilité entre les conidies (spores) du champignon et les cellules tégumentaires de l'insecte (Vey *et al* ; 1982).

La phase de germination dépend des conditions environnementales et également de la physiologie de l'hôte (composition biochimique de la cuticule) qui peut favoriser ou inhiber la germination (Ferron, 1991). Il a été démontré que la germination des spores était affectée par des lipides épicuticulaires et des acides gras (Boucias et Pendland, 1991).

La phase de différenciation est une phase importante dans le processus d'infection. Au cours de cette phase, la spore germée produit une structure appressoriale, qui sert de point d'ancrage et de ramollissement de la cuticule ce qui a pour effet de favoriser la pénétration de la spore. La production des appressorias est dépendante de la valeur nutritive de la cuticule de l'hôte (Magalhaes *et al.*, 1989).

La pénétration de l'hôte se fait ensuite par pression mécanique et par lyse enzymatique grâce aux protéases, chitinases et lipases (St léger *et al.*, 1989). La colonisation de l'hôte se produit quand le champignon, surmonte les mécanismes immunitaires de l'hôte (Ferro *et al.*, 1993). A la mort de l'insecte, *Bauveria* produit un antibiotique qui lui permettra de résister aux bactéries du tube digestif. Il y a ensuite momification du cadavre qui se transforme en sclérote. Les hyphes du champignon traversent le tégument de préférence dans les zones puis

les recouvrent d'un feutrage mycélien blanc cotonneux caractéristique. En fin il y aura formation des conidiospores bouclant ainsi le cycle biologique du champignon. L'avantage de *Bauveria bassiana* est son large spectre d'action ainsi que sa virulence qui a permis son utilisation avec succès en lutte microbiologique.

I. 1. Etude macroscopique et microscopique de *D. seriata*

Les colonies de *D. seriata* croient rapidement sur le milieu PDA. Le mycélium est cotonneux avec un pourtour régulier. Sa couleur est blanche au départ, qui vire vers le gris foncé puis elle devient noirâtre après deux semaines d'incubation (figure 15a).

Les observations microscopiques ont montré des stromas conidifères isolés et dépourvus de mycélium. Ils sont de couleur brune foncée à noire, à paroi épaisse. Une fois mûres, ils prennent souvent une forme globuleuse percée à leur sommet d'un ostiole qui s'ouvre vers l'extérieur en libérant les conidies. Les conidies ont une forme ovoïde de couleur hyaline au départ puis deviennent marron. (figure 15b).

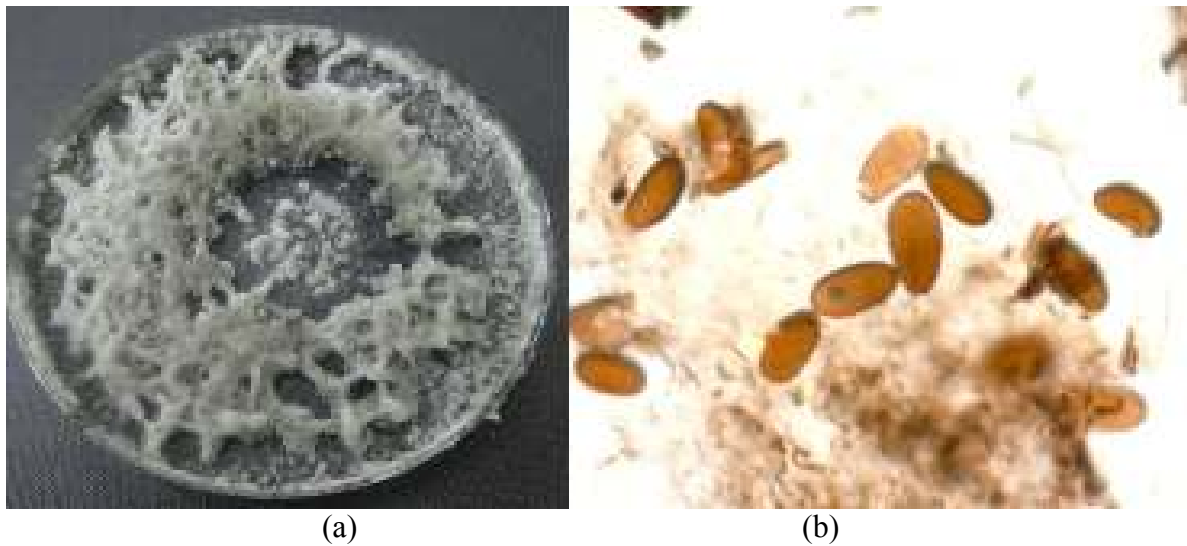


Figure 15 : (a), Observation Macroscopique, et (b) Macroscopique de *D. seriata* (X40).

2. Etude macroscopique et microscopique *N. parvum*

Les colonies de *N. parvum* sur PDA sont d'abord blanches qui deviennent noire après une semaine d'incubation. Le mycélium est aérien, abondant à contour régulier(Figure16a).

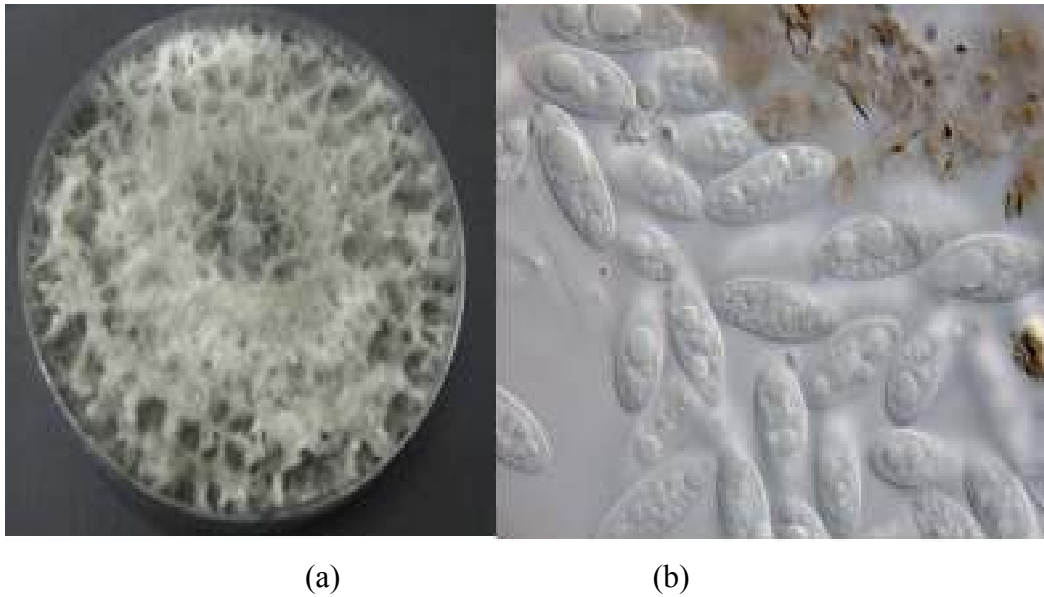


Figure16: (a), Observation Macroscopique, et (b) Microscopique de *N. parvum* (X40)

3. Etude macroscopique et microscopique de *Trichoderma* sp

Les colonies de *Trichoderma* sp sont légèrement floconneuses ou bien compactées en touffe. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite (Figure 17a).

Sous microscope nous avons observé un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale. Très ramifiés, ils portent des phialides. A leur tour, les phialides portent des conidies.



Figure17. Observation macroscopique de *Trichoderma* sp

4. Etude macroscopique et microscopique de *B. bassiana*

Les colonies sont blanches à contour irrégulier (Figure 18a), le mycélium est poudreux et ramifié. Les conidies de *B. bassiana* sont hyalines. Les cellules conidiogènes sont courtes et ovoïdes, et se terminent par une extension apicale. (Figure 18b).

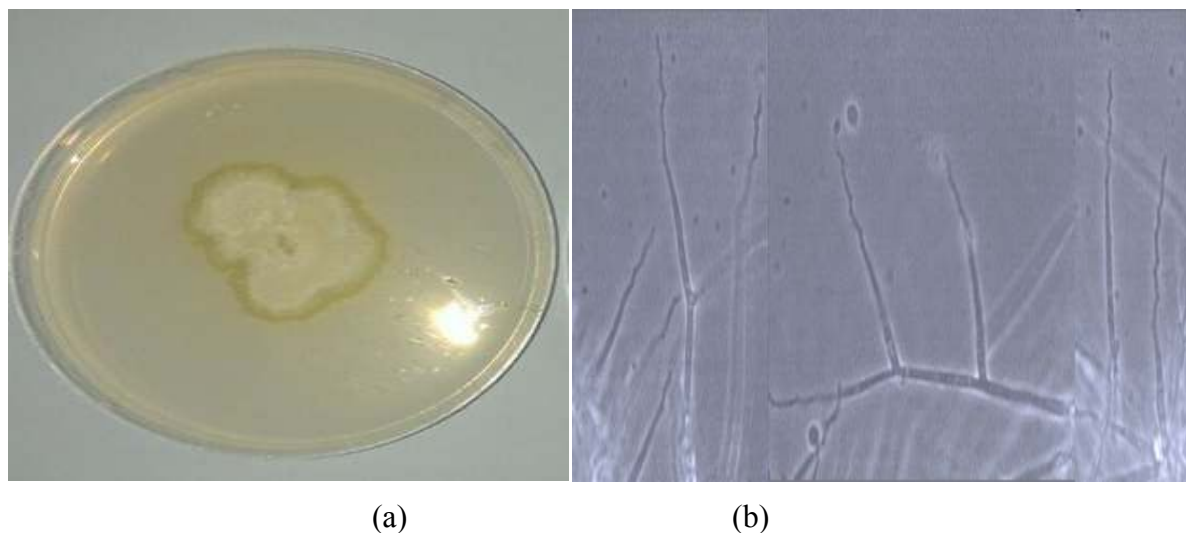


Figure 18:(a) Observation macroscopique, et (b) microscopique de *B. bassiana*(x40)

II. Activité antagoniste in vitro

1. Confrontation directe

Les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne des souches témoins est plus importante par rapport à celle obtenue avec les différentes confrontations (Pathogène – Antagoniste).

Après une semaine d'incubation (tableau 8), nous remarquons que les souches *Trichoderma* et *Beauveria* exercent un effet antagoniste sur *D. seriata* et *N. parvum*. Nous avons enregistré l'apparition d'une zone d'inhibition suivie par un arrêt de croissance pour l'ensemble des souches pathogène par rapport à leur témoin.

Tableau 8. Zone et taux d'inhibition de *Trichoderma* et *Baeuvéria* vis-à-vis de *Diplodiaet Neofusicoccum*.

	<i>D. seriata</i>		<i>N. parvum</i>	
	Zone d'inhibition (cm)	Taux d'inhibition (%)	Zone d'inhibition (cm)	Taux d'inhibition(%)
Témoin	/	0	/	0
<i>Trichoderma</i> sp	3.54	41.64	3.6	42.35
<i>B. bassiana</i>	3.87	45.52	2.87	33.76

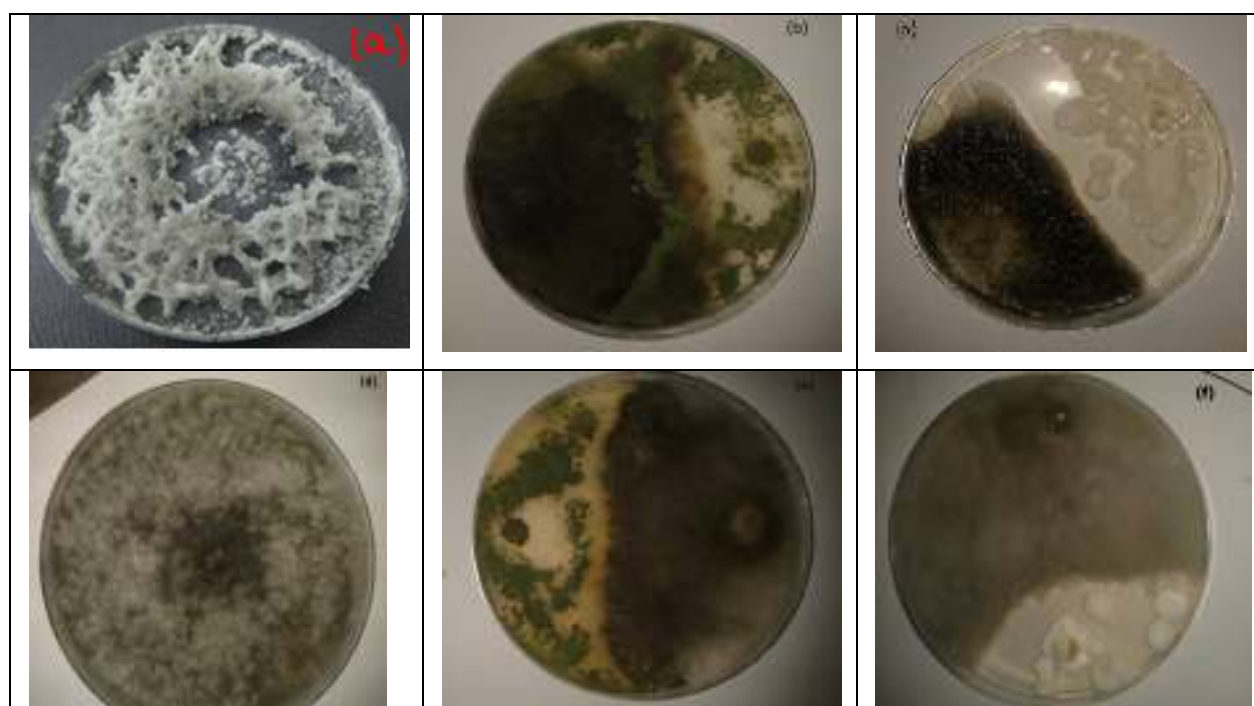


Figure19 :(a)*D. seriata* (témoin), (b) *Trichoderma* sp confrontée avec *D. seriata*,(c) *B. bassiana* confrontée avec *D. seriata*,(d) *N. parvum* (Témoin),(e)*Trichoderma* sp confrontée avec *N. parvum* ,(f) : *B. bassiana* confrontée avec *N. parvum*.

