

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEURE ET DE LA**  
**RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ DE SAAD DAHLEB - BLIDA 1**

**FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**DÉPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE**



**Projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master 2 en sciences de la nature et de la vie**

**Spécialité : Phytopharmacie appliquée**

**Thème**

**Evaluation des différents stress biotique sur le comportement de la vigne**

**Présenté par :**

**Me Benarbia Ibtissem Khadidja**

**M<sup>elle</sup> Meziani Nadjat**

**Devant le jury composé de :**

<b>Mme NEBIH D.</b>	<b>MCB</b>	<b>U.S.D.B.1</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mme AMMAD F.</b>	<b>MCB</b>	<b>U.S.D.B.1</b>	<b>Promotrice</b>
<b>Mr. DJAZOULI Z.E.</b>	<b>Pr</b>	<b>U.S.D.B.1</b>	<b>Co-promoteur</b>
<b>Mme BENSAID F.</b>	<b>MCA</b>	<b>U.S.D.B.1</b>	<b>Examinatrice</b>

*Année Universitaire 2016 - 2017.*

## **Remerciements**

*Quand on croit que le travail (physique et de réflexion) que représente la thèse est fini on se heurte à un nouveau défi, qui se révèle parfois plus difficile que la thèse elle-même : écrire des remerciements, sans oublier personne. Donc, si par hasard j'oublie quelqu'un c'est juste un problème de fatigue et en aucun cas volontaire.*

*Au terme de ce travail réalisé, mes profonds et sincères remerciements vont avant tout au bon DIEU de m'avoir donné la force et la patience pour mener à terme mon travail.*

*Je voudrais remercier Mme Ammad F, directrice de ce mémoire, pour m'avoir guidée dans ce travail et d'avoir été toujours présente pour discuter et réfléchir avec moi autour de ce sujets et bien d'autres encore. Je la remercie aussi pour sa précieuse aide et pour ses critiques constructives. Aussi Mr Djazouli Z le co-directeur de ce mémoire.*

*Je tiens à remercier tous les membres du jury de thèse : en premier lieu Mme NEBIH D et Mme BENSAID F qui ont fait le dur travail de rapporteurs, merci pour votre disponibilité et pour vos corrections, critiques et conseils qui m'ont beaucoup aidé à améliorer le manuscrit ainsi que la présentation orale de la thèse.*

*Je remercie infiniment Melle Fadil D, ingénieur de laboratoire de phytopathologie et Melle Djemai A, ingénieur de laboratoire de zoologie.*

*Je remercie Mr Boutoumi H, département de chimie organique pour son aide à la réalisation des extractions et aussi pour son soutien moral.*

*A Mr.Othmane propriétaire de la pépinière de production viticole à Larabaa (Blida) et à tout le personnel, qui ont rendu possible la réalisation de mon travail.*

*J'exprime aussi ma gratitude à tous les enseignants qui ont intervenu au cours de toute de notre formation.*

*Je remercie également tous mes camarades avec qui nous avons passé d'agréables moments à discuter, plaisanter et surtout à travailler.*

*Enfin ma reconnaissance va à tous ceux qui m'ont rendu service et qui m'ont aidée d'une façon ou d'une autre tout au long de notre projet.*

***Dédicace :***

- *Je dédie ce modeste travail:*
- *A la mémoire de mon grand père paternel que DIEU lui âme dans son vaste paradis.*
- *A ma grand mère paternel, et mes grand parents maternels que DIEU me les gardent.*
- *A mes chers parents et mes frères Aymen Abdelrahmen et Zakaria El amine.*
- *A mon mari Mohamed Amine, à mon petit fils et à ma belle famille.*
- *A tous mes proches, mes amis, et a mon binôme Nadjet et toute la famille Meziani.*

***Dédicace :***

- *Je dédie ce modeste travail à :*
- *A mes parents, Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me combler, Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.*
- *A mes sœurs wissem, yousra et mon petit frère khiereddine.*
- *A toute ma famille, et mes amis, A mon binôme ibtissem khadidja et toute la famille Ben arbia.*
- *Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

## Evaluation des différents stress biotiques sur le comportement de vigne

Les maladies du bois sont très dommageables sur la culture de la vigne à travers le monde. Parmi les principales maladies impliquées dans le dépérissement le Black Dead Arm(BDA) de cette culture, considéré comme un pathosystème complexe nécessitant la mise au point de solution alternative s'appuyant sur le rôle des biofertilisants comme éliciteurs naturels dans la stimulation de la défense naturelle des plantes .

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence, l'effet biostimulant et biofertilisant (un jus de lombricompost) *vis-à-vis* un pathogène fongique, *Botryosphaeria dothidea* agent de dépérissement des cultures pérennes et sur la phtyostimulation.

Les résultats de cette étude ont montré que l'infection des boutures de vigne *in situ* par l'agent pathogène a permis l'apparition des lésions au bout de 6 semaines, les lésions les plus importantes ont été enregistrées sur la variété cardinal suivi par le redglobe, alors que des faibles lésions ont été notées sur le SO4 et 41B. Une réduction remarquable des nécroses causées par *Botryosphaeria dothidea* sur les boutures de la variété Red globe mise dans le jus de lombricompost suivi par cardinal et les deux portes geffe. Pour le cas des témoins, une fermeture totale des blessures a été enregistrées sur les boutures blessées non infectées et mises dans le jus de lombricompost.

Le test de stimulation de la croissance des boutures de vignes traitées par le lombricompost a montré un développement très clair des systèmes racinaires surtout chez le Red globe et chez les témoins misés dans le jus de lombricompost en comparaison avec celles infectées.

L'aspect qualitatif des boutures a montré une variabilité dans les teneurs des polyphénols et des flavonoïdes qui semblent dépendre de la nature de stress menée sur les boutures de vigne.

**Mots clés :** Défense naturelle, Dépérissement, *Botryosphaeria dothidea*, *Lombricompost*, et vigne.

## **Evaluation of different biotic stresses on vine behavior**

The diseases of the wood are very damaging on the culture of the vine throughout the world. Among the major diseases involved in the Black Dead Arm (BDA) dieback of this crop, considered as a complex pathosystem requiring the development of alternative solution based on the role of biofertilisnts as natural elicitors in stimulating natural defense Plant.

The aim of this study is to demonstrate the effect and potential of a biofertilisnt (a vermicompost juice) against a fungal pathogen, *Botryosphaeria dothidea*, a perennial crop wasting agent and phyostimulation.

The results of this study showed that the infection of vine cuttings in situ by the pathogen allowed the lesions to appear after a few times, the most important lesions were recorded on the cardinal variety followed by redglobe, while weak lesions were noted on the transplant port. A remarkable reduction in the necrosis caused by *Botryosphaeria dothidea* on the cuttings of the Red globe variety put into the vermicompost juice followed by the second and the two doors geffe, for the case of the witnesses, a total closure of the wounds was recorded on the uninfected wounded cuttings and bet in vermicompost juice.

The test to stimulate the growth of vine cuttings treated by the vermicompost showed a very clear development of the root systems, especially in the Red globe and in the controls put in the vermicompost juice in comparison with those infected.

The qualitative aspect of the cuttings showed a variability in the levels of polyphenols and flavonoids which seem to depend on the nature of stress leading to grape cuttings.

**Key words:** Natural defense, Dewatering, *Botryosphaeria dothidae*, Lombricompost, and vine.

## تقييم الإجهادات الحيوية المختلفة على سلوك العنب

الأمراض الخشبية مضرّة جداً على نبات العنب عبر العالم من بين الأمراض الرئيسية المشاركة في الموت الذراع الميت الأسود الذي يعتبر نظاماً معقداً مما يتطلب تطوير حلول بديلة استناداً إلى دور الأسمدة الحيوية كمؤشرات طبيعية في تحفيز الدفاع الطبيعي للنباتات.

والهدف من هذه الدراسة هو تسليط الضوء، على التأثير وإمكانية التسميد الحيوي ضد العامل الممرض الفطري *Botryosphaeria dothidea* وهو عامل إهدار المحاصيل المعمرة وعلى التحفيز النباتي .

و أظهرت نتائج هذه الدراسة ان عدوى قصاصات العنب في الموقع من قبل العامل الممرض سمح ببداية ظهور نخر أولاً في red globe تليها cardinal بعد بعض الوقت، و قد سجلت أيضاً نخرات ضعيفة على SO4 و 41B. و قد سجل انخفاض ملحوظ في red globe و هذا بعد النخر الناجم عن *Botryosphaeria dotidae* و الوضع في عصير lombricomposte تليها cardinal ثم SO4 و 41B .

اما حاملات الجذر المستعملة كشاهد لوحظ انغلاق تام على مستوى الجرح و التي كانت موضوعة في عصير lombricomposte .

اختبار تحفيز النمو لعينات من العنب المعالجة ب lombricompost أظهرت تطور واضح في النظام الجذري خاصة عند Redglob و عند الشواهد المغمورة في lombricompost مقارنة مع المصابة.

الجانب النوعي للعينات أظهرت اختلاف علي مستوى polyphénols و flavonoïdes التي تعتمد على طبيعة التوتر على عينات العنب

### الكلمات المفتاحية :

الدفاع الطبيعي، الموت، *Botryosphaeria dothidea*, *Lombricompost* و العنب

## Liste d'abréviations

<b>AOC</b>	Appellation d'origine contrôlée.
<b>ArMV</b>	Arabic mosaic virus.
<b>BDA</b>	Black Dead Arm.
<b>FNRDA</b>	Fond National de régulation et développement agricole
<b>GFLV</b>	Grapevine fan leaf virus.
<b>G.L.M</b>	Le modèle linéaire général.
<b>IFV</b>	Institut français de la vigne et de vin.
<b>INRA</b>	Institut national de la recherche agronomique.
<b>ITS</b>	Internal Transcribed spacer.
<b>L.A.R</b>	Résistance locale acquise.
<b>LPS</b>	Lipopolysaccharides
<b>LR</b>	Llongueur de système racinaire.
<b>MF</b>	Matière fraîche.
<b>Mqx</b>	Millions de quintaux.
<b>MS</b>	Matière sèche.
<b>OIV</b>	Organisation internationale de la vigne et du vin.
<b>PDA</b>	Potato dextrose agar.
<b>SAR</b>	Résistance systémique acquise.
<b>SAU</b>	Superficie agricole utile.
<b>SDN</b>	Stimulateurs de défenses naturelles
<b>UMR</b>	Unité mixte de recherche.



## Liste des figures

Figure 1	Des taches de mildiou sur une feuille de vigne.....	4
Figure 2	Oïdium de la vigne, symptômes sur feuilles.....	5
Figure 3	Dédoublément des rameaux et des vrilles dû au court noué.....	6
Figure 4	Pyrale de la vigne.....	6
Figure 5	Cochenille farineuse de vigne.....	7
Figure 6	Symptômes foliaires du black dead arm sur Merlot.....	8
Figure 7	Boutures de vignes utilisées dans notre expérimentation.....	16
Figure 8	Culture de <i>Botryosphaeria dotidea</i> agée de 5jour.....	17
Figure 9	Schéma récapitulatif des traitements appliqués.....	18
Figure 10	des boutures après inoculation enveloppées avec du coton.....	19
Figure 11	les tubes à essais après le dosage des flavonoïdes.....	21
Figure 12	Les nécroses présentées sur les boutures de vigne la variété Cradinal..	24
Figure 13	Les nécroses présentées sur les boutures de vigne variété Red globe ...	25
Figure 14	Les nécroses présentées sur le porte greffe (SO4).....	25
Figure 15	Les longueurs des lésions provoquées sur les boutures traitées de deux variétés (a), agent fongique (b) et (c) temps.....	27
Figure 16	Test post Hoc Pour le facteur variété.....	28
Figure 17	Test post Hoc Pour le facteur temps.....	28
Figure 18	Test post Hoc Pour le facteur traitement.....	28
Figure 19	Une bouture témoin de RG.....	29
Figure 20	la partie racinaire chez deux boutures témoin de vigne.....	30
Figure 21	Les longueurs des tiges après traitement.....	32
Figure 22	Test post Hoc :(a) facteur variété, (b) traitement et(c) temps.....	33
Figure 23	Les longueurs des racines des boutures traitées .....	34
Figure 24	Test post Hoc :(a) facteur variété, (b) traitement et(c) temps.....	35
Figure 25	Teneur en polyphenols totaux des différents traitements.....	36
Figure 26	Teneur en flavonoïdes des différents traitements.....	37

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b>	<b>Caractéristiques de l'isolat fongique.....</b>	<b>16</b>
<b>Tableau 2</b>	<b>Longueur des nécroses sur des boutures de vigne après 6 semaines d'incubation.....</b>	<b>26</b>
<b>Tableau 3</b>	<b>La longueur des tiges et racines par rapport aux traitements et aux variétés.....</b>	<b>31</b>

## Table de matières

<b>Introduction Générale.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre 1 : Revue bibliographique.....</b>	<b>3</b>
<b>1. Présentation de la plante hôte .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Systématique de la vigne .....</b>	<b>3</b>
<b>3. Importance économique de la filière viticole.....</b>	<b>3</b>
1.1 Dans le monde.....	3
1.2 En Algérie .....	3
<b>I. Maladies et ravageurs de la vigne.....</b>	<b>4</b>
I.1 Maladies fongiques.....	4
I.2 Viroses .....	5
I.3 Les insectes .....	6
<b>II. Les maladies du bois de la vigne.....</b>	<b>7</b>
II.1 Le Black Dead Arm.....	8
II.2 Botryosphaeria .....	10
<b>III Méthodes de lutte .....</b>	<b>11</b>
<b>IV Interaction plante – pathogène .....</b>	<b>11</b>
<b>V Mécanismes de défenses de la Vigne .....</b>	<b>12</b>
<b>VII Les biofertilisants .....</b>	<b>13</b>
<b>VI Lombriculture, principe et importance .....</b>	<b>13</b>
<b>Chapitre 2 : Matériel et méthodes.....</b>	<b>15</b>
<b>1 Objectif de notre étude.....</b>	<b>15</b>
<b>2 Matériels utilisés.....</b>	<b>15</b>
2.1 Matériel végétal .....	15