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que les deux souches antagonistes *Trichoderma* sp et *B. bassiana*, ont montré une activité antagoniste inhibitrice vis-à-vis de l'isolat pathogène *D. seriata* sur le milieu PDA. Cette inhibition est observée après 72h de confrontation, par formation de zones d'inhibition (figure 19).

Dans tous les essais, nous remarquons que la croissance mycélienne de *D. seriata* en interaction avec les deux souches antagonistes, sur milieu PDA est inférieure à celle enregistré chez le témoin (Tableau 8).

Le taux d'inhibition le plus important (45,52 %) a été enregistré par *B. Bassiana* alors que *Trichoderma* sp a enregistré un taux de 41,64 % après 72 h de confrontation (Tab 8).

Dans le cas de *Neofusicoccum parvum* (Tab 8), nous remarquons que les deux isolats *Trichoderma* sp et *B. bassiana* exercent des effets antagonistes mais à des taux variables. Après 72h, le taux d'inhibition obtenu par *Trichoderma* sp est de 42.35 %, comparativement à celui de *B. bassiana* (33.76 %)

1.1. Etude comparative avec Modèle GLM

a).*Diplodia seriata*

Les résultats obtenus lors la confrontation direct de *D. seriata* avec *Trichoderma* sp et *B. bassiana* sont présenté dans les Tableaux 9, 10 et illustrés par la figure 20.

Tableau 9 :Modèle G.L.M. appliqué à la zone d'inhibition de *Trichoderma* sp et *B. bassiana* sur *D. seriata*.

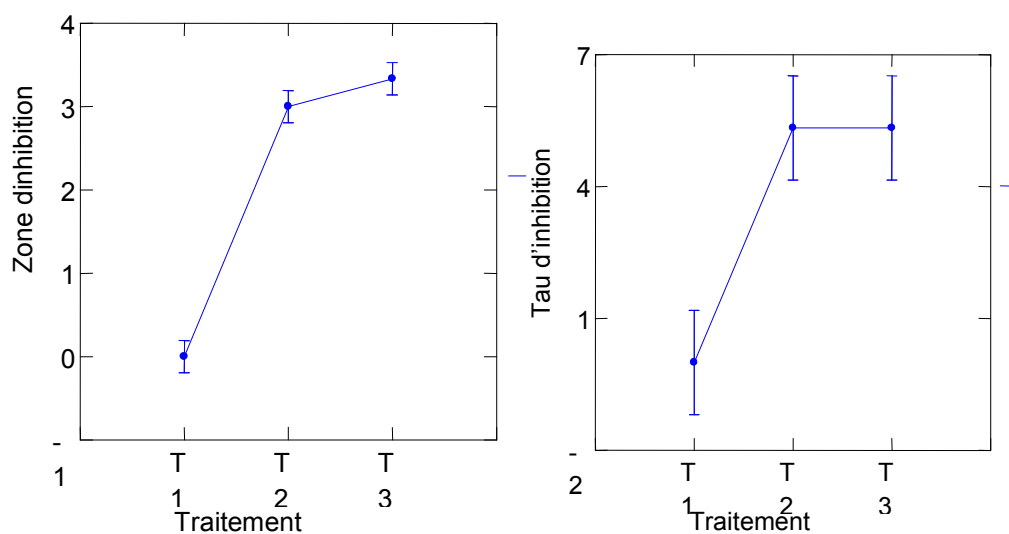
Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Traitement	20.222	2	10.111	91.000	0.000***

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

Tableau 10.Modèle G.L.M. appliqué au taux d'inhibition de *Trichoderma* sp et *B. bassiana* sur *D. seriata*.

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Traitement	56.889	2	28.444	6.737	0.029***

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



T1 : Témoin de *D. seriata*.

T2 : Traiter avec *Trichoderma* sp.

T3 : Traiter avec *B. bassiana*

Figure 20. Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de traitement sur la zone et le taux d'inhibition sur *D. seriata*.

Les résultats obtenus à partir des tableaux 9, 10 et la figure 20, montrent une différence très hautement significative à 0,1 % .Traitement ($p=0,000$; $p > 0,1\%$). entre les traitements sur la zone d'inhibition, traitement ($p=0,313$; $p > 0,1\%$). et traitement et taux d'inhibition sur *Diplodiaseriata*. Traitement ($p=0,029$; $p > 0,1\%$).

b). Le cas de *N. parvum*

Les résultats obtenus lors la confrontation direct de *D. seriata* avec *Trichoderma* sp et *B. bassiana* sont présentés dans les Tableaux 11, 12 et illustrés par la figure 21.

Tableau 11.Modèle G.L.M. appliqué a la zone d'inhibition de *Trichoderma* sp et *B. bassiana* sur *N. parvum*.

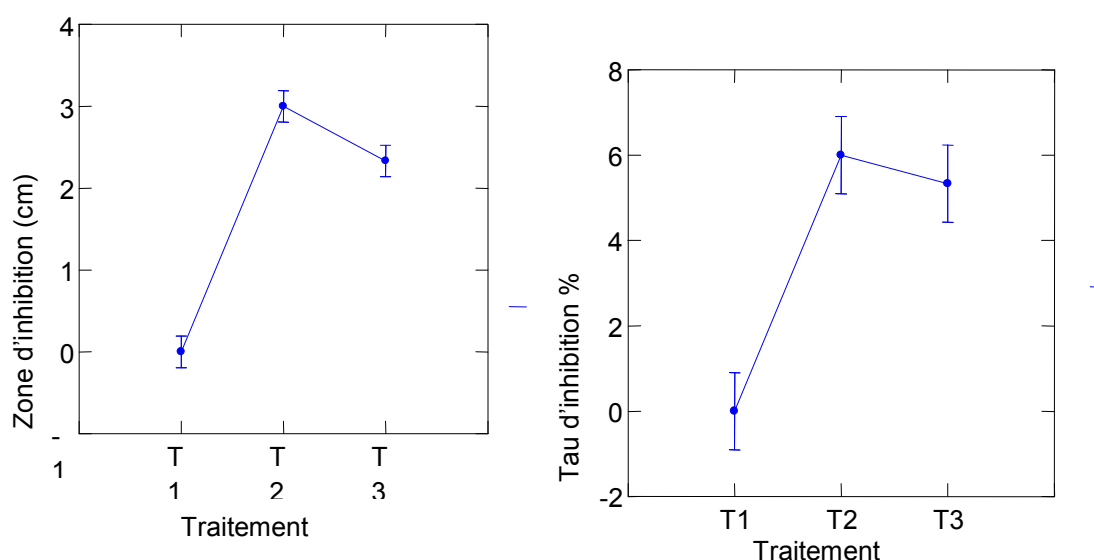
Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Traitement	14.889	2	7.444	67.000	0.000***

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

Tableau 12.Modèle G.L.M. appliqué a le taux d'inhibition de *Trichoderma* sp et *B. bassiana* sur *N. parvum*.

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Traitement	64.889	2	32.444	13.273	0.006***

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



T1 : Témoin de *N. parvum*.

T2 : Traiter avec *Trichoderma* sp .

T3 : Traiter avec *B. bassiana*

Figure 21. Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de traitement sur la zone et le taux d'inhibition sur *N. parvum*.

D'après les tableaux 11 et 12et figure 21, nous avons enregistrées une différence très hautement significative à 0,1 %, entre le traitement et la zone d'inhibition de la croissance

mycélienne Traitement ($p=0,000$; $p> 0,1\%$), et le traitement sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne ($p=0,006$; $p> 0,1\%$).

II. 2 . Reprise des implants

La remise en culture des implants de *D. seriata* et *N. parvum* testées en confrontation à l'égard de *Trichoderma* sp et *B. bassiana*, sont présentées par le tableau n° 13:

Tableau 13 La reprise des implants des pathogènes tester en confrontation avec les antagonistes.

<i>Diplodia seriata</i>		<i>Neofusicoccum parvum</i>	
<i>Trichoderma</i>	<i>Beauveria</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Beauveria</i>
-	+	-	-
-	-	-	+
-	+	-	+

(-) la reprise des antagonistes.

(+) la reprise des pathogènes.

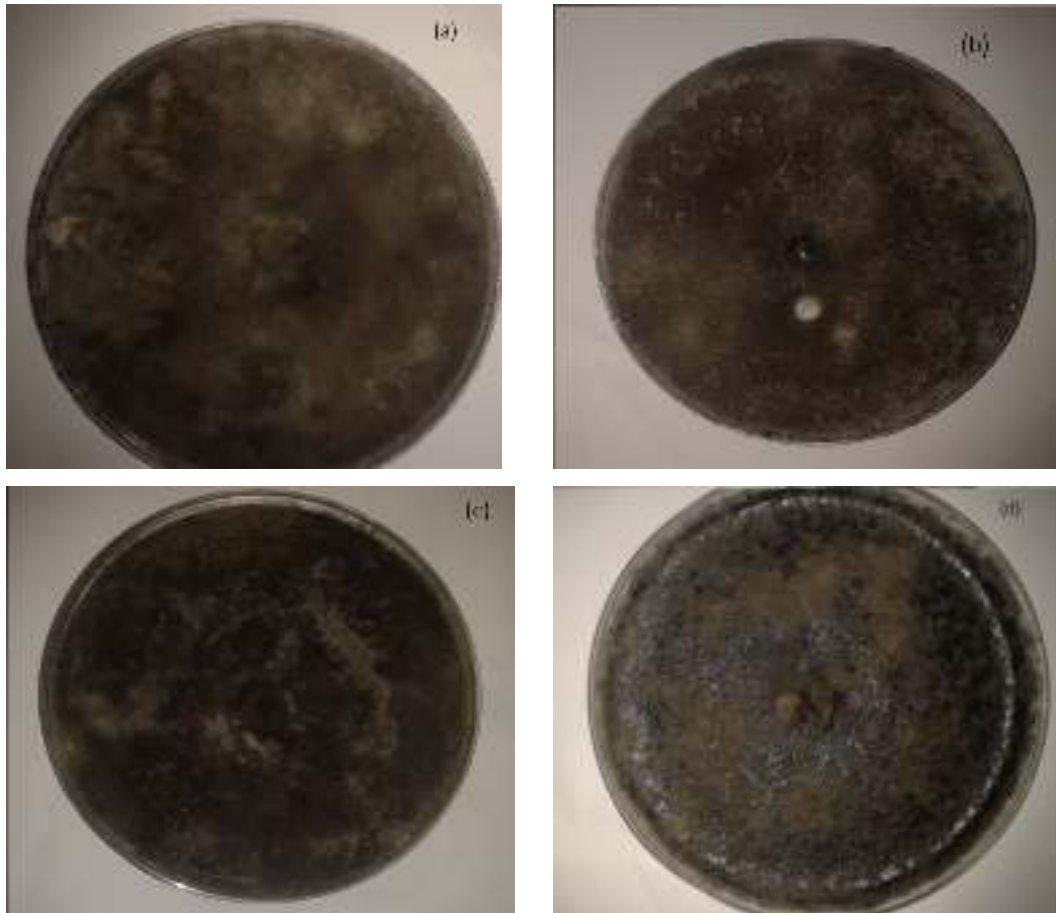


Figure 22. (a) : Implant de *Trichoderma vis-à-vis N. parvum*, (b) : implant *B. bassiana vis-à-vis N. parvum*, (c) : implant *Trichoderma vis à vis de D. seriata*, (d) : implant *B. bassiana vis-à-vis D. seriata*.

Les résultats observés sur le tableau n° 13, montrent que le mycélium des deux isolats pathogènes (*Diplodia* et *Neofusicoccum*), se développent à partir des implants, mais *Trichoderma* sp les recouvre et produit des fructifications à leurs surfaces (figure 22 a et c). Les implants de ces deux pathogènes confrontés avec *B. bassiana* ont pu se développer (figure 22 b et c).

II. 3. Production d'acide cyanhydrique (HCN)

Le test de production d'acide cyanhydrique (HCN) n'a pas donné de résultats car la couleur du papier imprégné d'une solution de couleur jaunâtre contenant : 0,5% d'acide picrique et 20 % de carbonate de calcium n'a pas viré du brun clair au rouge brun (figure 23).

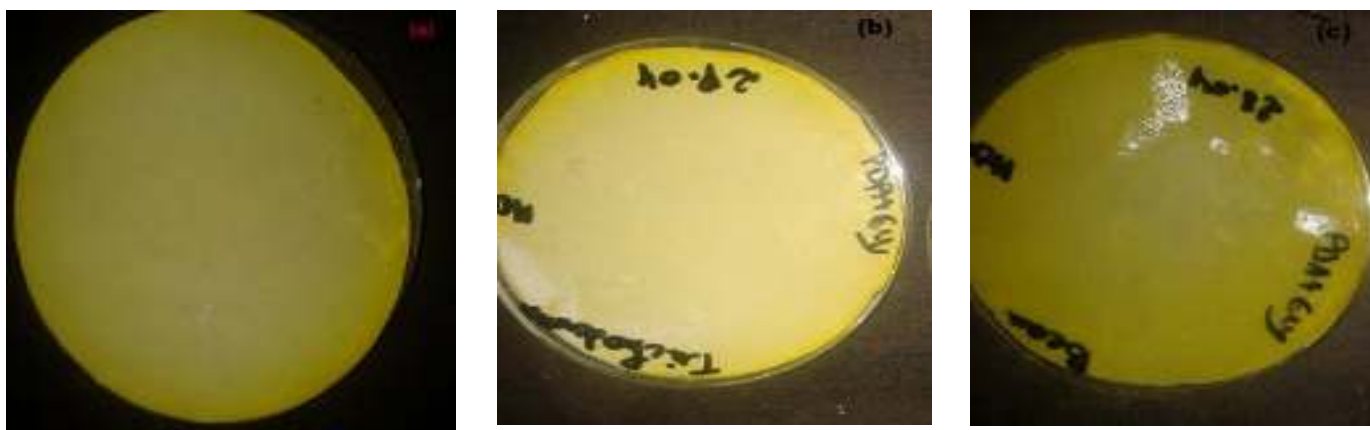


Figure23. La production d'acide cyanhydrique (HCN): (a): Témoin, (b): *Trichodermasp*, (c) :*B. bassiana*.

Selon les résultats observés, nous constatons que les deux isolats antagonistes *Trichoderma* sp et *B. bassiana* ne produisent pas l'HCN.

II. 4. Production de métabolites volatils

Le test de la mise en évidence de la production de métabolites volatils a été utilisé pour étudier la capacité des souches de *Trichoderma* sp et *Beauveria* sp, à inhiber la croissance des deux isolats *Neofusicoccum parvum* et *Diplodia seriata* par la production de substances volatiles. Les résultats observés sont présentés sur la figure n°24.

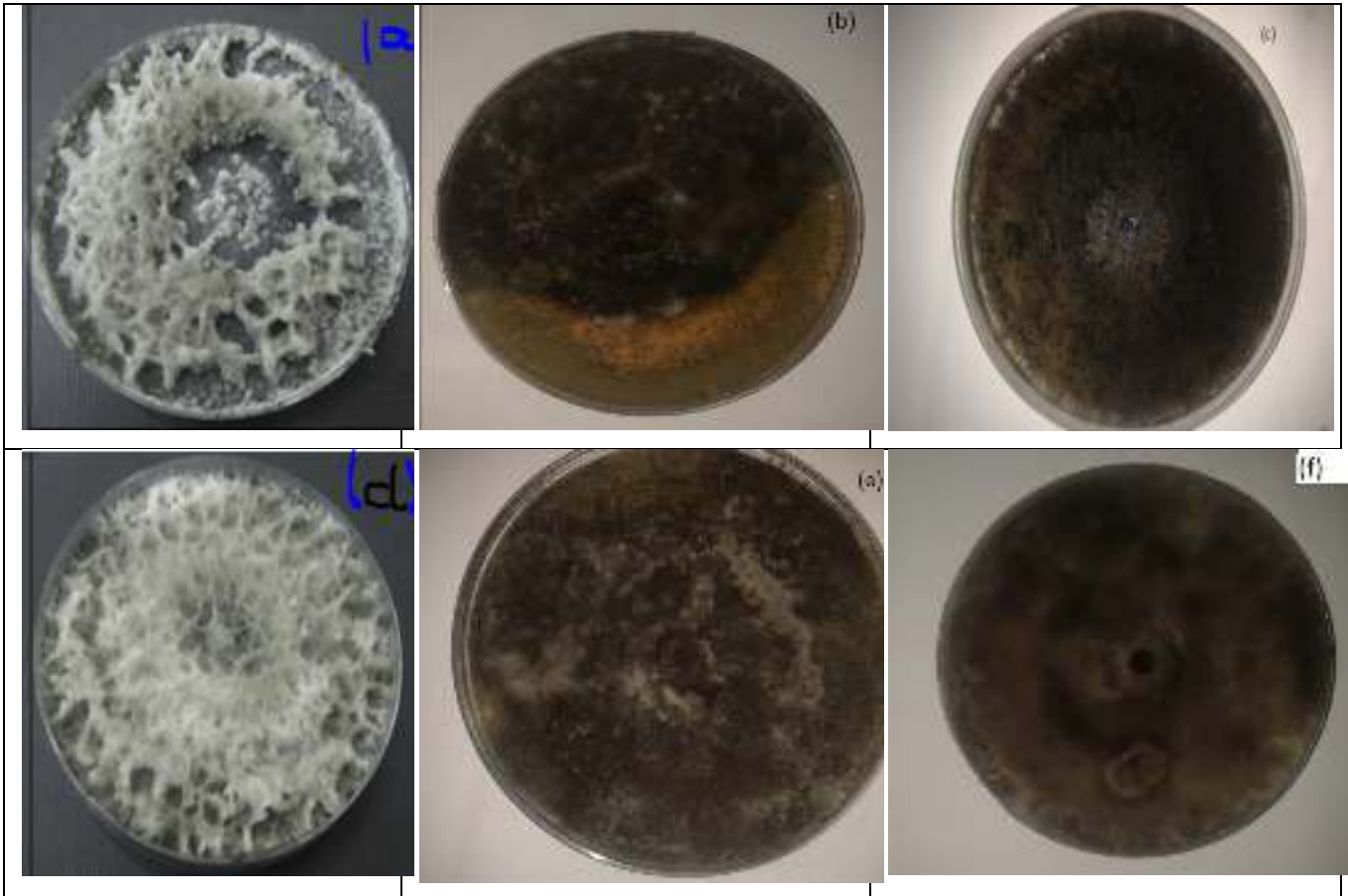


Figure 24. la production de métabolites volatiles : (a) : Témoin *Diplodia*, (b) : *Trichoderma* vis-à-vis *Diplodia*, (c) : *Beauveria* vis-à-vis *Diplodia*, (d) : Témoin *N. parvum*, (e) : *Trichoderma* vis-à-vis *N. parvum*, (f) : *Beauveria* vis-à-vis *N. parvum*.

Par rapport au témoin (figure 24 a et d), la croissance de *D. seriata* et *N. parvum* traitées par *Trichoderma* sp. est inhibée (figure 24 b et e). Par contre leur traitement avec *B. bassiana* n'a pas donné un effet (figure 24 c et f).

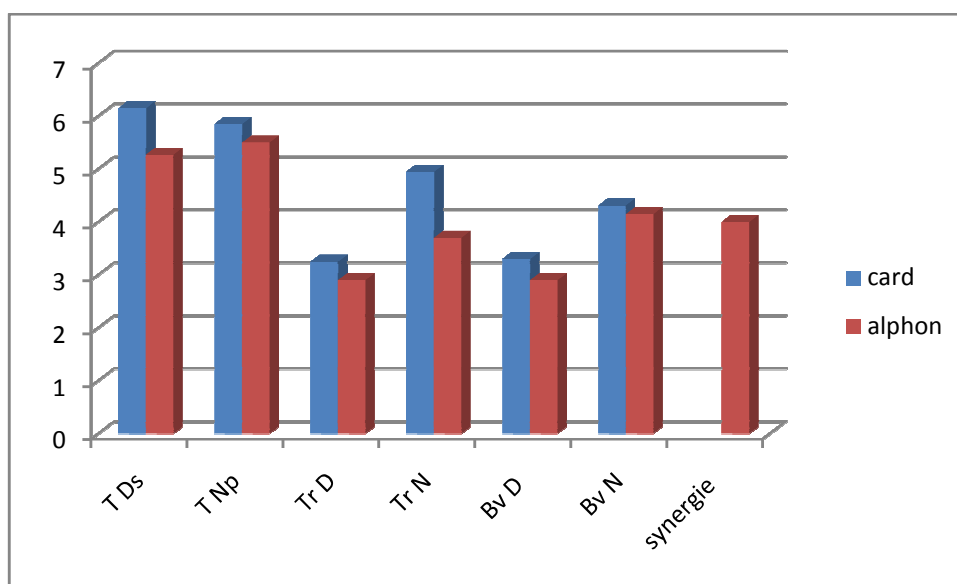
Après 5 jours d'incubation, la croissance mycélienne de *D. seriata* et *N. parvum* traitées par *Trichoderma* sp. est inhibée par rapport au témoin (figure 24). Par contre le traitement de ces derniers par *B. bassiana* n'a pas pu inhiber leur croissance (figure 24).

III. 1. Effets antagonistes *in vivo*

Après cinq semaines d'incubation des boutures inoculées par les antagonistes et les pathogènes (*Trichoderma* sp. et *B. bassiana* vis-à-vis *D. seriata* et *N. parvum*), les résultats sont consignés dans le tableaux 14.

Tableau 14. La taille des nécroses des boutures testées (en cm).

	<i>Cardinal</i>		<i>Alphonse Lavallé</i>	
	<i>D. seriata</i>	<i>N. parvum</i>	<i>D. seriata</i>	<i>N. parvum</i>
Témoin	6,15	5,27	5,85	5,5
<i>Trichodermasp</i>	3,25	4,95	2,9	3,7
<i>B.bassiana</i>	3,3	4,31	2,9	4,15
<i>Trichodermasp</i> + <i>B.bassiana</i>	/	/	/	3



TDs : témoin *Diplodia seriata*.

TNp : Témoin *N. parvum*.

TrD : *Diplodia seriata* traité par *Trichoderma* sp.

TrN : *N. parvum* traité par *Trichoderma* sp.

BvD : *Diplodia seriata* traité par *Beauveria bassiana*.

BvN : *N. parvum* traité par *Beauveria bassiana*.

Synergie : *N. parvum* traité par *Beauveria bassiana* et *Trichoderma* sp.

Figure 25. Taille des nécroses des boutures traitées par rapport aux variétés de *Vitis vinifera* (Alphonse Lavallé et Cardinal).

D'après les résultats du tableau n° 14 sur l'Alphonse Lavallé, la plus importante réduction de nécrose par rapport au témoin (5.85 cm) est notée sur les boutures inoculées par *D. seriata* traitées avec *Trichoderma* et *B. bassiana* (2.95 cm). Comparativement avec les boutures inoculées avec *N. parvum* traitées avec *Trichoderma* sp et *B. bassiana*, nous avons enregistré des réductions moyenne respectives de 1,8cm et 1,35 cm par rapport au témoin (5,5 cm).

Concernant l'effet antagoniste simultané des deux champignons, *Trichoderma* et *Beauveria* vis-à-vis de *Neofusicoccum parvum* sur des boutures d'Alphonse Lavallée, nous signalons une réduction de 2.5 cm de la nécrose par rapport au témoin (Figure 26).

D'après les résultats obtenus au niveau du tableau n° 14 sur Variété Cardinal, nous constatons que la plus importante réduction de nécrose par rapport au témoin (6,15 cm), est notée sur les boutures inoculées avec *D. seriata* traitées avec *Trichoderma* sp. et *B. bassiana* respectivement 2,9 cm et 2,85 cm. Les boutures inoculées avec *N. parvum* traitées avec *Trichoderma* sp. et *B. bassiana* ont donné des réductions moyennes de 0.32 cm et 0,96 cm respectivement. (Figure 27)

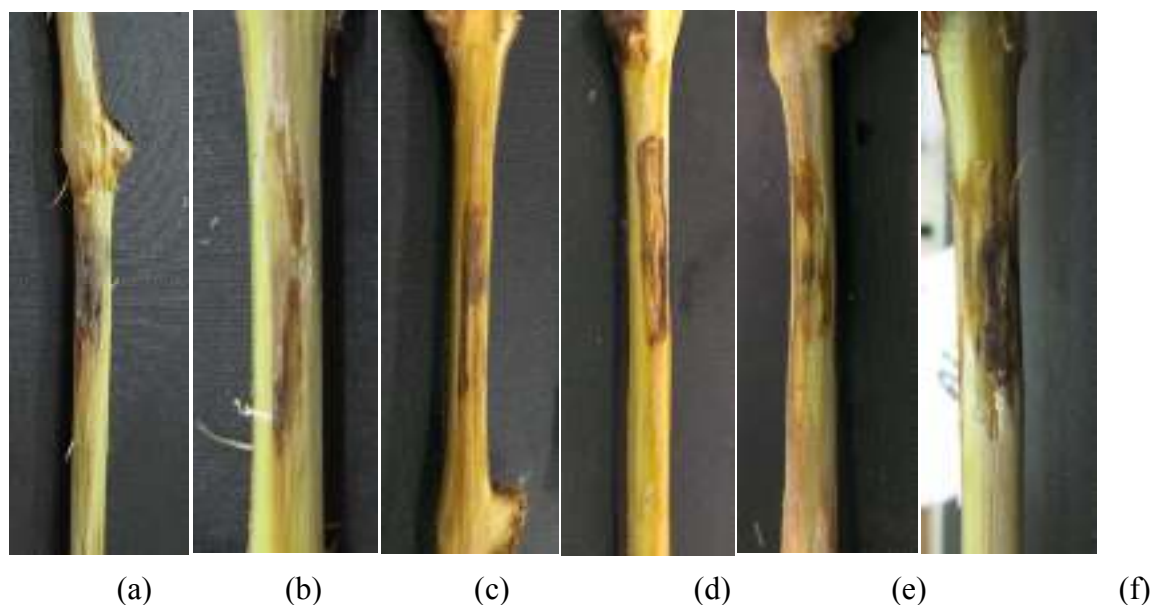


Figure 26. Les nécroses présentées sur les boutures de *Vitis vinifera* (variété Alphonse Lavallé). (a) : Témoin *D. seriata* , (b) : *D. seriata* traitée par *Trichoderma* sp, (c) : *D. seriata* traitée par *B. bassiana*. (d) : Témoin *N. parvum*. (e) : *N. parvum* traitée par *Trichoderma* sp. (f) : *N. parvum* traité par *B. bassiana*.