2.2	Matériel biologique .....	16
		17
<b>3</b>	<b>Méthodes</b> .....	17
3.1	Purification des champignons .....	17
3.2	Les traitements appliqués <i>in Situ</i> .....	19
<b>4</b>	<b>Dispositif expérimental</b> .....	20
<b>5</b>	<b>Paramètres agronomiques</b> .....	20
5.1	Longueur de partie aérienne (H) .....	20
5.2	Longueur du système racinaire (LR) .....	20
<b>6</b>	<b>Extraction et dosage</b> .....	20
6.1	Extractions des poly phénols totaux .....	20
6.2	Dosage des poly phénols totaux .....	20
6.3	Dosage des flavonoïdes .....	21
<b>7</b>	<b>Analyse statistique</b> .....	21
	<b>Chapitre 3 : Résultats et discussion</b> .....	23
	<b>Descriptif symptomatologique</b> .....	23
1.1.	Inoculation indépendante.....	23
1.2	Co- inoculation .....	24
1.3	Variation de la taille des lésions sur les boutures de vigne en fonction du temps.....	27
<b>2</b>	<b>Evaluation de la phytostimulation</b> .....	29
2.1	Les paramètres agronomiques .....	29
<b>3</b>	<b>Etude comparative de variété et traitement avec modèle général linéaire (G.L.M.)</b> .....	32
<b>4</b>	<b>Les tests biochimiques</b> .....	35
4.1	Extraction et dosage des polyphenols totaux.....	35
4.2	Extraction et dosage des Flavonoïdes .....	36
<b>Discussion</b>	.....	36
<b>Conclusion et perspective</b>	.....	39
<b>Références bibliographiques</b>	.....	41

# **Introduction**

### Introduction

La vigne n'est pas indispensable à la vie de l'homme, mais dans l'antiquité sa mise en culture a été considérée dans tout le bassin Méditerranéen comme un avancement dans la civilisation (**Galet, 1995**). L'homme se nourrit de ses fruits, avant même d'entreprendre sa transformation, ses baies juteuses et sucrées lui sont apparus comme un complément indispensable à son alimentation, par leurs vertus rafraîchissantes, énergétiques et diurétiques (**Crespy, 2009**).

Les conditions pédoclimatiques de l'Algérie sont très favorables au développement et à l'extension de cette culture; d'ailleurs plusieurs régions à vocation viticole, connues à travers le pays, ont été encouragées ces dernières années à travers le programme de soutien (FNRDA : Fond National de régulation et développement agricole) qui a démarré à partir de la campagne agricole 2000/2001. Les maladies du bois sont considérées comme très dommageables pour la pérennité du patrimoine viticole. Les parasites responsables de ces maladies provoquent à plus ou moins long terme la mort du cep et peuvent nécessiter un renouvellement des plants pouvant atteindre plus de 10% d'un vignoble (**Grosman, 2008**).

De nombreuses études ont relaté l'action de ces maladies sur le dépérissement des vignobles, les champignons lignivores, tels que *Phomopsis viticola* (Sacc.) (agent causal de l'excoriose de la vigne), *Eutypa lata* (agent causal de l'eutypiose), les agents du complexe de l'esca, *Fomitiporia punctata*, *Fomitiporia mediterranea*, *Phaeoacremonium aleophilum* et *Phaeomoniella chlamydospora*, et le genre de *Botryosphaeria* (agent causal du BDA.) sont responsables des altérations du bois et les symptômes peuvent affecter la totalité du cep (les feuilles, les bourgeons, les rameaux, etc...). Non seulement elles sont à l'origine de pertes de rendement et de qualité mais surtout elles causent une mortalité importante. L'impact économique des maladies du bois est donc réel pour les viticulteurs, or il n'existe pas de solution curative à proprement parler.

Le développement des différentes pathologies sur les plantes causées par des microorganismes ; tels que les champignons pathogènes lorsqu'ils « attaquent » une plante, cette dernière va déclencher une cascade de réactions de défense au sein de la cellule. Ces pathogènes sont capables d'infecter plusieurs organes ou tissus végétaux, et sont aussi à l'origine non seulement de perte de rendement, de qualité et surtout elles causent une mortalité importante (**Lambert, 2001**). Ces interactions dépendant d'un système de reconnaissance, un éliciteur qui est capable de déclencher une réponse de la plante, qui va synthétiser des métabolites lui permettant de se défendre (**Pajot, 2010**).

Dans le cadre de la recherche sur de nouveaux procédés en phytoprotection et en lutte biologique, une autre approche faisant appel à l'utilisation de molécules naturelles appelées bio fertilisations est envisageable.

Ce travail se situe dans ce contexte général et vise à favoriser une réduction des traitements fongicides par une bio fertilisation donnant ainsi à la plante les moyens de se défendre.

L'objectif de cette étude réside dans l'évaluation de l'efficacité d'un bioproduit (jus de lombricompost) : vis à vis une espèce fongique pathogène appartenant à la famille des Botryosphaeriaceae, pour cette raison nous avons essayé de répondre à la problématique suivante :

- Quel serait l'intérêt de la formulation des produits biologiques.
- Comment répondent les boutures de quelques variétés de la vigne à l'inoculation par *B.dothidea*.
- Quel serait l'effet de l'apport de ce biofertilisant sur ; La réduction des lésions provoquées et sur la phytostimulation ?
- Quel est l'aspect qualitatif des boutures de vigne sous stress en teneurs des polyphénols et des flavonoïdes?

# **CHAPITRE I : Revue bibliographique**



## **Chapitre I : Revue bibliographique.**

### **1. Présentation de la plante hôte**

La vigne (*Vitis vinifera*) fait partie de la famille des *Vitaceae*, sortes de lianes. Ce sont des arbrisseaux grimpants : les tiges, appelées sarments, peuvent atteindre dans la nature de très grandes longueurs et sont taillées en culture. Les feuilles à nervures palmées comportent cinq lobes principaux plus ou moins découpés, et sont en forme de cœur à la base. Les fruits sont appelés raisins. Il en existe des variétés différentes, appelées cépages. On trouve plus de 6000 cépages à travers le monde possédant chacune une morphologie et des raisins différents par leur goût, leur couleur et leur taille (**Anonyme, 2017a**).

### **2. Systématique de la vigne**

La vigne appartient à la famille des Vitacées ou Ampélidacées, ordre des Rhamnales. Les Ampélidacées comprennent 18 genres vivant surtout dans la zone intertropicale du globe, dont seul, le genre *Vitis* a une importance agronomique (**Huglin et Schneider, 1998**).

La Vigne effectue au cours de son développement deux cycles en concurrence trophique. Le cycle végétatif assure la pérennité du cep grâce au développement de l'appareil végétatif et le cycle reproducteur permet la formation des fleurs, puis des fruits (**Coombe et Dry, 1988**).

### **3. Importance économique de la filière viticole**

#### **3.1. Dans le monde**

La production mondiale de raisins frais se concentre en Asie avec 4,7 millions de quintaux, représentant ainsi le premier continent producteur avec 50% de la production mondiale. Il est suivi de l'Amérique avec 4,4 millions de quintaux, dont 3,8 millions de quintaux produits par les Etats-Unis. 23% proviennent de l'Europe. L'Afrique représente 11,5% de la production mondiale. En termes d'échanges commerciaux de produits vitivinicoles à l'international, il faut savoir que 23,3 millions de quintaux de raisins frais sont importés, dont 4,1 millions de quintaux par les Etats-Unis, faisant de ce pays le premier importateur de ce produit, suivi de l'Allemagne avec 3,0 millions de quintaux. La France et le Royaume-Uni importent 1,7 million chacun, le Canada 1,4 million et les Pays-Bas 1,2 million de quintaux. (**Amrani, 2009**).

#### **3.2. En Algérie**

La consommation actuelle de raisin en Algérie est estimée à 7 kg par an et par habitant. La volonté est d'atteindre un ratio de 12 à 15 kg par an et par habitant.

La superficie et la production de la vigne de table sont respectivement de 52 700 ha, dont 39 600 en rapport et de 3 100 000 quintaux (**Amrani, 2009**).

Pour la vigne de cuve, la superficie est estimée à 44 170 ha, pour une production de plus de 150 000 hl. La vigne à raisin sec est cultivée sur 124 ha seulement, dont 113 ha en rapport, et

produit 2 550 quintaux. La production de ce dernier satisfait une faible part des besoins locaux, majoritairement couverts par l'importation. (Amrani, 2009).

## I. Maladies et ravageurs de la vigne

### I.1. Maladies fongiques

#### I.1.1. Mildiou (*Plasmopara viticola*)

Il s'agit de la maladie la plus connue des viticulteurs en raison des dégâts très importants qu'elle peut entraîner sur tous les organes verts de la vigne (Perez, 2007) (Fig.1).

Le champignon *P.viticola* est un parasite obligatoire qui ne peut se développer que sur les tissus vivants (Carisse *et al.*, 2006).

Les attaques importantes entraînent un dessèchement partiel ou total de ces feuilles, voir leur chute prématurée et un mauvais aoûtement des sarments (Perez, 2007).



Figure 1 : Des taches de mildiou sur une feuille de vigne (Anonyme, 2000 b).

#### I.1.2. Oïdium (*Erysiphe necator*)

L'agent pathogène de l'oïdium est un champignon biotrophe obligatoire, qui établit une interaction au sein des cellules infectées afin de prélever les nutriments nécessaires à la croissance fongique (Schnee, 2009). Selon (Perez, 2007), c'est une maladie quasi-systématique très répandue. En effet, les dommages causés par ce champignon peuvent entraîner des pertes totales de la récolte chez les espèces sensibles dans les zones propices et dans les conditions climatiques favorables à son développement. Par de nombreux aspects, cette maladie est aussi sérieuse que le mildiou (Fig.2).



**Figure 2: Oïdium de la vigne, symptômes sur feuilles (Cartolaro, 2016).**

### **I.1.3. Pourriture grise (*Botrytis cinerea* Pers.)**

La pourriture grise est une maladie cryptogamique qui préoccupe l'ensemble des agriculteurs, car le champignon *B.cinerea* s'attaque à un grand nombre de plantes. Chez la vigne, il se manifeste sur des organes herbacés (feuilles, rameaux, inflorescences), sur les greffe- boutures en chambre chaude de stratification (maladie de la toile) et sur les grappes (Yobregat, 2010).

## **I.2 Viroses**

### **I.2.1. Court noué**

Il est répandu dans le monde entier, le virus du court noué est le plus important des virus de la vigne. Il se présente sous deux formes; ArMV et le GFLV qui appartiennent au genre Nepovirus, de la famille des Comoviridae qui font partie des supers groupes de virus Picornalike. Il peut infester aussi bien les porte-greffes que les cépages issus des espèces de *Vitis* d'Amérique du nord ou *V.vinifera* L. (Boudon-padieu, 2000) (Fig. 3)



**Figure 3: Dédoublage des rameaux et des vrilles dû au court noué (Anonyme, 2017c).**

### **I.3 Les insectes**

#### **I.3 .1 : Pyrale de la vigne (*Sparganothis pilleriana* Schiffermuller)**

C'est un papillon dont les chenilles se nourrissent des bourgeons et des feuilles de la vigne (Fig. 4). Cette tordeuse très anciennement connue, redoutée et très polyphage, est aujourd'hui d'importance ponctuelle (**Rodrigues, 2007**).

Les dégâts sont principalement dus à la déprédation des bourgeons terminaux. L'infestation est facilement détectable, puisque la plante connaît une croissance ralentie. Les jeunes rameaux sont rabougris, tordus et garnis des feuilles qui sont trouées, desséchées et rapprochées par des fils de soie. En outre, la plante perd en vitalité, parfois jusqu'à la mort à cause de la mobilisation répétée des réserves nécessaires au développement des bourgeons dormants (**Audouin, 1942 in Bartier, 2012**).



**Figure 4 : Pyrale de la vigne (Gourgazaud, 2016)**

### I.3.2 Cochenille farineuse (*Pseudococcus citri* Risso)

D'après (Toledo, 2007), la Cochenille farineuse est un insecte extrêmement prolifique, elle peut nuire à la vigne par des dégâts indirectes en transmettant des virus ou par le développement de la fumagine (Fig. 5).



Figure 5 : Cochenille farineuse de vigne (Groult, 2008).

## II. Les maladies du bois de la vigne

Les maladies vasculaires, aussi appelées maladies du flétrissement ou de dépérissement, correspondent à des atteintes du système des végétaux par des microorganismes (champignons et bactéries).

La vigne est sensible à plusieurs types de maladies vasculaires comme par exemple, la maladie d'Oléron, une nécrose bactérienne engendrée par *Xylophilus ampelinus* (Lambert, 2011). Néanmoins, les maladies vasculaires les plus préoccupantes aujourd'hui sont celles dites « maladies du bois ». Elles sont dues à un ou plusieurs champignons capables de se développer dans les vaisseaux du xylème. La dégradation des tissus ligneux et la production de certains composés par les agents pathogènes, causent des perturbations dans le métabolisme de la plante et l'apparition de symptômes foliaires (Dubos, 2002). La mort de la plante, à plus ou moins long terme, est inévitable.