Figure 27. Les nécroses présentées sur les boutures de *Vitis vinifera* (variété cardinal). (a) : Témoin *D. seriata*, (b) : *D. seriata* traitée par *Trichoderma* sp., (c) : *D. seriata* traitée par *B. bassiana*. (d) : Témoin *N. parvum*. (e) : *N. parvum* traitée par *Trichoderma* sp. (f) : *N. parvum* traitée par *B. bassiana*.

1. Ré-isolement :

Les résultats du ré-isolement sur le milieu PDA des agents pathogènes (*D. seriata* et *N. parvum*) à partir des boutures du témoin et des boutures traitées par *Trichoderma* sp. et *B. bassiana*, sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 15. Les résultats du ré-isolement des agents pathogènes à partir des boutures traitées.

	Cardinal		Alphonse lavallé	
	<i>D.seriata</i>	<i>N. parvum</i>	<i>D.seriata</i>	<i>N. parvum</i>
Témoin	+	+	+	+
<i>Trichodermasp</i>	-	-	-	-
<i>B. bassiana</i>	+	+	+	+
<i>Trichodermasp.+ B. bassiana</i>	/	/	/	-

(+) : développement du pathogène.

(-) : développement de l'antagoniste

D'après le tableau 15 et à partir des résultats observés (figure 28), *Diplodia seriata* a pu se développer à partir des buchettes traitées par *B. bassiana* (figure 26 c et figure 27 c et f). Par contre le développement du pathogène a été inhibé pour les buchettes traitées par *Trichoderma* sp. et ceci pour les deux variétés testées.

D'après le tableau 15, les résultats observés montrent que *N. parvum* a pu se développer à partir des buchettes traitées avec *B. bassiana* (figure 26 c et f) et (figure 27 c et f). Par contre les buchettes traitées par *Trichoderma* sp. n'ont pas pu se développer (figure 28 b et e) et (figure 28 b et e).

En ce qui concerne le re-isolement à partir des buchettes traitées simultanément par *Trichoderma* et *Beauveria* sur les boutures d'Alphonse Lavallée, nous signalons le développement de *Trichoderma* sp. (figure 28 g).

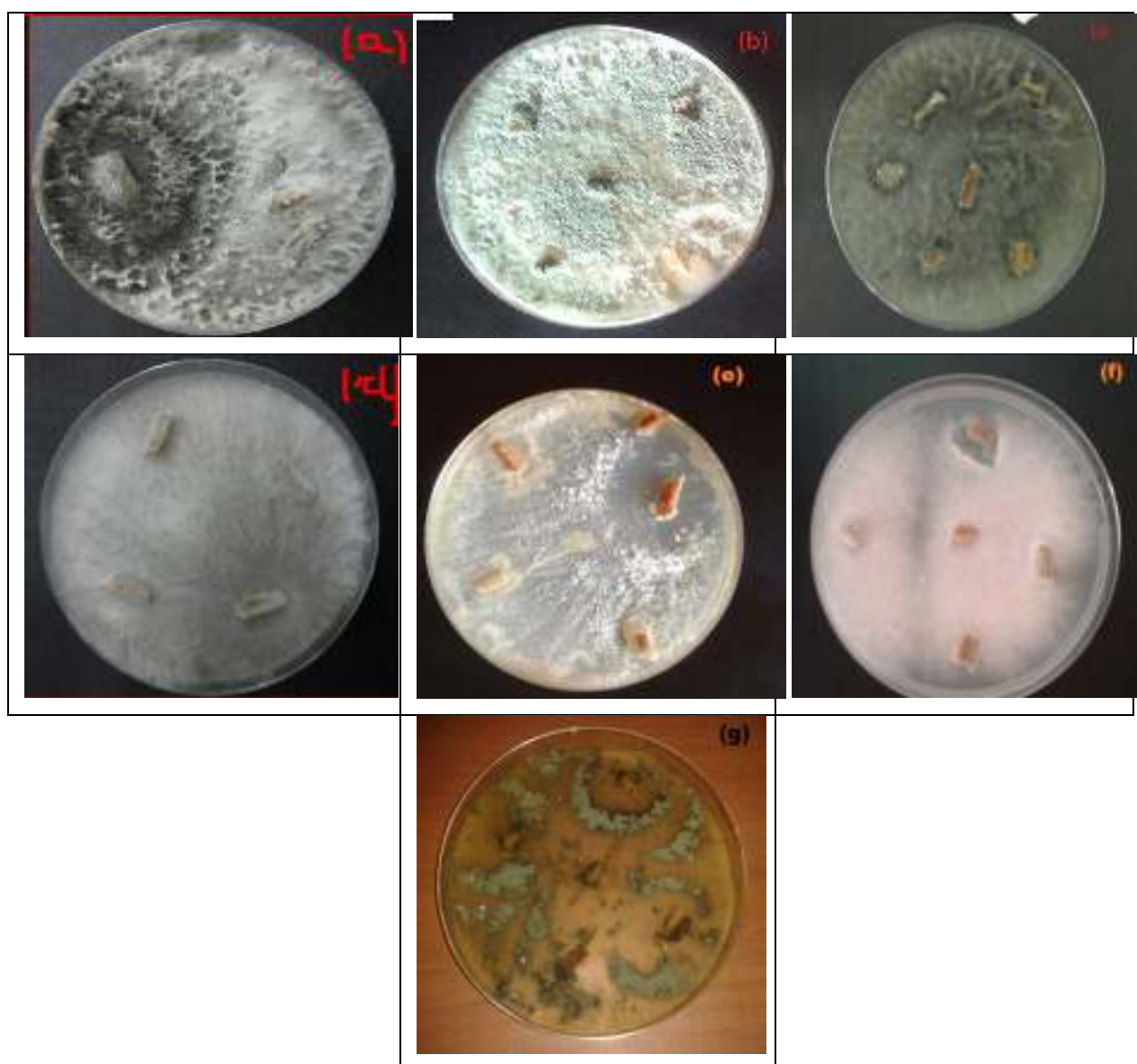


Figure 28.le ré-isolement des agents pathogènes sur Alphonse Lavallé: (a) : Témoin, (b) : *Trichoderma* sp. avec *D.serriata*, (c) : *B. bassiana* avec *D. seriata*, (d) : Témoin *N. parvum*,(e) : *Trichoderma* sp. avec *N. parvum*,(f) :*B. bassiana* avec *N. parvum*, (g) : *Trichoderma* sp.et *B. bassiana* avec *N. parvum*.

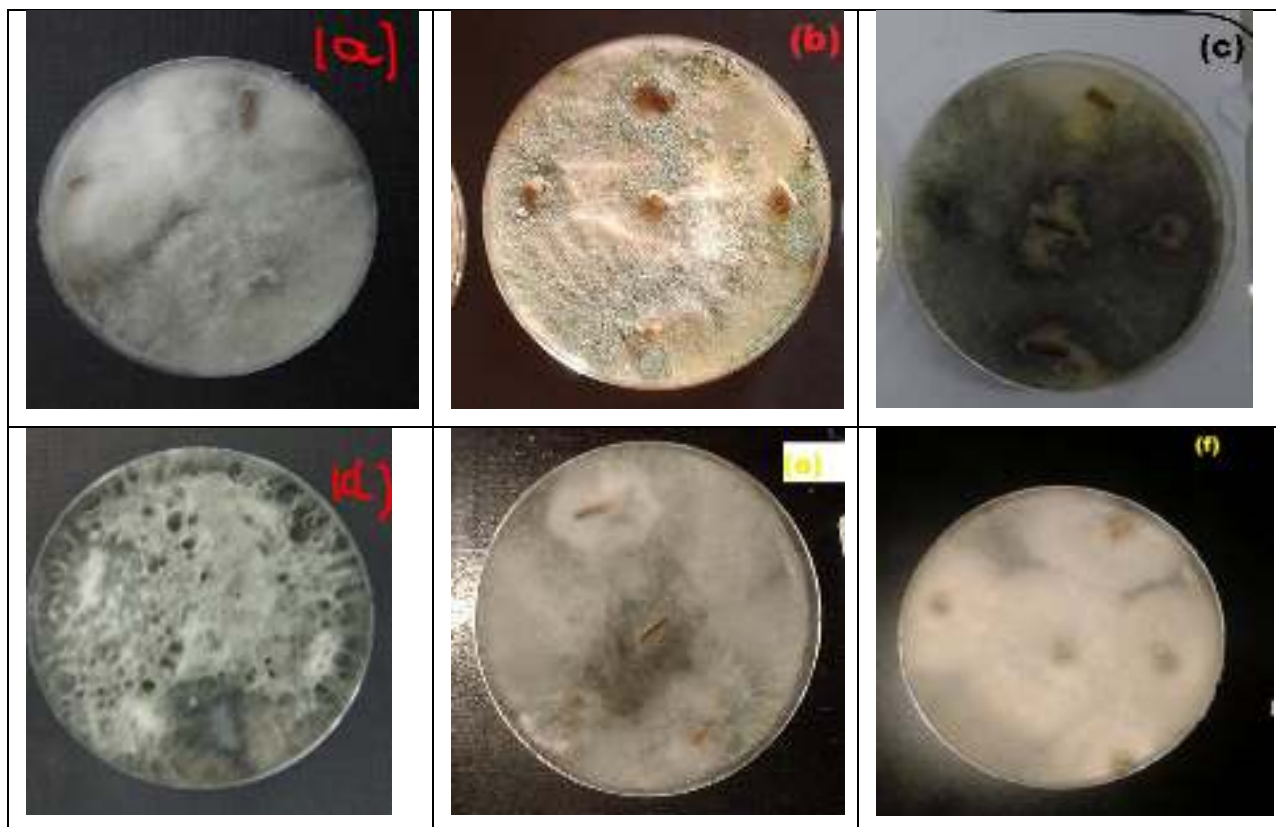


Figure 29. Le ré-isolément des agents pathogènes sur Cardinal : Témoin *D. seriata*(a), *Trichoderma* sp avec *D. seriata*(b), *B. bassiana* avec *D. seriata* (c), Témoin *N. parvum* (d), *Trichoderma* sp avec *N. parvum* (e), *B. bassiana* avec *N. parvum* (f).

Nous avons également ré-isolé d'autres micro-organismes qui sont considérés comme des champignons endophytes ou saprophytes.

IV. Evaluation de la phytostimulation

1. longueurs des tiges et longueurs des racines

Après l'inoculation des boutures de *Vitis vinifera* (Alphonse Lavallée, Cardinal), par les isolats antagonistes *Trichoderma* sp et *B. bassiana*, nous avons enregistré les résultats présentés dans le tableau 16.

Tableau 16. La longueur des tiges et racines par rapport aux traitements et aux variétés.

traitement	Hauteur des tiges (cm)		Longueurs des racines (cm)	
	cardinal	Alphonse lavallée	cardinal	Alphonse lavallée
T1	14,46	11,35	6,15	6,7
T2	14,78	23,4	7,15	8,9
T3	15,5	15,9	5,9	6,4
T4	-	14,6	-	6,9

T1 témoin

T2 : traiter par *Trichoderma* sp.

T3 : traiter par *B. bassiana*.

T4 : traiter par *Trichoderma* sp + *B. bassiana*.

Par rapport au Témoin, *Trichoderma* sp a un effet important sur la stimulation de la longueur des tiges et des racines d'Alphonse Lavallée. La longueur des tiges a atteint 23,4 cm et celle des racines 8,9 cm. Par contre *B. bassiana* n'a pas beaucoup stimulé la longueur des tiges et des racines. Le traitement synergique avec *Trichoderma* sp et *B. bassiana* sur Alphonse Lavallée n'a pas eu un effet remarquable sur la stimulation de la croissance, comparé au témoin (Tableau 16).

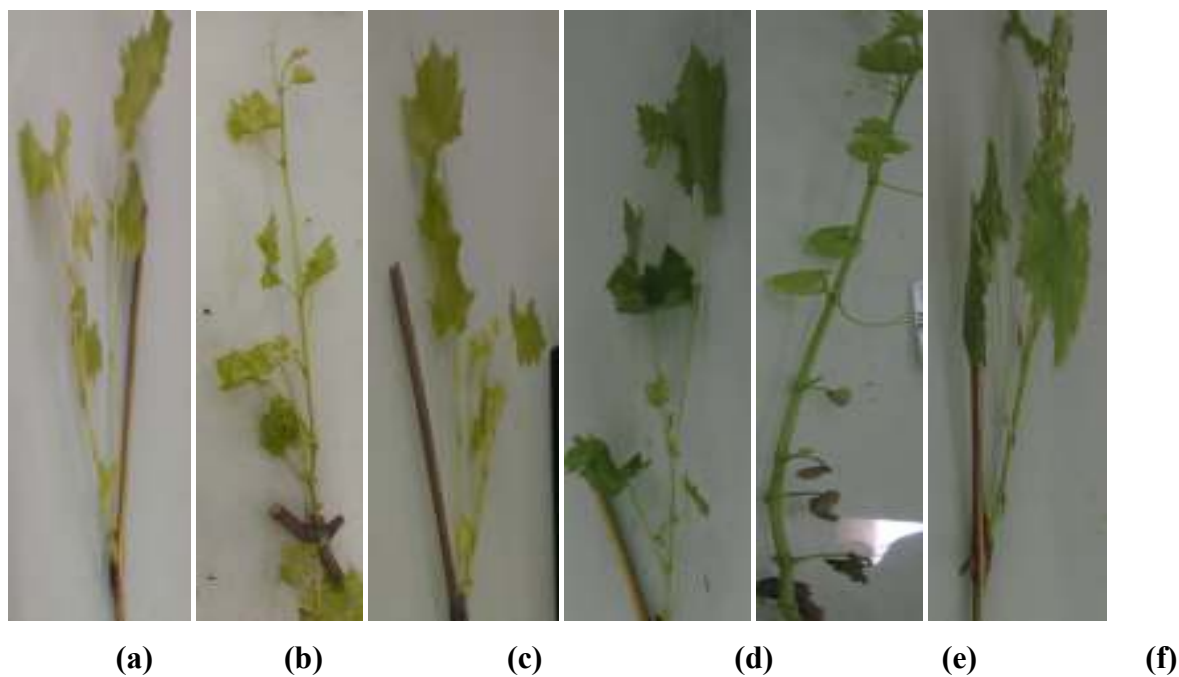


Figure 30: la longueur des tiges variétés Alphonse Lavallée: Témoin (a), traité avec *Trichoderma* sp (b), traité avec *B. bassiana* (c). Variété Cardinal : Témoin(d), traité avec *Trichoderma* sp (e), traité avec *B. bassiana* (e).

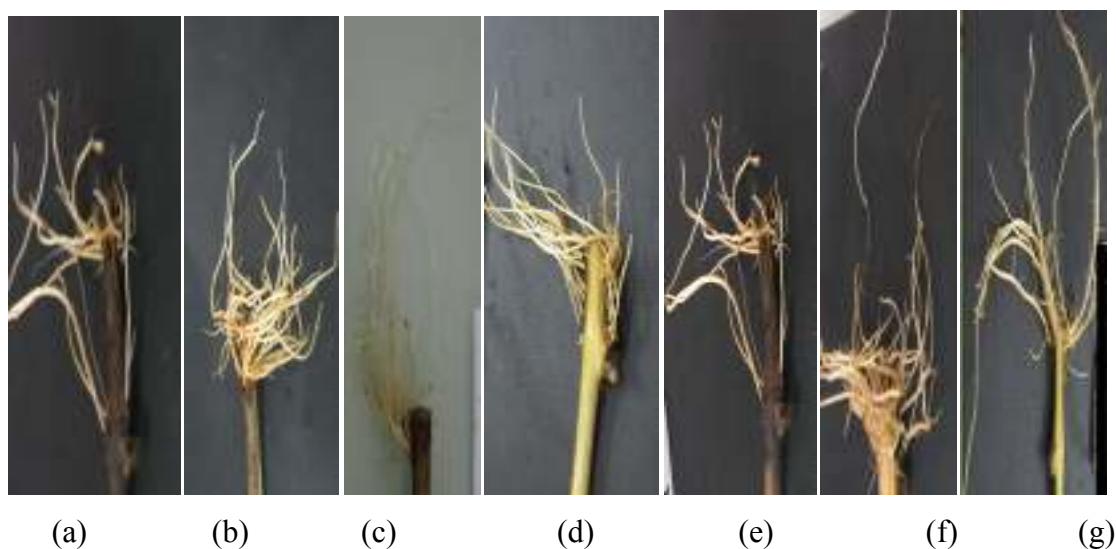


Figure 31. La longueur des racines des boutures ;Alphonse Lavallée témoin (a), traité par *Trichoderma* sp (b), traité par *B. bassiana* (c) traité par *Trichoderma* sp + *B. bassiana* (d). Cardinal témoin (e), traité par *Trichoderma* sp (f), traité par *B. bassiana*.

IV. 2. Etude comparative de variété et traitement avec modèle général linéaire (G.L.M.)

L'utilisation du modèle général linéaire (G.L.M.) a permis d'étudier les variations des paramètres de croissance de boutures de la vigne *Vitis vinifera* (longueurs des tiges racines sur les deux variétés (Alphonse-Lavallée et Cardinal). Les résultats sont mentionnés sur les tableaux 17 et 18.

Tableaux 17. Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *Trichoderma* sp et *B. bassiana* sur la hauteur des tiges des boutures de vigne sur les deux variétés.

Source	Sum-of-Square	Df	Mean-Square	F-ratio	P
Variété	9.600	1	9.600	0.050	0.824
Traitement	700.267	3	233.422	1.210	0.313

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

D'après les résultats obtenus pour la longueur des tiges (Tableau 17), nous avons noté qu'il n'y a pas une différence significative entre les boutures traitées et le témoin. Variété ($p=0,824$; $p> 0,1\%$). Traitement ($p=0,313$; $p> 0,1\%$).

Tableau 18. . Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *Trichoderma* sp et *B. bassiana* sur la longueur des racines de bouture de vigne sur les deux variétés.

Source	Sum-of-Squares	Df	Mean-Square	F-ratio	P
Variété	3.750	1	3.750	0.096	0.757
Traitement	85.575	3	28.525	0.731	0.537

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

Selon les valeurs de la longueur des racines (tableau 18), nous n'avons pas enregistré de différence significative entre les boutures traitées et le témoin. Variété ($p=0,757$; $p> 0,1\%$). Traitement ($p=0,537$; $p> 0,1\%$).

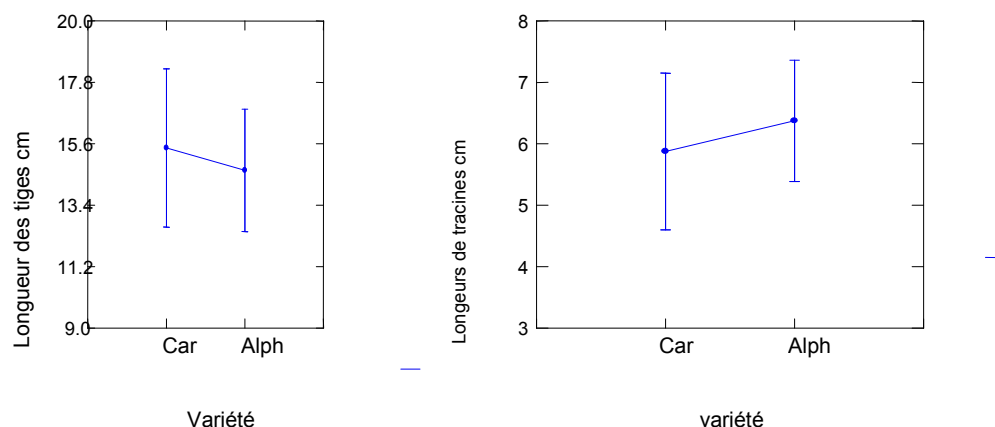


Figure29. Les longueurs de tige et racine sur les boutures traitées par *Trichoderma* sp et *B. bassiana* par rapport aux deux variétés de *Vitis Vinifera* (Cardinal et Alphonse Lavallé).

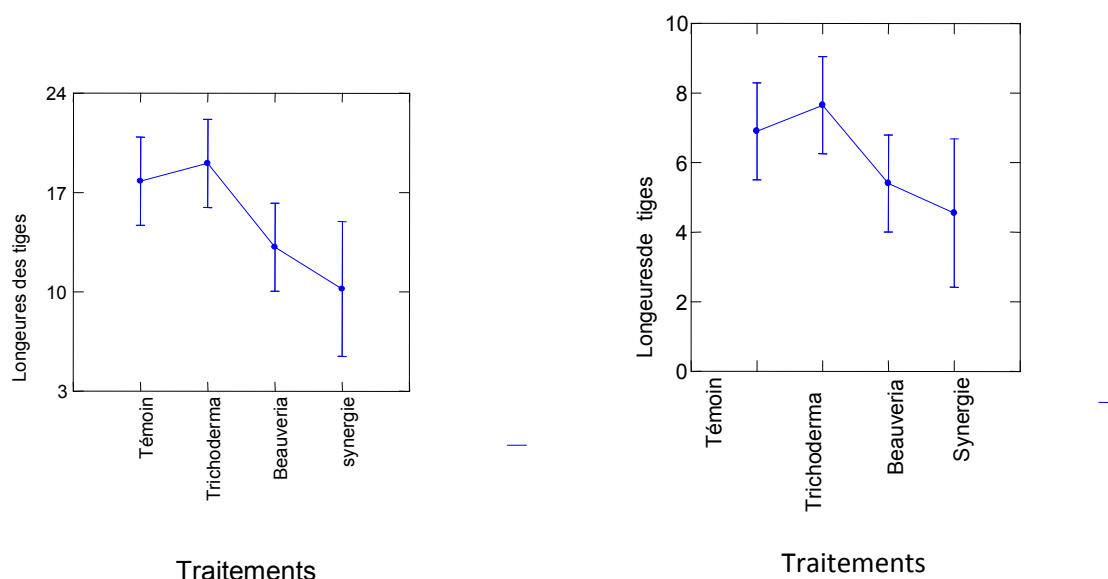


Figure 30. La longueur des tiges et racines des boutures de *Vitis vinifera* traitées par l'association de *Trichoderma* sp et *B. bassiana*

V. La phytomasse

V. 1. Poids frais et poids sec de la partie aérienne

Les valeurs moyennes des poids frais et sec de la partie aérienne ont montré une différence non significative par rapport au témoin (tableau 19 et 20).

Tableau19. Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *Trichoderma* sp et *B. bassiana* et l'effet des variétés sur le poids frais des tiges.

Source	Sum-of-Squares	Df	Mean-Square	F-ratio	P
Variété	3.750	1	3.750	0.372	0.544
Traitement	53.842	3	17.947	1.781	0.160

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

Tableau 20 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *Trichoderma* sp et *B. bassiana* et l'effet des variétés sur le poids sec des tiges.

Source	Sum-of-Squares	Df	Mean-Square	F-ratio	P
Variété	317.400	1	317.400	0.332	0.567
Traitement	3030.642	3	1010.214	1.056	0.374

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

L'analyse des résultats (Tableau 19 et 20), a montré qu'il n'y a pas une différence significative en poids frais et sec, chez les variétés et les traitements par rapport au témoin. Variété ($p=0,544$; $p > 0,1\%$). Traitement ($p=0,160$; $p > 0,1\%$).

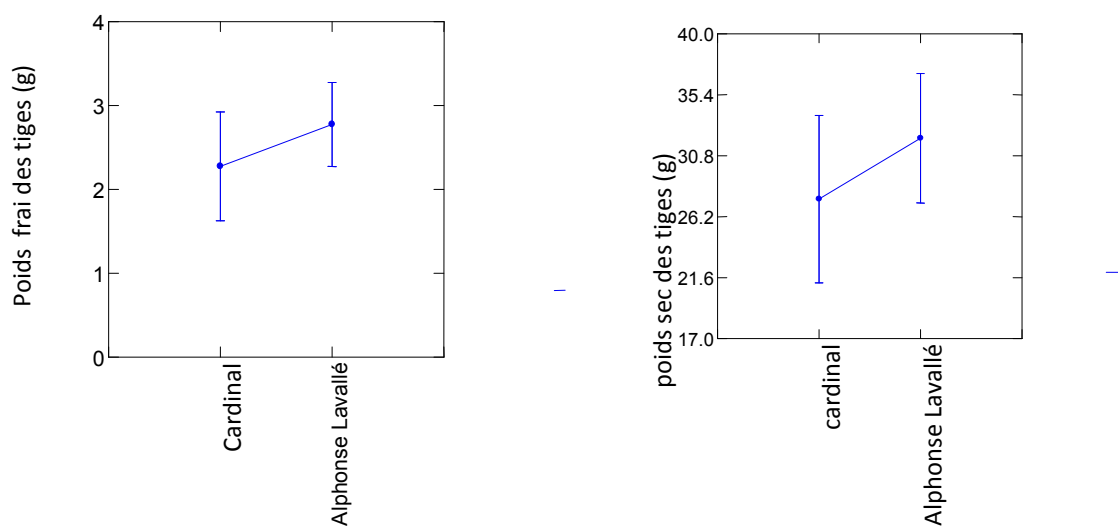


Figure31. Poids frais et sec des tiges par rapport aux variétés.