Depuis la fin du 20<sup>ème</sup> siècle, plusieurs syndromes ont pris de l'ampleur dans les vignobles des cinq continents : l'eutypiose, la maladie de Pétri, le syndrome de l'Esca, le Black foot et diverses infections du bois liées à des Botryosphaeriaceae. Les maladies vasculaires de la vigne sont alors devenues une préoccupation majeure. La recherche s'est intensifiée autour de cette thématique : la création de l' « International Council of Grapevine Trunk Diseases » qui réunit tous les deux ans les spécialistes du domaine, en est la preuve (Lambert, 2011).

## II.1 Le Black Dead Arm

Le Black Dead Arm (BDA) est mentionné pour la première fois en 1974 par Lehoczky en Hongrie. Ce syndrome est seulement observé en France, depuis 1999, dans le vignoble bordelais (Larignon *et al.*, 2001).

Les agents pathogènes impliqués sont des ascomycètes de la famille des Botryosphaeriaceae comme *Diplodia seriata* anamorphe de *Botryosphaeria obtusa* (Schweinitz), *Diplodia mutila* et *Neofusicoccum parvum* (Larignon *et al.*, 2001 ; Kuntzmann *et al.*, 2010). Ils sont présents à la fois au niveau du bois de vignes symptomatiques et dans des plants de pépinières (Spagnolo *et al.*, 2011). Par des tests de pathogénicité, leur capacité à provoquer des symptômes dans le bois a été démontrée. D'autres syndromes de dépérissement sur vigne causés par les Botryosphaeriaceae sont décrits dans la littérature (Úrbez-Torres *et al.*, 2006). Il semble que ces différentes maladies pourraient être rapprochées (van Niekerk *et al.*, 2006). De nouvelles connaissances sur la phylogénie de ces agents pathogènes ont été apportées récemment (van Niekerk *et al.*, 2004 ; Pitt *et al.*, 2010). Ces champignons sont aussi impliqués dans le syndrome de l'esca (Mugnai *et al.*, 1999) et l'excoriose (Phillips 1998).

Les symptômes sont proches de ceux de l'esca et affectent la partie herbacée au printemps, vers la fin du mois de mai (Larignon *et al.*, 2001). Au niveau du bois, la bande brune est observable sous l'écorce correspondrait à une nécrose interne. Lorsqu'une forme sévère de la maladie s'exprime, les tiges meurent, les feuilles tombent précocement, les fleurs et les fruits sèchent. Dans le cas de la forme légère, des décolorations inter nervaires rouges, sans liseré jaune, chez les cépages noirs (fig. : 7) et jaune orangé chez les cépages blancs apparaissent sur les feuilles. C'est cette dernière caractéristique qui permettrait de distinguer esca et Black Dead Arm, bien que cela soit difficile sur cépage blanc. La similitude entre les deux types de symptômes laisse supposer qu'il s'agit de la même maladie (Lecomte *et al.*, 2006).



Figure 6 : Symptômes foliaires du black dead arm sur Merlot (Lambert, 2011).

## II.2 Botryosphaeria

Les *Botryosphaeria* spp représentent un groupe très divers de champignons ascomycètes capables d'affecter de nombreuses plantes ligneuses dont la vigne, les eucalyptus (Smith *et al.*, 1996) et les oliviers (Moral *et al.*, 2008), par exemple. Dans la revue de Slippers and

**Wingfield (2007)**, les auteurs montrent la diversité des espèces par leur affinité avec leur hôte, leur degré de pathogénie ou encore par leur comportement endophytique : certaines espèces sont capables de se développer dans la plante sans causer de dommage apparent. Sur vigne, il existe de nombreuses études associant ce groupe d'ascomycètes à des dépérissements.

Les *Botryosphaeria* spp. Produisent des composés phénoliques toxiques (**Djoukeng et al., 2009**) : la méléline, la (3R, 4R) cis-4-hydroxyméléline, (3R)-7-hydroxyméléline, et la (3R, 4R)-cis-4,7-dihydroxyméléline. **D'après Djoukeng et al., (2009)** la méléline, bien que produite également par des champignons du genre *Aspergillus* (**Cole and Kirskey, 1971; Sasaki et al., 1970**), peut donc être utilisée comme un marqueur de la présence des *Botryosphaeria* spp dans le cadre des maladies du bois.

### II.2.1 Symptômes

Comme pour l'esca, le BDA présente une forme lente caractérisée par l'apparition de tâches, rouge vineux sur les cépages noirs et jaune-orange sur les cépages blancs, en bordure et à l'intérieur des feuilles. A la fin, ne subsiste plus qu'une petite bande verte (entourée d'un liseré rouge vineux pour les cépages noirs) le long des nervures. De plus, un autre symptôme n'est visible qu'après écorçage du cep ; il s'agit d'une bande brune située en périphérie du tronc et large de plusieurs centimètres. Lors de la coupe transversale du tronc, une partie jaune orangée où les vaisseaux conducteurs sont obstrués ou une nécrose sectorielle brune à noire selon l'état d'avancement de la maladie, peuvent être observées. La forme sévère atteint la totalité du cep et provoque un dessèchement complet des feuilles qui tombent en commençant par la partie apicale du rameau. Les fruits des ceps atteints peuvent également être détruits (**Larignon et al., 2001**). Cette forme sévère conduit cependant rarement à la mort des ceps qui peuvent apparaître comme sains l'année suivante. Ces symptômes sont associés à la présence d'une bande brune tangentielle sous l'écorce qui peut atteindre la base du greffon. Cette bande brune peut parfois correspondre à une nécrose sectorielle dans le tronc ou le cordon en coupe transversale. Il a ensuite été isolé dans le vignoble californien (**Urbez-Torres et al., 2006a**), mexicain (**Urbez-Torres et al., 2006b**) et chilien (**Auger et al., 2004**).

Plus d'une centaine d'espèces de Botryosphaeriaceae sont répertoriées comme pathogènes sur *Vitis vinifera*, isolées de différents organes et pour nombre d'entre elles testées pour leur pouvoir pathogène (**Van Niekerk et al., 2006**). Aujourd'hui, les espèces de Botryosphaeriaceae sont très souvent désignées par le nom de leur forme anamorphe puisque les formes téléomorphes sont rares (**Denman et al., 2000, Crous et al., 2006**). Les espèces les plus répandues à travers le monde sont : *Diplodia seriata* (téléomorphe *Botryosphaeria obtusa* ; (**Shoemaker, 1964**), *Diplodia mutila* (téléomorphe *Botryosphaeria mutila* ; (**Shoemaker, 1964**), *Neofusicoccum parvum* (téléomorphe *Botryosphaeria parva* ; (**Pennycook and Samuels, 1985**), *Neofusicoccum australe* (téléomorphe *Botryosphaeria australis* ; (**Slippers et al., 2004**), *Neofusicoccum luteum* (téléomorphe *Botryosphaeria lutea* ; (**Phillips et al., 2002**), *Fusicoccum aesculi* (téléomorphe *Botryosphaeria dothidea* ; (**Corda, 1829**), *Lasiodiplodia theobromea* (téléomorphe *Botryosphaeria rhodina* ; (**Phillips, 2002**).

## II.2.2 Cycle biologique des Botryosphaeriaceae

Les Botryosphaeriaceae, associées à la Botryosphaeriose, sont des champignons plurivores. Ils se conservent sous forme de pycnides trouvés sur d'anciennes plaies de taille, sur le tronc, ou les sarments blanchis laissés au sol. La forme sexuée est rarement observée. Ils sont présents à la surface de différents organes de la vigne. La période de dissémination est variable selon les pays : automne (Chili), hiver (Afrique du sud, Californie, Chili). En France, elle a lieu toute l'année, mais plus particulièrement pendant la période végétative quand les températures moyennes sont supérieures à 9 – 10°C. Elle se réalise suite à des pluies ou par irrigation via des asperseurs. Il pénètre dans la plante par les plaies de taille ou encore par des blessures occasionnées lors des opérations en vert ou suite à des événements climatiques. Des tests de pathogénie réalisés dans le vignoble ont montré que la vigne est sensible lors de la période comprise entre la floraison et la véraison. Pour *Neofusicoccum parvum*, la sensibilité des plaies est élevée pour une taille précoce et faible pour une taille tardive ; les plaies fraîches sont plus sensibles. Pour *Diplodia seriata*, les plaies sont contaminées après la période des pleurs ; la durée de sensibilité est longue (au moins jusqu'à 4 mois). Il se propage par le matériel végétal. Des études sont actuellement réalisées pour connaître l'origine de la présence des Botryosphaeriaceae dans les tissus ligneux des sarments et de leur surface. Il a été constaté que les rameaux sont surtout colonisés à partir de la véraison (Colmar, 2015).

## II.2.3 Systématique

Les espèces de *Botryosphaeria* appartiennent à l'embranchement des Ascomycètes, à l'ordre des Botryosphaeriales et à la famille des Botryosphaeriaceae. Ces champignons sont très cosmopolites et polyphages. Ils ont été isolés de nombreuses plantes et peuvent provoquer un grand nombre de dépérissements (Slippers *et al.*, 2007).

## II.2.4 Conservation

Les *Botryosphaeria* spp. se conservent sous forme de pycnides localisées soit, sur le cep (troncs, bras, plaies de taille) soit, sur les bois de tailles laissés au sol.

## III Méthodes de lutte

Le problème majeur des maladies du bois de la vigne réside dans l'absence totale de traitement curatif, l'application des mesures prophylactiques est recommandée. De nombreux axes de recherche se poursuivent actuellement visant à la mise au point de traitements phytosanitaires efficaces: micro-organismes antagonistes naturels (Alfonzo *et al.*, 2009), composés antifongiques systémiques de synthèse (Auger *et al.*, 2010; Herche et Gubler, 2010) et des molécules naturelles possédant des propriétés fongicides ou stimulant les réactions



de défense des plantes comme le chitosane (Nascimento *et al.*, 2007), les polyphénols (Hattenschwiler et Vitousek, 2000) et l'acide salicylique (Amborabé *et al.*, 2002).

#### IV Interaction plante – pathogène

##### IV.1 Adaptation physiologique de la plante face à l'agression

En réponse à une agression par des pathogènes (ou suite à une blessure), la plante met généralement en place un mécanisme de défense complexe afin de limiter leur progression, qui consiste en une série de modifications anatomiques se traduisant par la formation de compartiments étanches qui isolent la zone atteinte. Quatre types de barrières dont les trois premières servent à restreindre la progression des microorganismes dans le bois présent au moment de la blessure (Shigo et Marx, 1977):

- La formation de la première barrière correspond au développement de thylles et à la sécrétion de substances gommeuses dans les vaisseaux du xylème. Ce premier obstacle est discontinu et constitue la plus faible des barrières limitant la propagation verticale des microorganismes.
- La deuxième barrière est attribuée aux caractères morphologiques des dernières cellules en fin de chaque anneau de croissance. Ce mur est continu sur toute la longueur de l'arbre et limite l'expansion parallèle aux rayons des microorganismes (expansion radiale).
- La troisième barrière implique les rayons parenchymateux, tissus vivants du bois, qui peuvent déclencher des réactions de défense de la plante. Il s'agit de la plus forte barrière des trois que nous avons déjà citées, mais elle peut être discontinue. Elle limite la progression des microorganismes perpendiculaire aux rayons (expansion tangentielle).
- La quatrième barrière, la plus forte et la plus importante, consiste en une zone de barrage formée par le cambium après la blessure. Cet obstacle isole le bois attaqué de celui qui sera formé par la suite et empêche la progression des champignons.

La formation de ces barrières nécessite beaucoup d'énergie à la plante. La multiplication des zones lésées entrave fortement le flux de sève et peut entraîner un affaiblissement généralisé de la plante, qui devient alors incapable de se défendre efficacement contre les champignons pathogènes.

#### V Mécanismes de défenses de la Vigne

Comme tous les pathosystèmes résultants des interactions entre les agents phytoparasites et leurs plantes hôtes, souvent les relations s'illustrent en deux types (Lepoivre, 2003).

##### V.1 La relation incompatible

Le mécanisme incompatible conduit à la résistance de la plante et donc à l'inhibition du développement de la maladie. S'il s'agit d'une incompatibilité fondamentale, on parle de résistance non spécifique ou résistance non hôte. Elle se traduit par une résistance entre tous les cultivars d'une espèce végétale donnée et tous les biotypes d'un agent pathogène. Si l'incompatibilité dépend des cultivars de l'espèce végétale et des différents pathosystèmes biotypes de l'agent pathogène, on parle de résistance spécifique ou résistance race/cultivar.

## V.2 La relation compatible

La relation compatible va conduire au développement de la maladie. L'agent pathogène réussit à envahir la plante hôte car elle est sensible. Ceci peut être la conséquence de la non-détection du pathogène, d'une déficience dans les mécanismes de défense passive de la plante ou de l'inefficacité des mécanismes de défense actifs.

La reconnaissance de l'agent pathogène ou de molécules élicitrices entraîne de nombreuses modifications des activités membranaires (flux ioniques) (Mehdy, 1994; Hammond- Kosack *et al.*, 1996; Lebrun-Garcia *et al.*, 1999; Romeis *et al.*, 2001).

La transduction du signal implique des processus de phosphorylation et déphosphorylation de protéines (Zhou *et al.*, 1995 et 1997; Bogdanove *et al.*, 2000). La production de formes actives d'oxygène (Lamb *et al.*, 1997; Wojtaszek, 1997; Bolwell, 1999; Gozzo, 2003) et la production de messagers secondaires tels que l'acide salicylique (AS), l'acide jasmonique (AJ) et l'éthylène (Pieterse *et al.*, 1999 ; Kunkel *et al.*, 2002; Gozzo *et al.*, 2003).