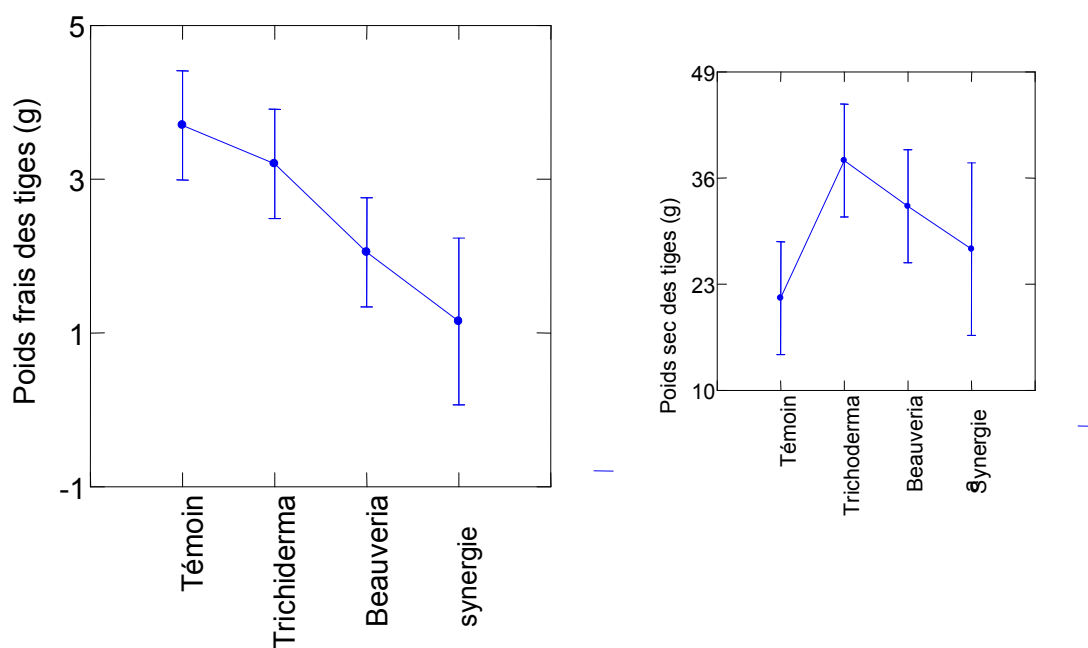


Figure32. Poids frais et sec des tiges par rapport aux traitements.

V. 2. Le poids frais et le poids sec des racines

Les valeurs moyennes de poids frais et sec de la partie racinaire ont montré une différence non significative par rapport au témoin (tableau 21).

Tableau 21. Poids frais et sec des racines par rapport aux traitements et aux variétés

Traitement	Poids frais des racines (g)		Poids sec des racines (g)	
	Cardinal	Alphonse lavallée	Cardinal	Alphonse lavallée
T1	0,22	0,47	0,15	0,78
T2	0,89	1,67	0,15	0,41
T3	0,39	0,42	0,02	0,028
T4	-	1,83	-	0,27

T1 : Témoin

T2 : Traiter par *Trichoderma* sp

T3 : Traiter par *B. bassiana*

T4 : Traiter par *Trichoderma* sp et *B. bassiana*.

Selon les résultats enregistrés (Tableau 21), nous constatons que le poids frais et sec ne représentent pas une différence significative entre les traitements et le témoin sur les deux variétés de *Vitis vinifera*.

V. 3. Etude comparative des poids frais et poids sec des parties racinaires

Les résultats obtenus de la phytomasse de la partie racinaire sont analysés par GLM, et présentés sur les tableaux 22 et 23.

Tableau 22 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *Trichoderma* sp et *B. bassiana* et l'effet des variétés sur le poids frais et sec des racines.

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Variété	88.817	1	88.817	0.412	0.523
Traitement	296.167	3	98.722	0.458	0.713

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

Tableau 23. Modèle G.L.M. appliqué à l'effet de *Trichoderma* sp et *B. bassiana* et l'effet des variétés sur le poids sec des racines.

Source	Sum-of-Squares	Df	Mean-Square	F-ratio	P
Variété	601.667	1	601.667	1.130	0.292
Traitement	1265.667	3	421.889	0.792	0.503

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

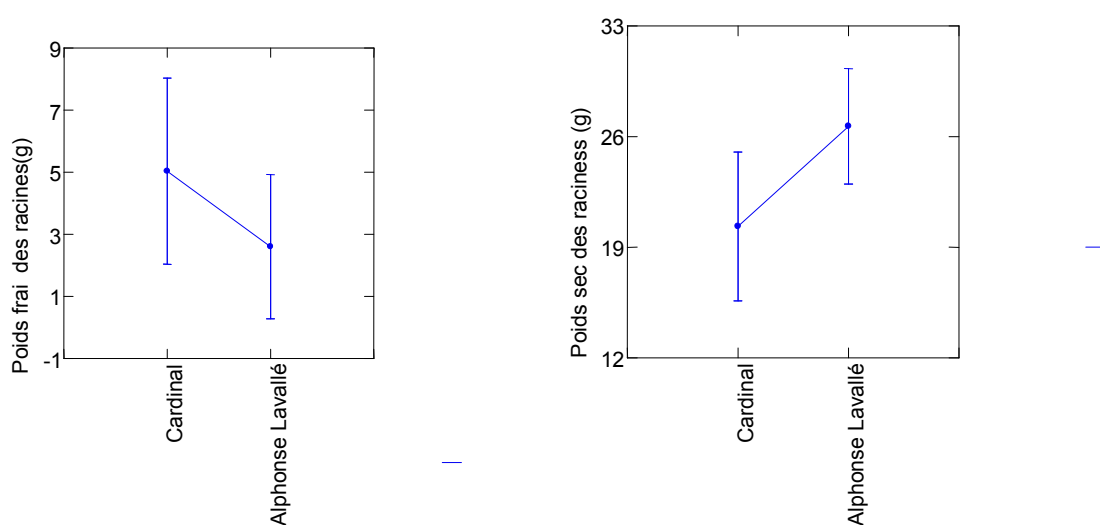


Figure33. Analyse par GLM du Poids frais et sec des racines par rapport aux variétés.

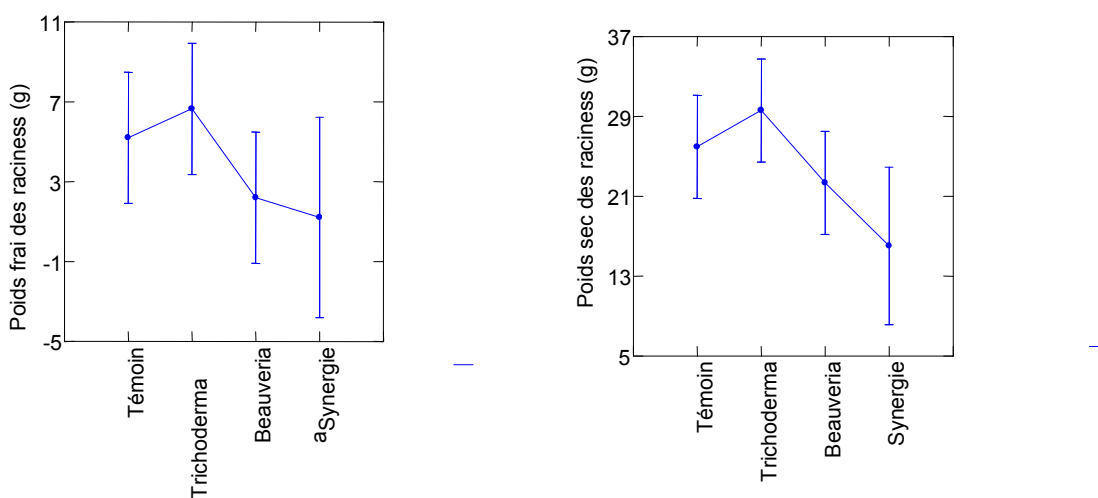


Figure34. Analyse par GLM de Poids frais et sec des racines par rapport aux traitements.

Il ressort du tableau n° 22 et 23 que *Trichoderma* sp et *B. bassiana* n'ont pas un effet significative sur le poids frais et sec des racines par rapport au témoin. Variété ($p=0,523$; $p> 0,1\%$). Traitement ($p=0,713$; $p> 0,1\%$).

L'objectif de cette approche de lutte, est de tenter de détecter un éventuel pouvoir antagoniste *in vitro* des agent fongique *Trichoderma* sp et *Beauveria bassiana* à l'égard de deux isolats phytopathogènes de la vigne appartenant au genre *Botryosphaeriacea* (*Diplodia seriata* et *Noefusicoccum parvum*).

Le genre *Trichoderma* est un groupe agronomiquement important car il comprend des champignons « agents de biocontrôle » dont le mode d'action a fait l'objet de nombreux travaux. Des études récentes font en effet l'état d'une capacité de ce champignon filamenteux à intervenir selon divers mécanismes : mycoparasitisme, antagonisme (compétition), antibiose (production d'antibiotiques), stimulation racinaire, stimulation de la croissance par solubilisation de minéraux fertilisants, stimulation des défenses naturelles des plantes.

Les résultats de la lutte menés dans cette étude semblent être intéressants. *Trichoderma* sp. Et *Beauveria bassiana* ont montré leur pouvoir antifongique vis-à-vis des champignons étudiés. Les résultats obtenus montrent une nette réduction du diamètre moyen des colonies de *Diplodiade sriata* et *Noefusicoccum parvum*. en présence de *Trichoderma* sp par rapport au témoin non traité après cinq jours d'incubation à 25 °C. Cette réduction atteint pour l'isolat *Diplodia seriata* 4.96 cm et *Noefusicoccum parvum* 3.6 cm, traduisant respectivement une inhibition de l'ordre de 41.64% et 42.35% par rapport au témoin (8.5cm).

En présence de *Beauveria bassiana* la réduction était de 4.63cm pour l'isolat *Diplodia seriata* et de 5.6 cm pour *Noefusicoccumparvum* se traduisant par une inhibition de l'ordre de 45.52 % et 33.73% par rapport au témoin avec (8.5cm).

Daami-Remadi (2001), a montré l'effet fortement antagoniste de *T. harzianum* vis-à-vis des *Fusarium* responsables de la pourriture sèche sur des tubercules de pomme de terre. Cette inhibition était plus marquée (près de 93 %) si l'antagoniste était apporté sous forme d'une suspension de spores dans le milieu de culture.

L'effet bénéfique du *T. harzianuma* été signalé aussi par Sivan *et al.*, (1987) qui ont montré que l'enrobage des semences de tomate à l'aide de cet antagoniste a réduit de 80 % l'attaque de la fusariose des racines et du collet de la tomate.

La compétition des deux isolats antagoniste se manifeste par leurs aptitude à utiliser les mêmes ressources du milieu (le carbone, l'azote et autres facteurs de croissance et sites de

développements) .que chaque champignons pathogènes, mais ces deux antagonistes emploient ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des indésirables.

La croissance mycélienne de *D. seriata* et *N. parvum* traitées par *Trichoderma sp* est inhibée par rapport au témoin, car elle peu grâce à la production d'enzymes (chitinases et glucanases) parasiter directement les hyphes des champignons qu'ils combattent, les pénétrer et provoquer la lyse de leurs cellules (Fuchs et al, 1990). Par contre le traitement de ces derniers par *B. bassiana* n'a pas pu inhiber leur croissance. Ce résultat peut être expliqué par l'absence de ces enzymes.

Les deux isolats antagonistes *Trichoderma sp*. Et *Beauveria bassiana* ne produisent pas l'HCN.L'effet antagoniste peut être attribué à la synthèse d'autres substances principalement les enzymes et des molécules bioactives. Il résulte également de la production de substances qui agissent comme des « antibiotiques et antifongiques » et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène(Vining, 1990).

Dans nos résultats, nous avons noté que l'inhibition de la croissance mycélienne des deux isolats pathogènes est variable selon les souches antagonistes testées. Cette différence pourrait être expliquée par la différence de sensibilité des isolats testés. En effet, il est connu qu'au sein d'une espèce fongique, il existe une variabilité dans l'agressivité des souches (Laveau *et al.*,2009).

Les résultats obtenus dans le teste de biocontrôle *in situ*, après cinq semaine d'incubation des boutures de *Vitis vinifera*, ont montré une différence très significatives entre la taille des nécroses des boutures inoculées par les antagonistes et les pathogènes. Les antagonistes (*B. bassiana* et *Trichoderma sp*)ont montré en effet un fort potentiel antagoniste contre les isolats pathogènes (*trichoderma sp* et *B.bassiana vis-à-vis a D. seriata* et *N. parvum*) et les témoins inoculés avec les pathogènes.