## V.3 Activation des gènes de défense

L'activation des mécanismes génétiques corrélés à la défense implique le renforcement des barrières mécaniques pariétales, la synthèse de phytoalexines, de protéines PR (*Pathogenesis Related proteins*). Une des réactions de défense les plus efficaces se manifeste par une mort cellulaire localisée au site de l'infection, connue sous le nom de réaction hypersensible (HR), permettant le confinement du pathogène (Pontier *et al.*, 1998; Heath, 2000). Au niveau des cellules entourant la lésion, se manifeste une résistance locale acquise (L.A.R.) (Dorey *et al.*, 1997). Cette réponse locale déclenche une résistance non spécifique à travers toute la plante, appelée résistance systémique acquise (SAR) qui protège la plante contre une large gamme de pathogènes (Ryals *et al.*, 1994; 1996; Hunt *et al.*, 1996; Shah, 2003).

## VII Les biofertilisants

Le développement d'une culture raisonnée dans le but d'une protection de l'environnement et l'essor de l'agriculture biologique. On accorde aujourd'hui une grande importance à la composante des éléments minéraux du feuillage, en raison de ses multiples effets potentiels sur la croissance et le développement de la culture. La littérature scientifique mentionne généralement une influence positive de la matière organique sur les propriétés physico-chimiques (structure, cohésion, perméabilité, rétention en eau, capacité d'échange cationique, teneurs en éléments fertilisants, ...) et la vie des ravageurs, (Morel, 1989 ; Chassod *et al.*, 1999 ; Thuries *et al.*, 2000).

Les extraits naturels des plantes sont utilisés dans les petites fermes de nombreux pays africains pour lutter contre les insectes ravageurs des grains, en raison des conditions économiques ne permettant pas l'utilisation de pesticides classiques (Niber, 1994). Durant ces dernières années, on assiste à une multiplication des travaux de recherche sur l'activité des produits

naturels dont la majorité se déroule en Afrique et en Asie, dans le but de valoriser les procédés de lutte traditionnels.

L'emploi des fertilisants s'adresse à des agro systèmes: climat, sol et population végétale concourent chacun pour sa part à l'obtention d'une production, dont l'élaboration proprement dite est le fait exclusif de la plante. En conséquence, pour être rationnelle, la fertilisation doit établir une offre concourante, avec les autres facteurs qui agissent sur la nutrition, à mettre le végétal en mesure de satisfaire la part de son besoin interne compatible avec les contraintes socio- économiques (rentabilité) (**Heller, 1969**).

On sait que les tissus végétaux se laissent pénétrer, dans certaines conditions, par de nombreux produits utilisés sous forme de pulvérisations, soit strictement nutritives, soit destinées à la protection phytosanitaire. (**Chamel et Gambonnet, 1980**). Ces produits sont donc susceptibles d'enrichir la plante dans le, ou les éléments contenus dans leur formule, et il semble bien que les répercussions à en attendre dans le métabolisme de celle-ci, ne soient pas sans relation avec sa sensibilité ou sa résistance à certaines affections parasitaires. Il en est de même d'ailleurs pour la fertilisation, ou l'association des deux (**Fravel, 2005**)

L'action d'extrait d'algues brunes marines formulé par la Société SAMABIOL (l'Isle sur la Sorgue, France) autant que stimulateur de la défense naturelle a été étudiée par (**Lizzi et al., 1998**). Ces extraits sont connus depuis longtemps et sont utilisés comme engrais pour leur richesse en minéraux et en molécules biologiques naturelles. Toutefois, leur capacité à se comporter comme des stimulateurs de défense naturelle (SDN), aux niveaux tellurique et foliaire, n'a jamais été démontrée.

## VI Lombriculture, principe et importance

La fertilité des sols dépend principalement de la quantité et de la qualité des matières organiques transformées par les organismes décomposeurs. L'efficacité de ces derniers peut être caractérisée par le taux de transformation de la matière organique, dépendant des facteurs du milieu tels que la température, l'humidité et de caractéristiques de la matière à décomposer (**champagnor, 1980**).

Les populations d'invertébrés, comme les vers de terre dans le sol, jouent un rôle primordial dans la transformation des matières organiques. En effet les lombrics interviennent dans la dynamique de la matière organique dans le sol ; ils transforment la matière organique instable, souvent d'origine végétale, en substances organiques stables appelées "humus" (**Rees et casfle, 2002**). Les vers de terre participent également à la libération d'éléments minéraux disponibles dès lors pour les plantes cultivées. si la gestion des populations de vers de terre peut être considérée comme une méthode culturale efficace pour pallier le manque de fertilité des sols, la mise en œuvre de la lombriculture permet de combiner plusieurs avantages (**Moreno et Paoletti, 2002**), en plus de la transformation de matières organiques très diverses, le lombricompostage engendre la production de deux types de produits valorisables: la biomasse en vers de terre et le lombricompost. (**paolettiet et al., 2000**). Le premier produit peut être utilisé pour l'alimentation de certains animaux d'élevage, le second fournit un amendement homogène et efficace permettant d'accroître la fertilité des sols en utilisant les matières organiques disponibles. De plus, le lombricompost présente des

niveaux de contamination en microorganismes pathogènes bien plus faibles que le compost conventionnel (**Santos-Oliveira *et al.*, 1976**).

La lombriculture représente une technologie appropriée afin de valoriser les résidus de cultures ainsi que d'autres déchets végétaux mélangés aux déjections animales provenant de l'exploitation agricole. (**Hassan *et al.*, 2010**).

# **Chapitre II**

## **Matériel et méthodes**

## Chapitre II : Matériel et méthodes

### 1 Objectifs

Dans le cadre de la recherche sur des nouveaux procédés en phytoprotection et de lutte biologiques. La bio fertilisation offre une certaine éventualité de protection par l'utilisation de nouvelles formulations des stimulateurs de défenses naturelles (SDN).

L'intérêt de cette étude s'est porté sur l'évaluation de l'effet de l'exposition à deux éliciteurs (agent phytopathogène) impliqué dans le dépérissement de la vigne, appartenant à la famille des *Botryosphaeriaceae* et un traitement à base de lombricompost sur : les paramètres agronomiques et les réponses de défense physique et chimique chez deux variétés et de deux porte greffe de vigne.

Notre travail est constitué de deux parties :

- ✓ La première partie comprend un essai in situ vis-à-vis des boutures de 02 variétés locales de vigne et deux porte greffe inoculés par un agent pathogène pour détermine : les réponses physiques au stress à traves un test de pathogénicité.
- ✓ La seconde partie consiste a l'évaluation des réponses physiques et chimiques d'une part sur quelques paramètres agronomiques et d'autre part chez les variétés locales de vigne au stress biologique.

### 2 .Matériels

#### 2.1 Matériel végétal

Nous avons utilisé dans notre expérimentation qui a pour objectif : la vérification du pouvoir pathogène de l'agent fongique *Botryosphaeria dothidea*; responsable du dépérissement de vigne, des boutures de deux variétés locales de *Vitis vinefera* à savoir Cardinal et Red globe, Ces deux cépages sont cultivés pour la production du raisin de table, et deux porte greffe (SO4 et 41B) provenant d'un complexe de greffage d'un agriculteur privé qui se trouve à la commune de Larabaa de la wilaya de Blida. Le matériel végétal a subi un contrôle phytosanitaire par les services concernés et il est accompagné par un certificat phytosanitaire.



Figure 7: Boutures de vignes utilisées dans notre expérimentation (Original, 2017)

## 2 .2. Matériel biologique

### 2 .2.1. Le champignon pathogène

Nous avons testé une espèce fongique isolée à partir du bois nécrose de vigne, son identité a été confirmée à travers une caractérisation morphologique et culturale on utilisant une clé d'identification (Phillips, 2002), suivi par une caractérisation moléculaire en utilisant des amorces universels : Internal Transcribed spacer (ITS 1 et ITS 4): *Botryosphaeria dothidea* .

En raison de l'absence des fructifications dans les cultures fongiques obtenues durant l'incubation de *B.dothidea*, nous avons utilisé des disques mycéliens âgés de 5 jours à partir d'une culture mycélienne (Tableau 1).

Tableau 1 : Caractéristiques de l'isolat fongique.

Espèces	Hôte	Identification	Provenance
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	Vitis vinifera	Ammad et al (2014)	Locale



**Figure 8: Culture de *Botryosphaeria dothidea* agée de 5jour (Original, 2017).**

### **2.2.2. Lombricompost**

Nous avons utilisé un traitement formulé à base de jus de lombricompost donné par Mr Djazouli Z.D., il a été utilisé sous forme liquide dilué dans l'eau. Dans cette formulation l'activité du principe actif est favorisée par un mélange d'agent mouillant, plastifiant et des pénétrants. La formulation finale est utilisée à 1/1000 (Bio fertilisant formulé/ eau).

## **3 Méthodes**

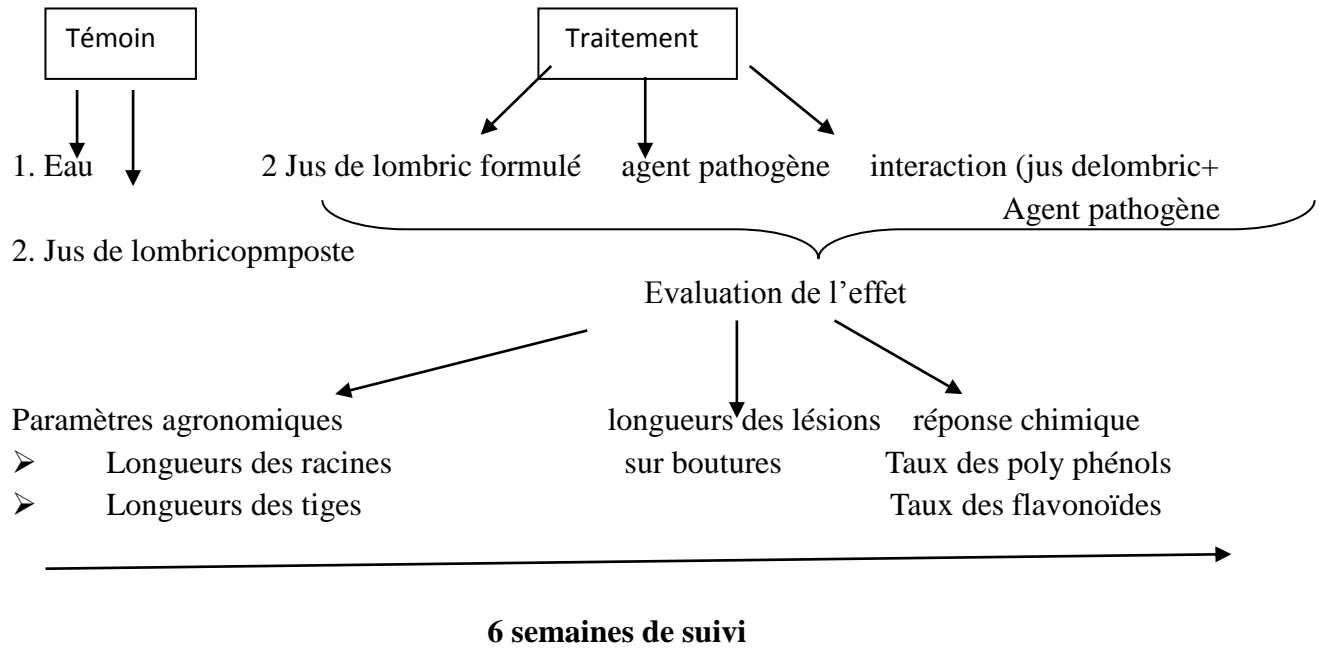
### **3.1 Purification des champignons**

La purification de ces champignons pathogènes 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.

### **3.2 Les traitements appliqués *in situ***

Les essais *in situ* ont été effectués avec une souche phytophagène (*Botryosphaeria dothidae*), un jus de lombricompost formulé et des essais d'interaction ont été réalisés *in situ* sur des boutures de vigne (variétés : Cardinal et Red globe) (**Figure 9**).





**Figure 9 : Schéma récapitulatif des traitements appliqués**

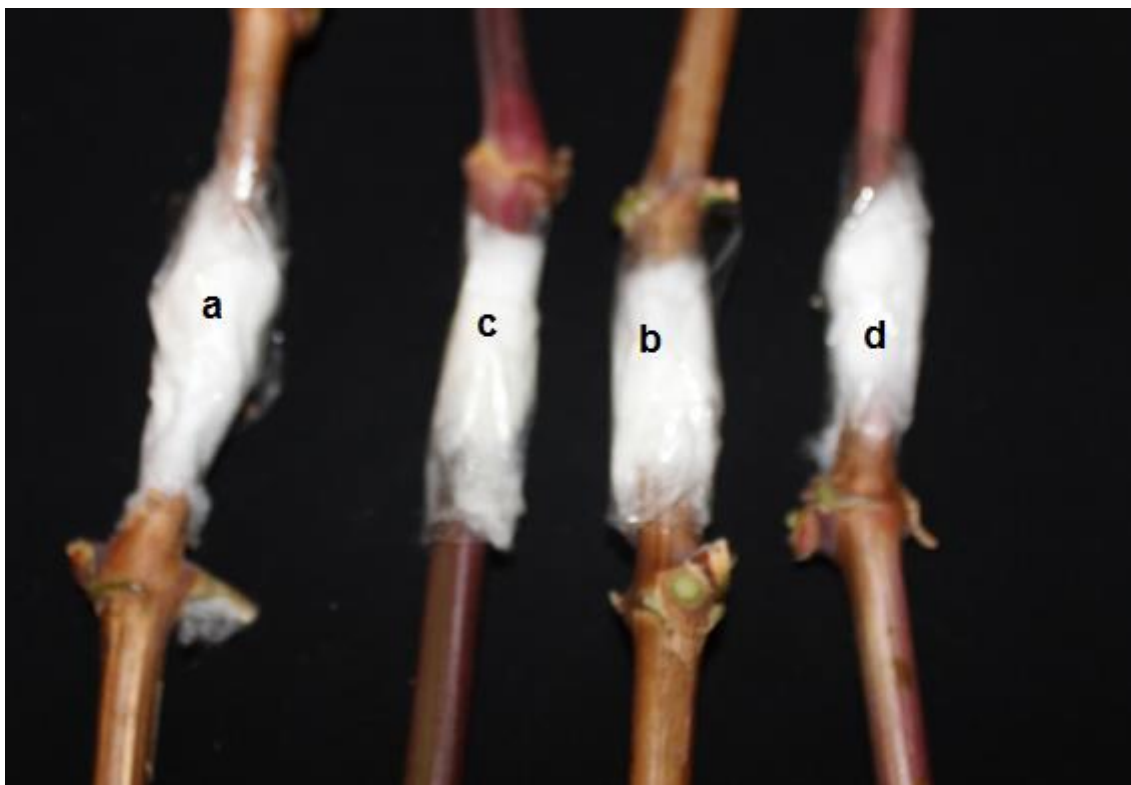
### 3.2.1. Application des traitements

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 32 boutures. Quatre 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.

Des pastilles de 10 mm de diamètre de mycélium de l'isolat ont été prélevées en utilisant une pipette Pasteur puis déposées au niveau des incisions. 4 répétitions ont été effectuées.

Après inoculation, les incisions ont été enveloppées avec du coton stérile humide puis scellées avec du para film. Les boutures ont été incubées dans des pots contenant de l'eau distillée stérile afin d'éviter le dessèchement.



**Figure 10 : des boutures après inoculation enveloppées avec du coton. (a,b : Redglobe et c,d : Cardinal) (Original, 2017).**

Les boutures ont été examinées après deux semaines d'incubation pendant 6 semaines afin de surveiller le développement des symptômes (Camps, 2008). Pour chaque bouture, la longueur de la lésion a été mesurée.

#### **4 Dispositif expérimental**

Les traitements utilisés ont été appliqués sur 4 blocs comportant les boutures de vigne, chaque bloc comporte 4 boutures de chaque variété pendant la période printanière (de février au Avril 2017).

- Le premier bloc traité par l'eau courante.
- Le deuxième bloc inoculé par l'agent pathogène.
- Le troisième bloc traité par le jus de lombri compost (Les boutures ont été incubées dans des pots contenant le jus)
- Le quatrième bloc inoculé par l'agent pathogène et traité par le jus de lombri compost (Les boutures ont été incubées dans des pots contenant le jus)

##### **4.1 Evaluation des taux d'infection**

Deux semaines après inoculation, des observations quotidiennes ont été réalisées, qui vise à rechercher des nécroses au niveau du matériel végétal inoculé. Le suivi s'est basé sur la mesure des lésions à l'aide d'une règle.

## 5 Paramètres agronomiques

### 5.1 Longueur de partie aérienne (H)

La longueur de la bouture est la distance qui sépare le collet de la tige, jusqu'au bourgeon terminal. Elle est mesurée à l'aide d'une règle et exprimée en centimètre (cm).

### 5.2 Longueur du système racinaire (LR)

A la fin de l'expérimentation, chaque bouture est récoltée individuellement. Elles sont ensuite coupées au niveau des racines. La longueur de la racine principale 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 et exprimée en centimètre (cm).

## 6. Extraction et dosage

### 6.1 Extractions des poly phénols totaux

Avant les extractions, on a commencé a broyé nos boutures a l'aide d'une broyeuse afin d'obtenir une poudre qu'on va l'utilisée dans l'extraction des polyphénols, chaque poudre de chaque échantillon est pesée et mette dans un papier filtre pour former une cartouche, ces cartouches qu'on a obtenu contient notre poudre est misent dans un soxhlet de 250ml.

On rajoutant 250 ml d'éther de pétrole (40-60°C). Le solvant est introduit dans le ballon puis chauffé pour démarrer l'extraction. Lorsque l'eau commence à ce chauffé le siphonage des cartouches commence.

Après 3 siphonage l'extraction est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair, cette couleur indiquant que le solvant n'extrait plus rien du solide. .

Le contenu du ballon (solvant plus matières solubilisées) est ensuite traité à l'aide du Rotavapor pour éliminer le solvant et le résidu est pesé pour quantifier la masse d'extrait total.

Le produit qu'on a obtenu est met dans un petit flacon et mis dans une étuve puis on attend 24 h pour que notre solvant soit évaporé et le produit soit prêt pour le dosage.

### 6.2 Dosage des poly phénols totaux

#### ➤ Préparation de solution saturée de $\text{Na}_2\text{SO}_3$

On met sur un agitateur magnétique un bécher contient d'eau distillé +  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ,  
On rajout progressivement la  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  jusqu'on obtient un mélange qui ne se dissoudre pas.

Dans chaque tube à essais on met 1ml d'huile +10 ml de méthanol + 1ml de Na<sub>2</sub>so<sub>3</sub> puis 0.5ml de Folin (**Singleton et al, 1999**)et on met ces 8 tubes dans l'obscurité et en attend 1h. Après 1h la couleur de notre mélange change et devient bleu.

### 6.3 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de trichlorure d'aluminium ; (AlCl<sub>3</sub>) (**Bahorum et al., 1996**) a 1ml de chaque extrait (préparer avec des dilutions convenables dans le méthanol ou l'eau distillée) en ajoutant 1 ml de solution AlCl<sub>3</sub>.

Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est effectuée.

Le calcul de la concentration des flavonoïdes ce fait a l'aide des gammes d'étalonnage établies avec la quercétine et elle est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait.



**Figure 11 : les tubes à essais après le dosage des flavonoïdes (Original, 2017).**

### 7 Analyse statistique

La présence des nécroses a été utilisée comme indicateur de la pathogénicité ainsi une analyse de la variance a été effectuée en utilisant le modèle linéaire général (G.L.M). Les

variétés de la vigne, les phytopathogènes et le biofertilisant sont considérées comme des facteurs indépendants. La détection des différences entre les réponses de chaque espèce a été réalisée à travers le test de Tukey.

Les paramètres de croissance sont exprimés en moyenne  $\pm$  la déviation standard ( $M \pm DS$ ), à partir du nombre de répétition technique est égal à 10. La comparaison des moyennes est effectuée par l'analyse de la variance à 1 facteur (G.L.M) et le test de TUKEY en utilisant le logiciel SPSS (v 20.0, Microsoft), à un seuil ( $p < 0.005$ ).

# **Chapitre III**

## **Résultats et Discussion**

# Résultats et discussion

L'étude de l'effet *in situ* de deux éliciteurs biologiques, a permis l'obtention des résultats avec les variables étudiées à savoir : le taux d'infection, la réduction de la taille des nécroses provoquées qui a commencée le 05 Mars pour redglobe et cardinal et le 15 Mars pour les deux portes greffes SO4 et 41B, la phytostimulation et quelques réponses chimiques.

## 1 Descriptif symptomatologique

Dans ces essais nous avons noté une variation quantitative et qualitative dans l'expression de la maladie dite BDA sur les boutures de vigne selon l'inoculation indépendante ou en combinaison avec le lombricompost.

### 1.1 Inoculation indépendante

#### (i) l'agent pathogène

Les tests de pathogénicité ont été réalisés sur des boutures de deux variétés de vigne, cardinal (CR) et Redglobe (RG) et deux portes greffe (SO4 et 41B).

Après six semaines d'incubation, différents types de lésions se sont développées sur les boutures. Des nécroses plus ou moins importantes ont été notées sur les deux variétés alors que sur le témoin des nécroses limitées juste au pourtour de l'emplacement d'inoculation.

Les boutures de vigne (Cardinal, Redglobe, SO4 et 41B) inoculées par l'isolat pathogène *Botryosphaeria dothidea*, ont montré des lésions à partir du point d'inoculation. Cet isolat a induit des nécroses internes et des chancres.

Sur les 4 plants infectés de la variété Cardinal, nous avons noté, la présence des décoloration vers le haut et vers le bas du point d'inoculation des plants ( Fig. 12). La longueur des lésions obtenus à partir du point d'inoculation, diffère en fonction des variétés de vigne. La moyenne de cette longueur pour cardinal et Red globe étaient  $(0.5 \pm 0)$ ,  $(0.66 \pm 0.15)$  cm, respectivement.

Le même résultat a été enregistré avec la deuxième variété Redglobe : 4 plants avec des moyens symptômes ( Fig. 13).

Pour les deux porte greffe nous avons noté des légers lésions après infection par l'agent pathogène. Sur les 4 plants infectés du porte greffe SO4, nous avons noté, la présence des décoloration vers le haut et vers le bas du point d'inoculation des plants ( Fig. 14), et pour le 41B nous avons remarqué des longueurs des lésions qui varient entre (0.4cm et 1.7cm) respectivement.

Pour les boutures de vigne utilisées comme témoin mise dans l'eau et dans le lombricompost n'ont montré aucune décolorations autour du point d'inoculation.

## 1.2 Co- inoculation

### (ii) pathogène \* lombricompost

Nous avons constatés nettement une régression de la maladie au niveau des plants infecté et traités par le lombricompost. D'après les résultats du **Tableau 2** Sur cardinal, Redglobe, sur SO4 et sur 41B, la plus importante réduction de la taille des nécroses est notée sur les boutures de la variété Redglobe (0 cm). Comparativement avec les boutures de la variété Cardinal dont la réduction est de (0.3cm) par rapport au ceux traités avec le pathogène.

Pour les porte greffe la plus importante réduction des tailles de nécrose était noté sur le SO4 avec une réduction de (1.7 cm). Comparativement avec les boutures du porte greffe 41B dont la réduction notée était (1.5cm) par rapport au ceux traités avec le pathogène.

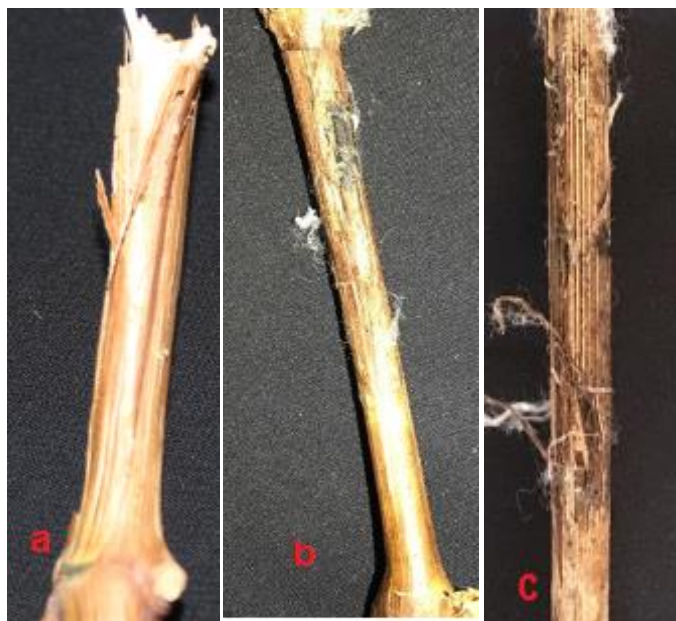
Pour les lésions provoquées sur les boutures de vigne utilisées comme témoin mise dans l'eau et dans le lombricompost ,nous avons noté une fermeture nette des lésions sur celles mise dans lombricompost.