Le genre *Trichoderma* a été utilisé depuis les années 1930, dans la lutte biologique appliquées en agriculture. Différentes espèces de ce genre ont montré leurs efficacité dans la lutte contre les agents phytopathogènes aériens et tellurique (Hmouni *et al.* 1999; Mouria *et al.* 1997a, b).

Plusieurs exemples de succès de la lutte biologique ont été attribués aux mécanismes de mycoparasitismes et ou l'antibiose, à la compétence rhizosphérique, aux enzymes lytiques telles que les chitinases et les glucanases et à l'induction des mécanismes de résistances de la plante (Chet, 1987 ; Yedidia *et al.*, 1999). Le renforcement des activités antifongiques a été montré chez les plantes et les microorganismes.

Avant la mise en œuvre d'une stratégie de lutte contre les champignons phytopathogènes à l'aide de produits biologiques, il est nécessaire de connaître le comportement des agents antagonistes et leurs interactions avec le pathogène (Larkin, Fravel, 1999). A cet effet deux tests d'activité antagoniste ont été réalisés *in vitro* et *in situ* entre *Trichoderma* sp, *Beauveria bassiana* et *Diplodia seriata* et *N. parvum*. Ces deux tests ont donné des résultats différents, le test d'antagonismes *in vitro* a été plus significatif par rapport à celui obtenu *in Situ*. Cependant, la corrélation entre les potentialités exhibées *in vitro* et *in vivo*, n'est pas toujours évidente (Benchaabane *et al.*, 2000).

Après cinq semaines d'inoculation des boutures de *vitis vinifera* (Alphonse Lavallé, Cardinal), par les isolats antagonistes *Trichoderma* sp et *B. bassiana*, nous avons noté une absence de la phytostimulation par rapport au témoin et cela était notable sur les paramètres étudiés (hauteur des tiges et des racines).

L'étude de l'association des deux isolats antagonistes sur la stimulation de la hauteur des tiges et la longueur des racines n'a montré aucun effet synergique sur les paramètres étudiés.

Nous avons remarqué que l'utilisation des antagonistes sur la stimulation de la croissance des boutures des deux variétés n'a aucun effet significatif sur le poids frais et le poids sec de la partie aérienne et racinaire comparativement au témoin. Ce résultat peut être dû aux mécanismes de stimulation qui sont mal élucidés (Menziez, 1993).

L'étude de l'association des isolats antagonistes sur la stimulation du poids frais et le poids sec des racines n'a montré aucun effet synergique sur les paramètres étudiés. Les effets sont inégaux d'un isolat à l'autre. Certains isolats possèdent des effets stimulateurs et d'autres ont des effets inhibiteurs.

CONCLUSION

Les résultats de la lutte menée dans cette étude semblent être intéressants. *Trichoderma* sp. et *Beauveria bassiana* ont montré leur pouvoir antifongique *vis-à-vis* des champignons étudiés. Les résultats obtenus montrent une nette réduction du diamètre moyen des colonies de *Diplodia seriata* et *Noefusicoccum parvum*. en présence de *Trichoderma* sp par rapport au témoin non traité après cinq jours d'incubation à 25 °C.

En présence de *Beauveria bassiana* la réduction était de 4.63cm pour l'isolat *Diplodia seriata* et de 5.6 cm pour *Noefusicoccum parvum* se traduisant par une inhibition de l'ordre de 45.52 % et 33.73% par rapport au témoin avec (8.5cm).

Daami-Remadi et Mahjoub (2001), ont Signalé, en testant l'activité antagoniste de *Trichoderma vis-à-vis* de deux espèces de *Pythium*, que pendant les trois premier jours la boîte de Pétri est totalement envahie par le *Pytium* spp et que *Trichoderma* sp ne commence à exercer son activité antagoniste qu'à partir du 4^{ème} jour d'incubation.

La compétition des deux isolats antagoniste se manifeste par leurs aptitude à utiliser les mêmes ressources du milieu (le carbone, l'azote et autres facteurs de croissance et sites de développements) .que chaque champignons pathogènes, mais ces deux antagonistes emploient ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des indésirables.

Les résultats observés à partir de la remise des implants des isolats confrontés avec les antagonistes, montrent que le mycélium des deux isolats pathogènes (*Diplodia* et *Noefusicoccum*), se développent à partir des implants, mais *Trichoderma* sp les recouvre et produit des fructifications à leurs surfaces, car elle peut grâce à la production d'enzymes (*chitinases* et *glucanases*), parasiter directement les hyphes des champignons qu'ils combattent, les pénétrer et provoquer la lyse de leurs cellules (Fuchs et al, 1990). par contre Les implants de ces deux pathogènes confrontés avec *B. bassiana* ont pu se développer ce peut être dû à l'absence des enzymes qui les parasitent.

Les deux isolats antagonistes *Trichoderma* sp et *Beauveria bassiana* ne produisent pas l'HCN. L'effet antagoniste peut être attribué à la synthèse d'autres substances principalement les enzymes et des molécules bioactives. Il résulte également de la production de substances qui agissent comme des « antibiotiques et antifongiques » tel que : *polycétates* et *trichodermines*. (et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène) (Vining, 1990).

CONCLUSION

Dans nos résultats aussi nous avons noté que l'inhibition de la croissance mycélienne des deux isolats pathogènes est variable selon les souches antagonistes testées. Cette différence pourrait 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).

Les résultats obtenus dans le teste de biocontrôle *in situ*, après cinq semaine d'incubation des boutures de *Vitis vinifera*, ont montré une différence très significative entre la taille des nécroses des boutures inoculés par les antagonistes et les pathogènes (*Trichoderma* sp. et *B. bassianavis*-à-vis a *D. seriata* et *N. parvum*) et les témoins inoculés avec seulement les pathogènes.

Plusieurs exemples de succès de la lutte biologique ont été attribués aux mécanismes de mycoparasitismes et ou l'antibiose, à la compétence rhizosphérique, aux enzymes lytiques telles que les chitinases et les glucanases et a l'induction des mécanismes de résistances de la plante (Chet, 1987 ; 1998 ; Yedidia et al., 1999). Le renforcement des activités antifongiques a été montré chez les plantes et les microorganismes.

Avant la mise en œuvre d'une stratégie de lutte contre les champignons phytopathogènes à l'aide de produits biologiques, il est nécessaire de connaître le comportement des agents antagonistes et leurs interactions avec le pathogène (Larkin, Fravel, 1999), c'est pourquoi deux tests d'activités antagonistes ont été réalisés, *in vitro* et *in situ* entre *Trichoderma* sp, *Beauveria bassiana* et *Diplodia seriata* et *N. parvum*. Ces deux tests ont donné des résultats différents. Le test d'antagonismes *in vitro* a été plus performant par rapport à celui obtenu *inSitu*. Cependant, la corrélation entre les potentialités exhibées *in vitro* et *in vivo*, n'est pas toujours évidente (Benchaabane *et al.*, 2000).

Après cinq semaines d'inoculation des boutures de *Vitis vinifera* (Alphonse Lavallée, Cardinal), par les isolats antagonistes *Trichoderma* sp et *B. bassiana*, nous avons noté une absence de la phytostimulation par rapport au témoin traité par l'eau.

D'après nos résultats, sur les deux variétés de *Vitis vinefera*, nous signalons une absence d'une différence significative par rapport au témoin non traité, sur la hauteur de tige et des racines par rapport aux traitements utilisés (*Trichoderma* sp. et *B. bassiana*) sur Alphonse Lavallée et même sur le Cardinal.

CONCLUSION

L'étude de l'association des deux isolats antagonistes sur la stimulation de la hauteur des tiges et la longueur des racines n'a montré aucun effet synergique sur les paramètres étudiés. Sa pourrait être expliquée par une faible concentration des isolats pathogènes

Au terme de cette étude, il serait peut être intéressant de :

- Envisager, d'étendre l'expérimentation *in situ* avec les deux isolats *Trichoderma* sp et *Beauveria bassiana* d'autres espèces phytopathogènes sur des plants économiquement importante a notre pays.
- Tester l'effet *in vivo* la souche *Trichoderma* sp et *Beauveria bassiana* sur la croissance de *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum* et qui peut donc avoir des intérêts pratiques en lutte biologique contre les effets néfastes des espèces pathogènes présentées dans ce travail.
- Chercher à séparer des métabolites primaires intéressants de *Trichoderma* sp. et *Beauveria bassiana*.

Références bibliographiques

Anonyme, 2007 -Campagne de production viticole. Ed. CNCC

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.

Avis PG, Mueller GM. & Lussenhop J, 2008. Ectomycorrhizal fungal communities in two North American oak forests respond to nitrogen addition. *New Phytol* 179: 472–483

Bakker A.W., et Schippers B., 1987. Microbial cyanid production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and pseudomonas spp- mediated plant growth-stimulation. *Soil Biol. Biochem.* 19(4) :451-457.

Beauverie, J. 1911. Notes sur les Muscardines. Sur une muscardine du ver à soie, non produite par le *Botrytis bassiana*. Étude du *Botrytis effusa* sp. nov. *Rapp. Comm. administrative du lab. d'études de la soie*, Lyon, 14: 5-31.

Benchaabane, M., Bakour, R., Toua, D., Boutekrabet, 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., Boutekrabet,

Bendjilali Y., 1980 - Le raisin de table dans le centre du pays, situation actuelle et possibilité de développement. Thèse Ing. I.N.A de Mostaganem. 96p

Benettayeb Z., 1993 . Biologie et écologie des arbres fruitiers. Ed. OPU. Alger, 140p.

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.

Berraf-Tebbal A. Marco A. Guereiro And Alan J.L. Phillips., 2014. [12:13:31] **TEBBAL A:** Phylogeny of *Neofusicoccum* species associated with grapevine trunk diseases in Algeria, with description of *Neofusicoccum algeriense* sp. nov. [12:13:34] **TEBBAL A:** *Phytopathologia Mediterranea* (2014) 53, 3, 416–427

Berraf-Tebbal A., 2013. Dynamique spatio-temporelle de l'eutypiose et l'esca de la vignedans le sahel algérois. Taxonomie et phylogénie des agents pathogènes associés. Doctorat, ENSA El-Harrach.

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

Bissett, J. 2004. Commentaires de l'adresse internet suivante : [http ://www](http://www).

Blancard D., et Lecomte P., 2014. Biologie et epidimiologie des Botryosphaeriacea .<http://ephytia.inra.fr/fr/C/7052/Vigne-Biologie-epidemilogie>

Blouin J., 2005. Les parasites de la vigne. Stratégie de protection raisonnée. Traduit de l'espagnol sous la direction de Daniel Gouadec par Gaulou-Brain. J et Amos-Sanchez. A.2007. pp 138-147.

Bohm, H.A., Friend, D.R., 1990. Microencapsulated insecticidal pathogens. US Patent Number: 4948,586. Cho, C.F., Lee, W.C., 1999. Formulation of a biocontrol agent by entrapping biomass of *Trichoderma viride* in gluten matrix. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 87, 822–824.

Boucias, D. G. et Pendland, IC. 1991. Attachment of mycopathogens to cuticule: The initial event of mycosis in anthropod host. In: *The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals*. G. T. Cole and H. C. Hoch (eds.), Plenum, New York, 10) -128.

Bouizgarne B., El-Maarouf-Bouteau H., Madiona K., Biligui B., Monestiez M., Pennarun A.M., Amiar Z., Rona J.P., Ouhdouch Y., El Hadrami I., Bouteau F. (2006) A putative role for fusaric acid in biocontrol of the parasitic angiosperm *Orobanche ramosa*. *Mol.Plant Microbe. Interact.* 19, 550-556.

Camporta P. 1985. Antagonisme in vitro de *Trichoderma* spp. Vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Agronomie*, 1985, 5 (7), 613-620.

Caron ,2002. Phytopathologiste Horti-Protection inc. conférence présentée lors des journées horticoles régionales à St-Rémi. Champignons phytopathogènes du sol. *Bull. Soc.Pharm.* 144: 211-224.

REFERERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

Chadefaud M. and Emberger L 1960. Les végétaux vasculaires. In: Traité de Botanique, Vol. 2, Masson, Paris, France, pp. 1-1450.

Charmillot P.J., Pasquier D., Höhn H., 1996. La pyrale de la vigne. Agroscope RAC et FAW Wädenswil.

Cherif, M et Benhamou, 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of *Trichoderma* spp on *Fusarium oxysporum* f.sp radicleslycoersici. *phytopathology* 80:1406-1414.

Chet , L, 1987. *Trichoderma*-application, mode of action, and as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi, p.147-160. In I. Chet (ed), *Innovativz approaches to plants disease control*. John Willey & sons, New York.

Chiarappa L., 1959. Wood decay of the grapevine and its relationship with black measles disease. *Phytopathology*, 49: 510-519.

Christophe Schneider, INRA, Colmar 2000 photo

Constant N., 2010. Vigne, rester bio face à la flavescence dorée. *PHYTOMA – La Défense des Végétaux* N° 632 mars 2010. pp 26-30.

Cook, R.J. et Baker K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plants pathogens. - St Paul, MN: APS Press, 539 p.