**Figure 12: Les nécroses présentées sur les boutures de vigne la variété Cradinal (CR)  
(a) : Témoin, (b) : *B.dothidea*, (c) : traitée par Lombricompost.**

(Original, 2017)





**Figure 13 : Les nécroses présentées sur les boutures de vigne variété Red globe (RG). (a) : Témoin, (b) : *B.dothidea*, (c) : infecté par *B.dothidea* et traité par lombricompost.**

(Original, 2017)



**Figure 14: Les nécroses présentées sur le porte greffe (SO4). (a) : Témoin, (b) : *B.dothidea*, (c) : infecté par *B.dothidea* et traité par lombricompost.**

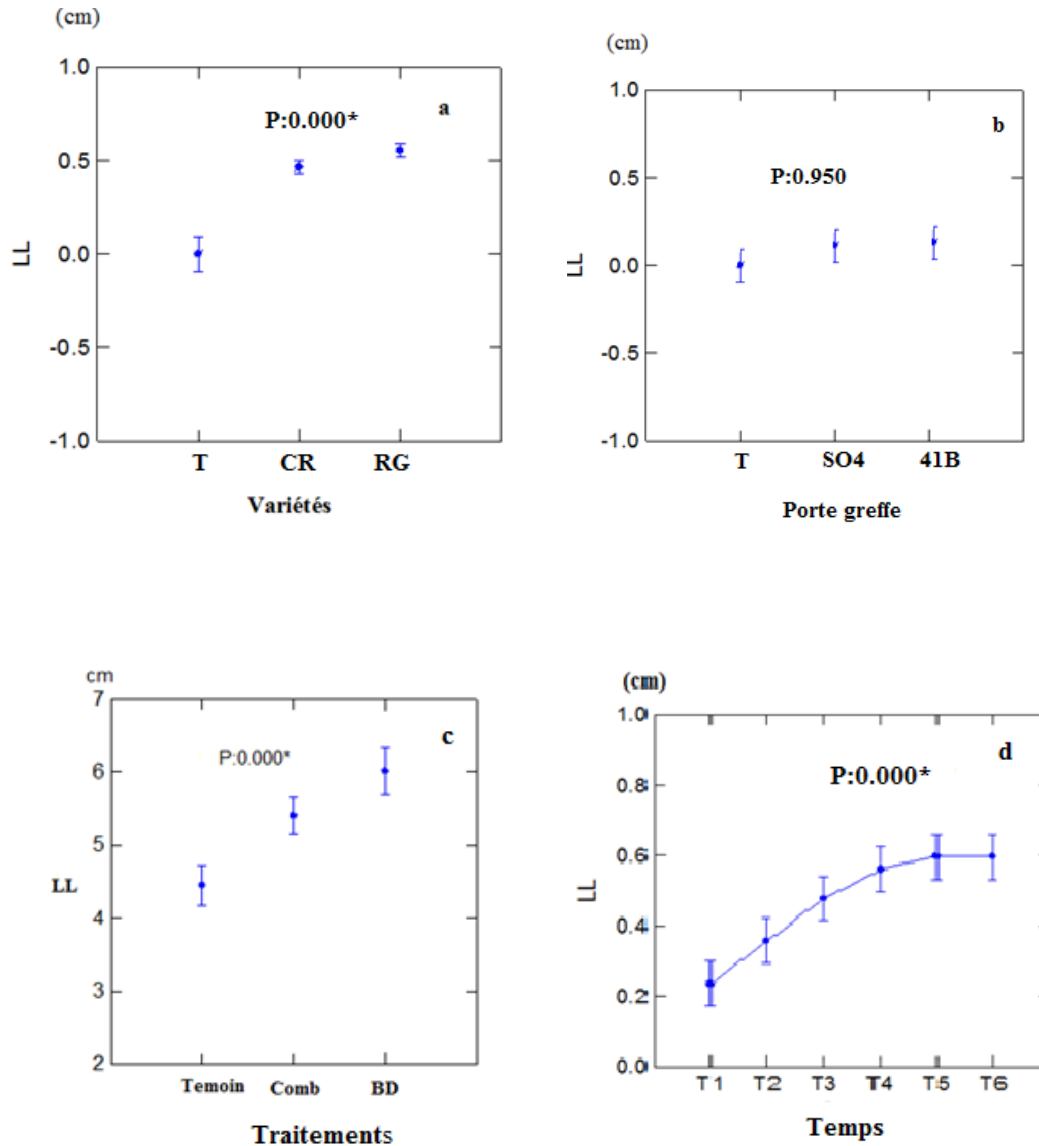
( Original, 2017)

Nous avons utilisé le modèle général linéaire (G.L.M), de manière à étudier d'une part la fluctuation temporelle de la taille des lésions provoquées sur les boutures de vigne et d'autre part sur la fluctuation quantitative de quelques paramètres agronomiques de ces variétés. Les variables quantitatives ont été scorées par rapport à deux éliciteurs ; un agent fongique pathogène et un lombricompost, ce modèle permet d'étudier l'effet strict des différents facteurs sans faire intervenir les interactions entre facteurs.

L'analyse de la variance (GLM) (**Tableau 2**) a indiqué une différence hautement significative ( $P = 0.000$ ,  $P < 5\%$ ). Les deux variétés étaient sensibles à *B. dothidea* en comparaison avec le témoin. (Fig. 15), les résultats de l'analyse de la variance, ont aussi montré que la période et les deux éliciteurs exercent un effet hautement significatif sur la taille des lésions ( $p=0,00$ ,  $p<0,01\%$ ) (Fig. : 15). par contre les deux portes greffe testés étaient moins sensibles

**Tableau 2. Longueur des nécroses sur des boutures de vigne après 6 semaines d'incubation.**

Variétés	longueur de la lésion (cm)	Test GLM	Isolats	longueur de la lesion (cm)	Test	
Cardinal	0.5± 0	P = 0.000 p < 1%	<i>B.dothidea</i>	0.43± 0.335 <sup>a</sup>	P = 0.000, P < 1%	
			<i>combainaison</i>	0.3± 0.023 <sup>b</sup>		
			Témoin (H2O)	0		
			Témoin (lomb)	0		
Red globe	0.66±0.15		<i>B.dothidea</i>	0.8± 0.206 <sup>a</sup>		
			<i>combainaison</i>	0± 0.010 <sup>b</sup>		
			Témoin (H2O)	0		
			Témoin (lomb)	0		
SO4	1.26± 0.20		<i>B.dothidea</i>	1.1± 0.335 <sup>a</sup>		P = 0.000, P < 1%
			<i>combainaison</i>	1.1± 0.023 <sup>b</sup>		
			Témoin (H2O)	0		
			Témoin (lomb)	0		
41B	0.86± 0.15	<i>B.dothidea</i>	0.93±0.0.335 <sup>a</sup>			
		<i>combainaison</i>	0.73± 0.023 <sup>b</sup>			
		Témoin (H2O)	0			
		Témoin (lomb)	0			



**Figure 15 : Les longueurs des lésions provoquées sur les boutures traitées de deux variétés (a), agent fongique (b) et (c) temps.**

LL : longueur des lésions, CR : Cardinal, RG : Redglobe, Bd : B.dothidea Lomb : Lombricompost , T : Temps

### 1.3 Variation de la taille des lésions sur les boutures de vigne en fonction des facteurs étudiés

L'analyse de la variance (GLM) a été suivie par le test Tukey, le facteur variété indique une évolution dans la taille des lésions. Cette évolution est confirmée par l'analyse de variance linéaire par une probabilité très significative. La comparaison par paire réalisée par le test de Tukey a classé respectivement RG et SO4 dans le groupe (a), suivi par CR dans le groupe (ab), le porte greffe (41B) dans le groupe (b) désignant une progression dans la taille des lésions (Fig. 16). Ce même test signale la présence de deux groupes homogène (a) et (b) montrant une gradation positive dans l'augmentation de la taille des lésions dans le temps

(Fig.17). Pour le facteur traitement, les deux éliciteurs testés sont classé dans deux groupes homogènes (a) et (b).

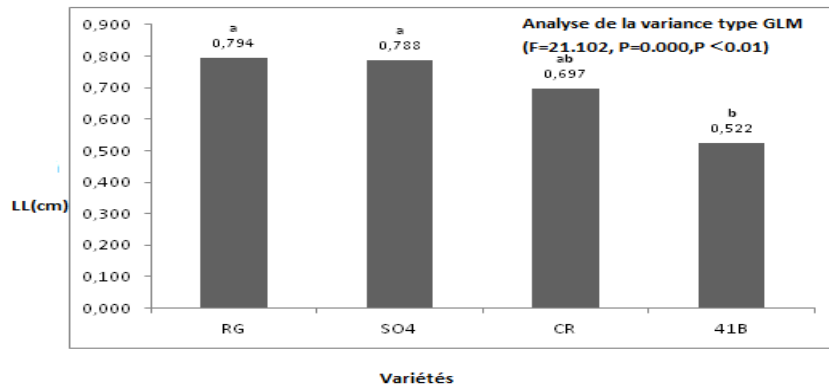


Figure 16 : Test post Hoc Pour le facteur variété

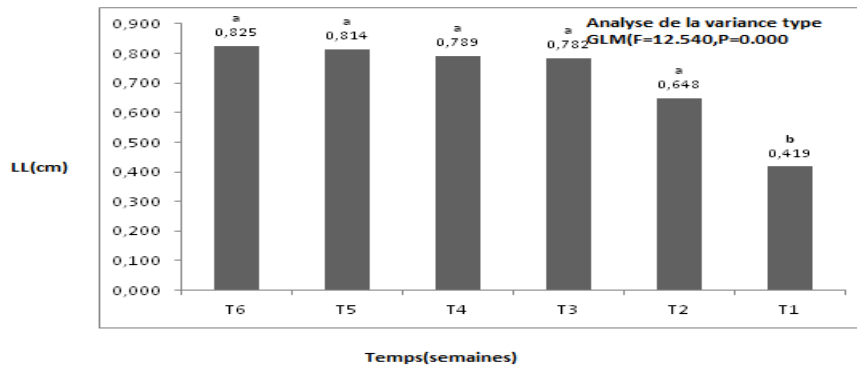


Figure 17 : Test post Hoc Pour le facteur temps

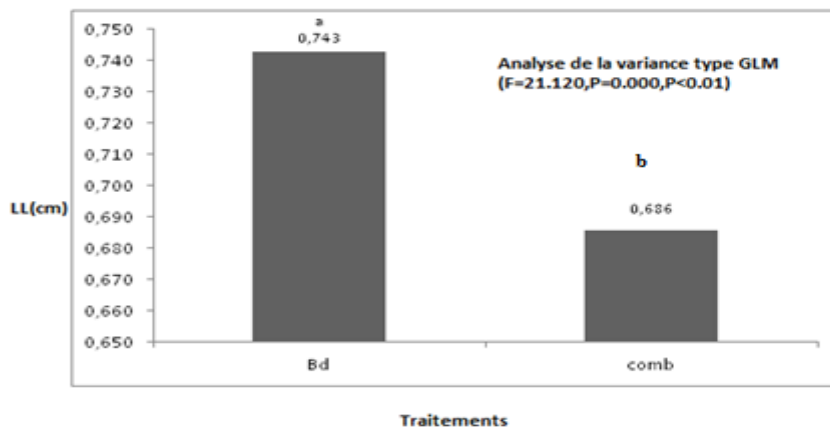


Figure 18 : Test post Hoc Pour le facteur traitement

## 2 Evaluation de la phytostimulation

### 2.1 Les paramètres agronomiques

Après l'inoculation des boutures de *vigne* (CR, RG, 41B et SO4) par: (i) l'agent pathogène et la (ii) co-inoculation, nous avons enregistré les résultats présentés dans le **tableau 3**.

#### 2.1.1 Longueur de la partie aérienne (LT)

##### (i) Agent pathogène

Les résultats du **tableau 3** montrent une longueur assez faible de la partie aérienne des boutures des deux variétés (Cardinal et Redglobe) inoculées par *B.dothidea* par rapport au témoin, avec des valeurs respectives de  $20.96 \pm 6.32$  cm et  $27.27 \pm 2.42$  cm contre une valeur témoin de  $25.80 \pm 3.32$  cm et  $31.4 \pm 1.73$  cm.

##### (ii) Co-inoculation

Les résultats montrent une augmentation significative de la longueur de la partie aérienne des boutures traitées par la combinaison Lombricompost x *B.dothidea*. Cette augmentation est de  $25.82 \pm 0.84$  cm pour CR et  $31.75 \pm 1.25$  cm pour RG au bout de 42 jours et  $35.72 \pm 2.04$  cm pour SO4 et  $31.87 \pm 4.21$  cm pour 41B au bout de 42 jours (**Tableau 3**).



Figure 19 : Une bouture témoin de RG (Original, 2017).

##### (iii) Témoin

Les résultats montrent une augmentation significative de la longueur de la partie aérienne des boutures traitées par le lombricompost. Cette augmentation est de  $25.80 \pm 0.84$  cm pour CR et  $31.4 \pm 1.73$  cm pour RG au bout de 42 jours (**Tableau 3**)  $30 \pm 0$  cm pour SO4 et  $32.02 \pm$

0.18cm pour 41B au bout de 42 jours (**Tableau 3**). Par contre une légère croissance a été notée sur les boutures témoins traités juste par l'eau.



**Figure 20 : la partie racinaire chez deux boutures témoin de vigne (a. Cardinal, b. Redglobe) (Original, 2017).**

### 2.1.2 La longueur de la partie racinaire (LR)

Après 42 jours d'exposition des boutures de vigne aux différents éliciteurs, agent pathogène et la co-inoculation nous avons noté.

#### (i) Agent pathogène

Les résultats du **tableau 3** montrent une longueur assez faible de la partie racinaires des boutures des deux variétés (Cardinal et Redglobe) inoculées par *B.dothidea* par rapport au témoin, la longueur racinaire varie entre.  $21.62 \pm 19.9$ cm pour RG et entre.  $20.05 \pm 3.67$  cm pour CR contre une valeur témoin de  $11.33 \pm 3.05$ cm pour même résultat a été enregistré sur les portes greffe, la longueur racinaire varie entre.  $23 \pm 4.24$ cm pour SO4 contre une valeur témoin de  $26.25 \pm 1.5$ cm pour.

#### (ii) Co-inoculation

Le lombricompost et l'agent fongique ont montré un effet important sur la stimulation de la longueur des racines des deux variétés étudiées. La longueur des racines de CR a atteint 26cm cm et celle de RG a atteint 34 cm au bout de 42 jours. Par contre les boutures traitées par l'agent pathogène ont montré une longueur assez réduite de 17 cm pour CR et 22cm, sur RG.

Le même résultat a été enregistré sur les porte greffes, nous avons noté des longueurs des racines qui varient de 20cm à 33cm respectivement pour SO4 et 41B.

**(iii) Témoin**

Les résultats montrent une augmentation significative de la longueur de la partie racinaires des boutures traitées par le Lombricompost. Cette augmentation est de  $25.80 \pm 2.25$  cm pour CR et elle de  $31.4 \pm 1.73$  cm pour RG au bout de 42 jours (**Tableau 3**) et elle est de  $26.25 \pm 1.5$  cm et de  $30 \pm 0$  cm respectivement pour SO4 et le 41B

Par contre une légère croissance de la longueur racinaire des deux portes greffe traités juste par l'eau.

**Tableau 3 : La longueur des tiges et racines par rapport aux traitements et aux variétés.**

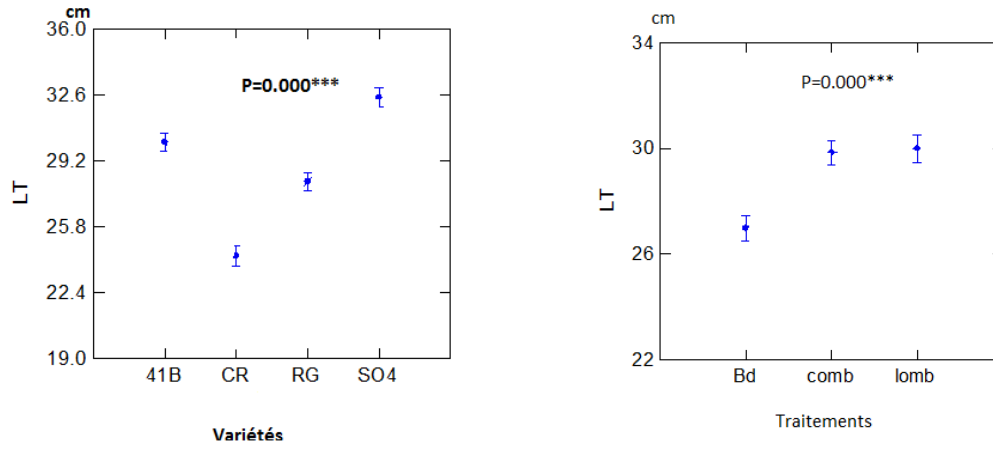
Traitement	Hauteur des tiges (cm)				Longueurs des racines (cm)			
	CR	RG	SO4	41B	CR	RG	SO4	41B
T1a	25.45	27.92	25.67	26.57	11.33	22.5	21.75	24.25
T1b	25.80	31.4	30	32.02	19.32	23.92	26.25	30
T2	20.96	27.27	31.87	25.32	21.62	20.05	23	21.55
T3	25.82	31.75	35.72	31.87	23.17	25.22	23.5	30

T1a : témoin (H2O) ; T1b : témoin (lombricompost) ; T2 : traiter par *B.dothidea*

T3 : traiter par lombricompost + *B.dothidea*. ; LR : longueurs des racines ; H : longueurs des tiges

**3 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 vigne (longueurs des tiges et longueurs des racines). Le facteur variété (Fig. 21) a indiqué une différence très hautement significative ( $P = 0.000$ ,  $P < 1\%$ ) même résultat a été noté sur le facteur traitement, une différence hautement significative ( $P = 0.000$ ,  $P < 1\%$ ) a été noté sur la croissance des tiges. Par contre le facteur temps n'a montré aucune signification (Fig. 22). Le test de Tukey a classé respectivement les variétés dans 4 groupes homogènes, SO4 dans le groupe (a), suivi par 41B dans le groupe (b), et la variété (RG) dans le groupe (c) et (CR) dans le groupe (d) désignant une différence dans la croissance des tiges (Fig. 22). Ce même test a signalé que le facteur traitement est classé dans deux groupes homogènes (a) et (b) des lésions (Fig.22).



**Figure 21 : Les longueurs des tiges après traitement**

**(a) variété, (b) traitement et(c) temps**



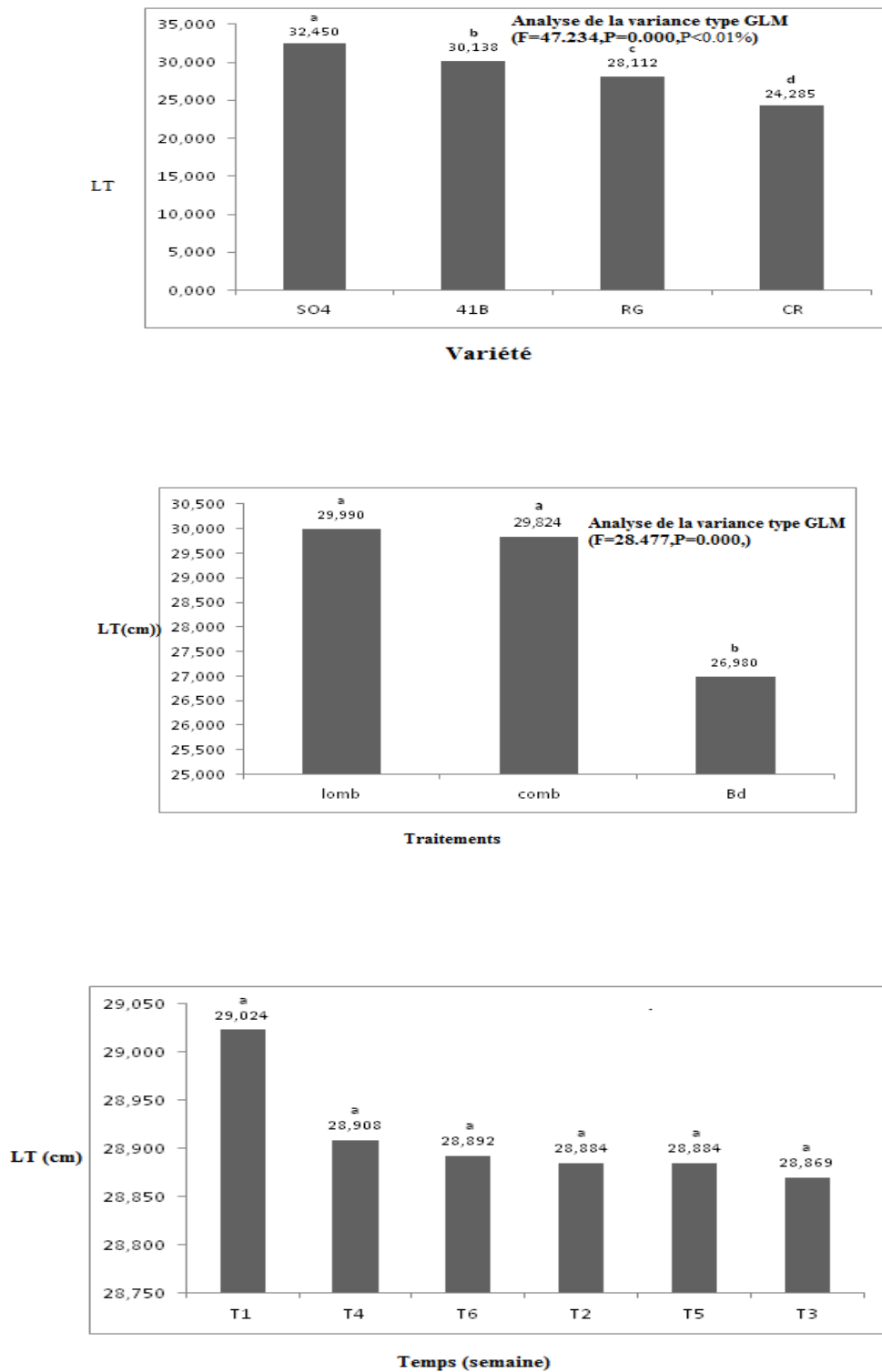
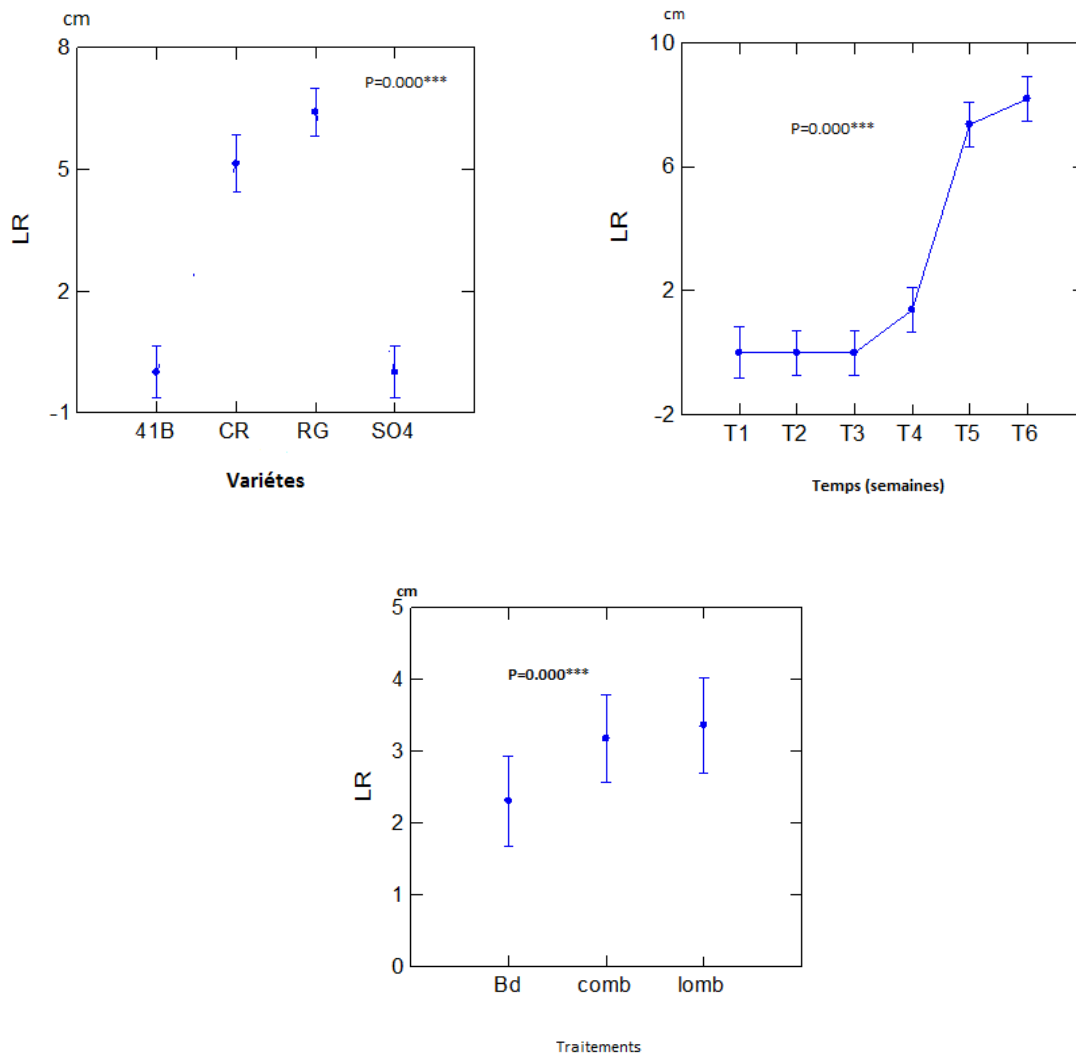


Figure 22: Test post Hoc :(a) facteur variété, (b) traitement et(c) temps

D'après les résultats obtenus pour la longueur des racines, nous avons noté qu'il y'a une différence très significative entre les boutures traitées et les témoins, les facteurs variété, traitements et temps ont montré une différence très hautement significative ( $p= 0.000$ ;  $p< 0.1\%$ ) (Fig. 23). Le test de Tukey a classé respectivement les variétés dans 2 groupes homogènes, RG et CR dans le groupe (a), suivi par 41B et SO4 dans le groupe (b) (Fig.24). Ce même test a signalé que le facteur traitement est classé dans deux groupes homogènes (a) et (b), le jus lombricompost et la combinaison dans le groupe (a) et l'agent pathogène dans le groupe (b) (Fig.24). Ce même résultat a été noté sur le facteur temps, T6 et T5 sont classé dans le groupe homogène (a) et T4,T3,T2 et T1 dans un autre groupe (b) (Fig.24).