Cortesi P, Milgroom MG, 2001. Outcrossing and diversity of vegetative compatibility types in populations of *Eutypa lata* from grapevines. *Australasian Plant Pathology* 83: 79-86.

Daami-Remadi M., El Mahjoub M., 2001. Lutte biologique contre la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre par *Trichoderma harzianum*. *Ann. l'INRAT* 74, p. 167–186.

Dennis C. & Webster J., 1971. Antagonistic proprieties of species-groups of *Trichoderma*, II. Production of volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological society* 57(1): 41-48.

Dubos B., 2002. Maladies cryptogamiques de la vigne. Feret Bordeaux. 2 eme Ed. p179

Elad Y., Chet I., Henis Y., 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Can. J. Microbiol.* **28**, p. 719–725.

Elad, Y., Chet, I. and Henis, Y.1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Canadien Journal of Microbiology* 28:719-725.

Elmer Snyder. 1939. [Grape Progenies of Self-Pollinated Vinifera Varieties.](#)

Emmert E.A.B. & Handelsman J. (1999) Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiol Lett.* 171 : 1- 9.

Fernandes, B. 2005. Lutte biologique. *PHM- Revue horticole*, 465, pp.31-34.

Ferron, P., Fargues, J. et Riba, G. 1991. Les champignons agents de lutte microbiologique contre les ravageurs. In *Handbook of applied mycology*, 2: 237-270

Ferron, P., J. Fargues et G. Riba. 1993. Les champignons agents de lutte microbiologique contre les ravageurs. In: *La lutte biologique*. A. Fraval (ed.). Dossier de la Cellule environnement de l'INRA 5: 65-93.

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

Fuchs PA, Evans MG & Murrow BW., 1990. Calcium currents in hair cells isolated from the cochlea of the chick. *J Physiol* 429, 553-568.

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.

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

Gary C, Brisson N, Gaudillere JP, Duarte M, 2003. Modélisation d'une espèce ligneuse pérenne à fruits charnus: la Vigne. Séminaire STICS, Arles: 36-37

Ghisalbert, E.L. and K. Sivasithamparam. 1991. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* .

Guillaumin, J.J, Chillali M., Ighili-Idder H., Mohammed C., Escarmant B.L. and Botton, 1998. Variation in the ITS and IGS regions of ribosomal DNA among the biological species of European *Armillaria*. *Mycol. Res.*, 10(2): 533-540.

Haas D. and Defago G., 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3(4):307-319.

Hellman E.W. (2003) Grapevine structure and function. In: *Oregon Viticulture* (Hellman E.W., ed), Corvallis: Oregon State University Press, United Stes of America, pp. 5-19.

Hermosa, R. Viterbo, A., Chet, I. and Monte, E., 2012. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*,158, 17–25.

Hmouni, A., M. Massoui et A. Douira. 1999. Étude de l'activité antagoniste de *Trichoderma* spp. et de *Gliocladium* spp. à l'égard de *Botrytis cinerea*, agent causal de la pourriture grise de la tomate. *Al Awamia* 100 : 75-92.

Huglin P, Schneider C, 1998. *Biologie et écologie de la Vigne: Tec & doc, Paris*

Iorrain B, ky i, Pasquier G, Jourdes M, Dubrana I, geny I, rey p, Donèche B, Teissedre pl (2012). Effect of esca disease on the phenolic and sensory attributes of cabernet sauvignon grapes, musts and wines. *aust j grape win*

JonsthoA ; et Booth C., 1983. *Plant pathologist's pocket book. 2nded.* Commenweath Mycological Institute fungi. *New phytol*140 :295-310.

Kubiceck, C. P., Mach, R. L., Peterbauer, C.K. and Lorito, M. *Trichoderma* from genes to bioncontrol. *Journal of Plant pathology* 83:11-23.

Larignon P. and Dubos B., 1997. Fungi associated with esca disease in grapevine. *European Journal of Plant Pathology* 103: 147–157.

- Larignon P., 1991.** Contribution à l'identification et au mode d'action des champignons associés au syndrome de l'esca de la vigne. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux II, 238.
- Larignon P., 2004.** Réflexions sur l'esca. Ce qu'on l'on sait déjà montre qu'il en reste beaucoup à apprendre. *Phytoma*. 576 : 28–31.
- Larignon P., 2012.** Maladies cryptogamiques du bois de la vigne : symptomatologie et agentsPathogènes. <http://www.vignevin.com>.
- Larkin RP., Fravel DR., 1999.** Mechanisms of action and Dose-Response relationships governing biological control of *Fusarium* wilt of Tomato by non-pathogenic *Fusarium* spp. *Phytopathology* 89, p. 1152–1161.
- 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. *Phytopathologia Mediterranea* 48: 32–46.
- Lecomte, P. Péros, JP.Blancard, D. Bastien, N. Délyé, C. 2000.** PCR assays that identify the grapevine dieback fungus *Eutypa lata*. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 4475-4480.
- Lehr N.A., Schrey S.D., Hampp R., Tarkka M.T.,2008.** Root inoculation with a forest soil streptomycete leads to locally and systemically increased resistance against phytopathogens in Norway spruce. *New Phytol.* Doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02322.x. Il poorly understood. *Plant Pathol* 62: 243-265.
- Letousey, P., F. Baillieul, G. Perrot, F. Rabenoelina, M. Boulay, N. Vaillant-Gaveau, C. Clement, Et Al. 2010.** Early events prior to visual symptoms in the apoplectic form of grapevine esca disease. *Phytopathology* 100: 424–431.
- 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.
- Lugtenberg, B. and F. Kamlikova. 2009.** Plant growth promoting rhizobacteria. *Annual Review Microbiol.* 63:541-546.

REFERERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

- M.A.D.R.2010.** Direction des statistiques agricoles et des systèmes d'information. *Ministère de l'agriculture*. Série B.
- Magalhaes, B.P., Butt T.M., Humber, RA, Shields, E.J. et Roberts, D.W. 1989.** Formation of appressoria in vitro by the entomopathogenic fungus *Zoophthora radicans* (Zygomycetes: entomophthorales). 1. Inv. Pathol. 55: 284-288.
- Mao W., Lewis, A., Lumsden R.D., and Hebbar K.P., 1998.** Biocontrol of selected soilborne diseases of tomato and pepper plants. Crop Prot. 17: 535-542. Medicalglossary.org/fungi_mitosporic_fungi_definitions.html.
- Mao, W. Lewis, J.A. Hebbar, P.K. Lumsden, R.D. 1997.** Seed treatment with a fungal or a bacterial antagonist for reducing cornamping-off caused by species of *Pythium* and *Fusarium*. -Plant Dis, 81(5), 450-454. <http://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS.1997.81.5.450>
- Marsais P., 1923.** L'Esca. Revue Vitic 59:8–14
- Menzies J G., 1993.** A strain of *Trichoderma viride* pathogenic to germinating seedling of cucumber, pepper and tomato. Plant pathol.42:784-791.
- 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
- Mouria, A., A. Ouazzani-Touhami, A. Mlaiki, M. El Yachioui et A. Douira. 1997b.** Lutte biologique contre *Helminthosporium oryzae* : Antagonisme in vivo des *Trichoderma* spp. vis-à-vis de l'*H. oryzae*. Troisième congrès de l'Association Marocaine de Protection des Plantes, Rabat, 23-24 déc. P. 113-116. Nemeč, S., L. Datnoff et J. Strandberg.
- 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.
- Mullins M.G., Bouquet A. and Williams L.E. (1992).**Biology of the grapevine. In: MullinsM.G., ed, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, pp. 1-239.
- Pacottet-Brin P, Folletage., 1899.** Rev. de Vit. 11 672–673.

Papavias G. C. 1985. Trichoderma and Gliosladium : Biology, ecology, and potential for bioncontrol. Annu. Rev. Phytopatholl.23:23-54.

Pascoe I.G. and Cottral E., 2000. Development of grapevine trunk diseases research inAustralia. Phytopathol. Mediterr. 39: 68–75.

Paulitz T.C. and Bélanger R.R. (2001) Biological control in greenhouse systems. Annu.Rev. Phytopathol. 39:103-133.

Péros J.P., and Berger G., 1994. A rapid method to assess the aggresiveness of Eutypa lata isolates and the susceptibility of grapevine cultivars to Eutypa dieback. Agronomie, 14: 515-523.

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., Alves A., Correia A. and Luque J., 2005. Two new species of Botryosphaeria with brown, 1-septate ascospores and Dothiorella anamorphs. Mycologia 97:513–529.

Phillips A.J.L., Crous P.W. and Alves A., 2007. Diplodia seriata, the anamorph of “Botryosphaeria” obtusa. Fungal Diversity 25: 141–155.

Planchon J.E. 1887. Monographie des Ampélideae vraies. Monographia Phanerogamerum 5: 305-364.

Prévost K., Couture G., Shipley B., Brzezinski R., Beaulieu C.,2006. Effect of chitosan

Rahman M.S., Ano T. and Shoda M., 2007. Biofilm fermentation of iturin A by a recombinant strain of Bacillus subtilis 168. J. Biotechnol. 127(3):503-507.

Ravaz L., 1898. Sur le folletage. Rev. De Vit., 10 : 184-186.

Reyes M.E.Q., Rohrbach K.G. and Paull R.E., 2004. Microbial antagonists control postharvest black rot of pineapple fruit. Postharvest Biol. Technol. 33(2):193-203.

Reynier A., 2003. Manuel de viticulture. Edition J.B.Baillière. Paris. 9ème.Ed. 558p

Reynier A., 2006. Manuel de viticulture. Edition TEC & DOC. Paris. 10^{ème} Ed. 527p

Rolshausen PE, Mahoney NE, Molyneux RJ, Gubler WD. 2006. A re-assessment of the species concept in *Eutypa lata*, the causal agent of Eutypa dieback of grapevine. *Phytopathology* 96:369–377.

Roumpf ;2015. Stades phénologiques, cycles végétatif et reproducteur de la vigne

Rumbos I. and Rumbou A., 2001. Fungi associated with esca and young grapevine decline in Greece. *Phytopath. Médit.* 40, Supplement, 330-335.

Simon A, Sivasithamparam K., 1989. Pathogen suspension : a case study in biological suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. TRITICI IN SOIL. *Soil Biolbiochem* 21:331-337.

Singh A., Mehta S., Singh H.B. & Nautiyal C.S., 2003. Biocontrol of Collar Rot Disease of Betelvine (*Piper betle* L.) Caused by *Sclerotium rolfsii* by Using Rhizosphere-Competent *Pseudomonas fluorescens* NBRI-N6 and *P. fluorescens* NBRI-N. *Cur. Microbiol.* 47: 153-158.

Sivan A., Ucko O., Chet I., 1987. Biological control of *Fusarium* crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions. *Plant Dis.* 71, p. 587–592.

Sofia J., Gonçalves M.T. and Oliveira H. 2006: Spatial distribution of esca symptomatic plants in Dão vineyards (Centre Portugal) and isolation of associated fungi. *Phytopathol. Mediterr.* 45, S87–S9

Spadaro D. & Gullino M. L. (2004) Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens. *Crop Prot.* 23: 1-13.

St. Leger, R.J., Butt, T.M., Staples, R. et Roberts, D.W., 1989. Production in vitro of a cuticle-degrading protease by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Exp. Mycol.* 13: 253-262

Trouillas, F. P., and Gubler, W. D. 2010. Pathogenicity of Diatrypaceae species in grapevines in California. *Plant Dis.* 94:867-872. (Marès, 1865)

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

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.

Valdebenito M., Crumbliss A.L., Winkelmann G. and Hantke K. (2006) Environmental factors influence the production of enterobactin, salmochelin, aerobactin and yersiniabactin in *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *Int. J. Med. Microbiol.* 296(8):513-520.

Vey, A.J., Fargues, J. et Robert, P., 1982. Histological and ultrastructural studies of factors determining the specificity of pathotypes of the fungus *Metarhizium anisopliae* for scarabeid larvae. *Entomophaga* 27: 387-397

Viala P., 1926. Recherche sur les maladies de la vigne: esca. *Annales des Epiphyties* 12 : 1 108.

Vining, L.C. 1990. Fonctions of secondary metabolites. *Annu. Rev. Microbiol.*,

Walter B., Elisabeth B.P., Ride M., 2000. Maladies à virus, bactéries et phytoplasmes de la vigne. Ed.Ferret.

Wang S.L., Chang W.T. et al, 2002, purification and caractérisation of an antimicrobial chitinase extracelluluary produces by monoscus purpueus CCR31499 in a shimp and carb shell powder medium.*J.Aric.Food.chem* ; 50 :2249-2255

Weber E.A., Trouillas F.P., and Gubler W.D., 2007. Double Pruning of Grapevines: A Cultural Practice to Reduce Infections by *Eutypa lata*, *Am. J. Enol. Vitic.* 58(1).

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

Yedidia I, Benhamou N, Chet I 1999.Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl Environ Microbiol* 65 1061–1070[[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]

INTRODUCTION

Partie 1 : Synthèse bibliographique

Partie 2 : Matériels et méthodes

Partie 3 : Résultats et Interprétation

Discussion générale

Conclusion

Référence bibliographiques