**Figure 23: Les longueurs des racines des boutures traitées**  
**(a) variété, (b) temps, (c) traitements**

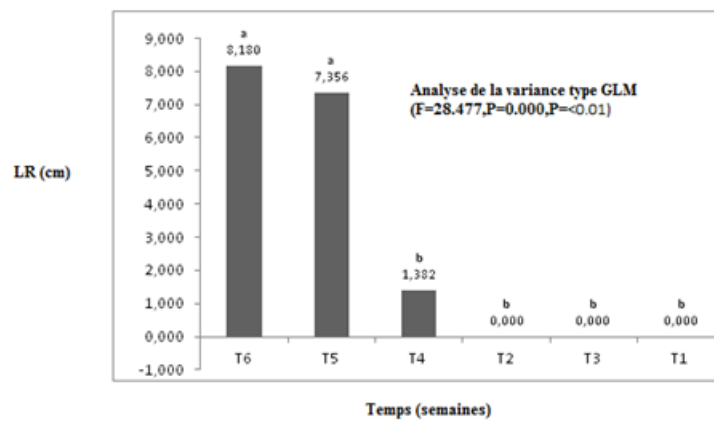
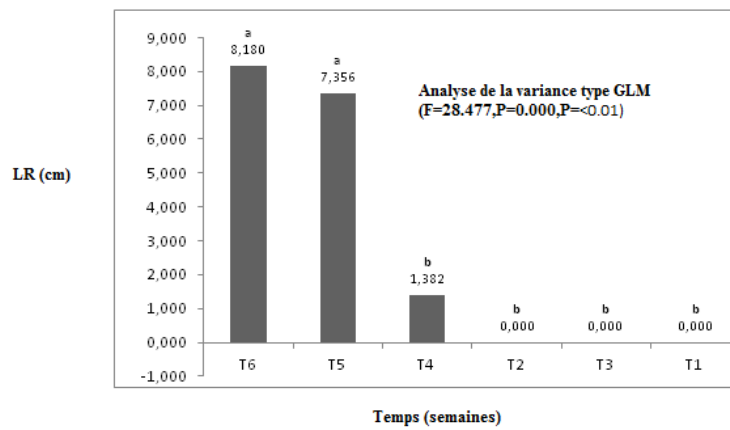
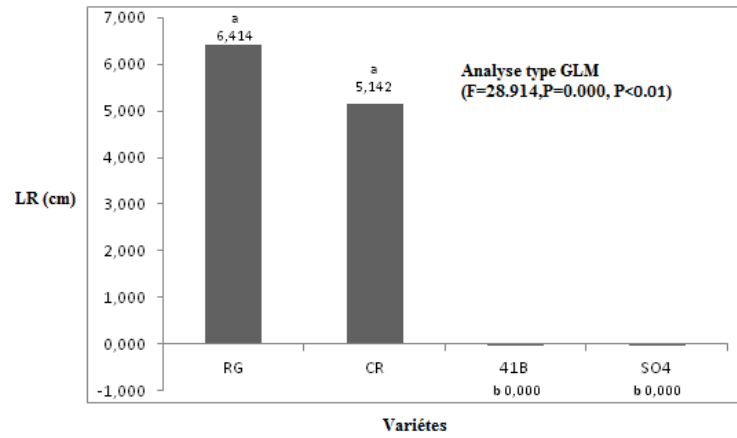


Figure 24 : Test post Hoc :(a) facteur variété, (b) traitement et(c) temps

## 4 Les tests biochimiques

### 4.1 Extraction et dosage des polyphénols totaux

Afin de déterminer le taux des polyphénols qui peuvent être induits suite à l'infection par des agents de maladie du bois, des boutures de RG et CR ont été inoculées par *B. dothidea*. L'objectif de ce chapitre était d'identifier les polyphénols dans les sarments des deux variétés de vigne infecté par l'agent pathogénie et traité par le lombricompost.

Nous avons identifié la présence des polyphénols et nous avons déterminé leur concentration chez les différentes variétés, nous avons remarqué que le taux des dernières est très élevé chez les boutures infectées en les comparant avec les concentrations des boutures traitées (Fig. 25)

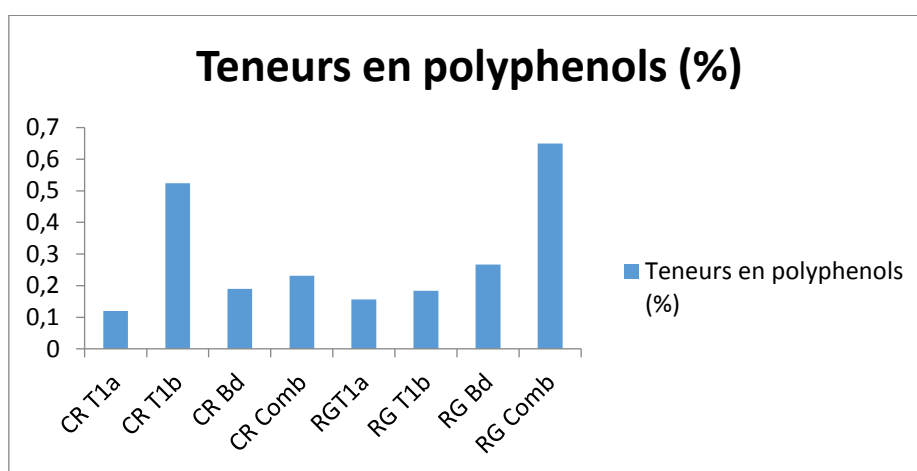


Figure 25 : Teneur en polyphénols totaux des différents traitements.

T1a : témoin (H<sub>2</sub>O) ; T1b : témoin (lombricompost) ; T2 : traiter par *B.dothidea*  
T3 : traiter par lombricompost + *B.dothidea*.

### 4.2 Extraction et dosage des Flavonoïdes

Les résultats de cette partie ont montré que les taux des teneurs en flavonoïdes dans les sarments des deux variétés de vigne diffèrent selon le traitement testé, nous avons remarqué que le taux des derniers est très élevé dans les plants infectés en les comparant avec les concentrations des plants traités par lombricompost (Fig. 26).

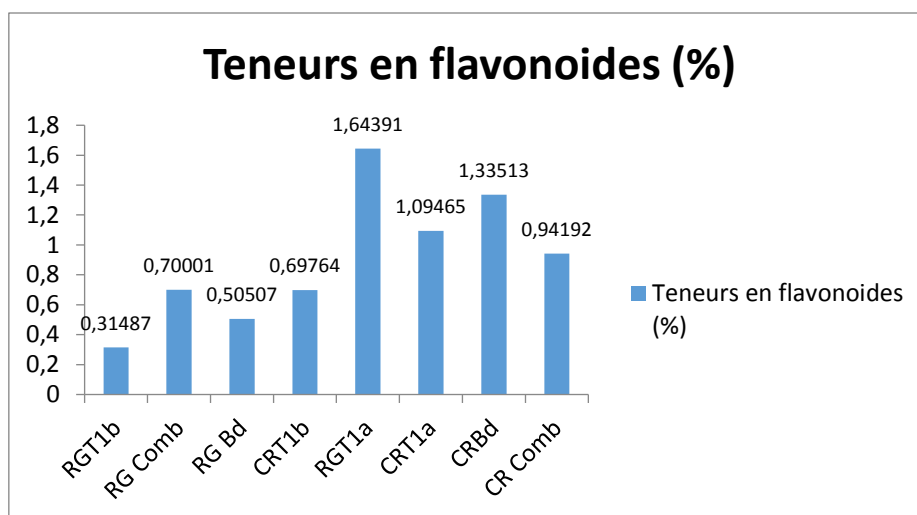


Figure 26: Teneur en flavonoïdes des différents traitements.

T1a : témoin (H<sub>2</sub>O) ; T1b : témoin (lombricompost) ; T2 : traiter par *B.dothidea*  
 T3 : traiter par lombricompost + *B.dothidea*..

## Discussion

Dans leur environnement, les plantes sont constamment sujettes à des variations climatiques ou à des agressions causées par des organismes vivants, pouvant nuire à leur bon développement. Elles ont développé au cours de l'évolution des stratégies efficaces et adaptées pour mieux répondre à ces stress biotiques ou abiotiques. En plus de structure physiologiques particulières qui protège la plante de manière passive, la plante peut aussi réagir aux variations et son environnement en mettant en place des mécanismes cellulaires spécifiques. Plus précisément, une première ligne de défense est formée par la cuticule et d'une part par la paroi végétale d'autre part. L'objectif de cette étude, est de tenter de détecter *in situ* l'effet de lombricompost à l'égard d'un isolat phytopathogène appartenant au genre *Botryosphaeria* agent de dépérissement et d'évaluer l'effet biostimulant de ce traitement.

Le recours aux bio fertilisants et aux bio stimulants naturels constitue une voie qui pourrait réviser les patrons régissant la lutte contre les ennemis des cultures. Des études récentes font en effet l'état d'une capacité de ces traitements à intervenir selon divers mécanismes : stimulation des défenses naturelles des plantes (SDN), et la stimulation de la croissance des plantes, ces solutions qui pourraient être intéressante dans l'avenir sur le plan scientifique et économique.

Les résultats de bio contrôle *in situ* auxquels nous avons aboutis en traitant l'évaluation de l'effet du bio fertilisant formulé sur l'inhibition de la croissance du pathogène et sur la phytostimulation.

Après six semaine d'incubation des boutures de vigne, les résultats de pathogénicité ont montré que *B. dothidea* a provoqué des lésions sur les tiges des deux variétés testées (Red glob et cardinal) et sur les deux porte greffes (SO4 et 41B).

*B. dothidea* s'est montré plus rapide dans le développement des lésions avec une précocité dans l'apparition des symptômes sur les boutures inoculées. La taille des lésions des boutures infectées est importante chez les deux variétés inoculées avec l'isolat pathogène.

Une différence très significative a été enregistrée entre la taille des nécroses des boutures inoculées par le pathogène et celles inoculées par le pathogène et mise dans le lombricompost. Une nette réduction de la taille des lésions a été enregistrée sur les plants inoculés par le pathogène et mis dans le jus de lombricompost, le biofertilisant a montré en effet un fort potentiel dans l'inhibition contre l'isolat pathogène testé. Le traitement simultané par le biofertilisant entraîne une réduction importante de la taille des lésions des boutures infectées par l'agent. La réduction de la maladie est plus importante pour RG suivi par la deuxième variété CR, même résultat pour SO4 et 41B, sachant que ces derniers n'ont pas montré des fortes lésions.

L'application réalisée fait remarquer que le biofertilisant a arboré une nette réduction dans les longueurs des lésions infectées par le pathogène et une fermeture totale des blessures chez les boutures blessées et mises dans le lombricompost par rapport aux boutures infectées par le pathogène et mises dans l'eau.

Des résultats similaires ont été enregistrés par **Larignon et al., (2001)**, sur des boutures de vigne variété Cabernet Sauvignon inoculées par un agent pathogène de la famille des Botryosphaeria. La sécrétion des toxines par ces champignons, pourrait expliquer le phénomène de l'apparition de nécroses. En effet, **Djoukeng et al., (2009)**, ont confirmé que les toxines des Botryosphaeria, sont transportées vers les parties herbacées et causent des symptômes à partir des points d'infections.

En se référant aux résultats on suppose que le fertilisant appliqué a stimulé les défenses naturelles de la plante. Cet état physiologique a permis à travers une cascade des mécanismes de défense induites (défense active) d'extérioriser l'effet d'inhibition de la multiplication du pathogène dans les cellules.

L'hypothèse apportée rejoint les nombreux travaux qui se sont intéressés à l'application des éliciteurs naturels sur les plantes, en activant préventivement ses réactions de défenses conduisant ainsi la plante à résister aux bio agresseurs, de ce fait l'utilisation judicieuse d'éliciteurs naturels pourrait permettre de diminuer la quantité des pesticides nécessaires à la protection des cultures (**Pajot, 2010**).

**Pajot et al., (2007)**, estiment que la stimulation des défenses naturelles des plantes à l'aide de composés appelés éliciteurs constitue une nouvelle stratégie de protection de cultures alternative aux pesticides ou aux plantes transgéniques. L'usage des polysaccharides comme éliciteur est fondé sur leur implication connue dans les interactions plante/microorganisme en tant que signaux moléculaires et sur leur biodégradabilité.

La potentialité des réactions de défense est très documentée, elle peut être induite par des pathogènes (**Sticher et al., 1997**), par des organismes bénéfiques tels que les rhizobactéries (**Pieterse et al., 1996**) ou les mycorrhizes (**Pozo et al., 2002**), par les herbivores ou par les blessures (**Ton et al., 2007**), par un spectre de composé naturels ou synthétique comme les LPS (lipopolysaccharides) (**Newman et al., 2002**). Il existe des travaux qui se sont intéressés

à la potentialité des réactions de défense des plantes estiment qu'au de la reconnaissance du bio agresseur, la résistance de la plante dépend aussi de la rapidité et de l'intensité de la mise en place des mécanismes de défense. L'accélération et le renforcement des réponses de défense basales confèrent alors à la plante une résistance accrue aux stress biotiques. L'état physiologique dans lequel la plante est capable de mobiliser les réponses de défense plus rapidement et /ou plus intensément est appelé potentialité ou priming.

Selon **Pajot (2010)**, le traitement des plantes par le lombricompost était associé au développement de certaines réponses défensives dans les tissus des plantes hôtes.

Le traitement des boutures par le biofertilisant aide non seulement à contrôler les agents pathogènes mais à stimuler la croissance de la plante. Après six semaines d'inoculation des boutures de vigne (CR, RG, SO4 et 41B), par l'agent pathogène, par la co-inoculation, par l'eau et par le lombricompost seule, nous avons noté une nette phytostimulation et cela était notable sur les paramètres étudiés, longueurs des tiges et longueurs des racines.

La stratégie de bio contrôle associé avec l'ISR donne espoirs, peut être utilisées avec succès pas seulement dans le bio contrôle mais aussi dans la phytostimulation. Lorsqu'un agent pathogène contourne les défenses passives de la plante, il est impératif pour elle que la présence de l'agent pathogène soit détectée. Cette reconnaissance du parasite est une étape clé. Elle conditionne le déclenchement des systèmes de défense basés sur le renforcement des parois et la création d'un environnement toxique afin de confiner l'intrus aux cellules attaquées et d'empêcher sa propagation.

Les agents de maladie du bois, que ce soit ceux de l'esca ou de l'eutypiose, se développent dans le tronc mais également dans les sarments (**Troccoli et al., 2001 ; Bruno & Sparapano 2007 a**) et potentiellement dans les racines (**Del Rio et al., 2004**). Ces organes sont riches en composés phénoliques susceptibles de moduler la progression des champignons. En effet, les polyphénols sont connus depuis plusieurs décennies pour leur activité antimicrobienne (**Link 1929**).

L'activité antifongique de nombreux acides phénols, de la (+)-catéchine, du resvératrol et du ptérostilbène a déjà été testée sur des agents pathogènes mis en cause dans l'esca ou l'eutypiose (**Chapuis 1995 ; Mugnai et al., 1999 ; Mazullo et al., 2000 ; Coutos-Thévenot et al., 2001 ; Del Rio et al., 2004 ; Bruno & Sparapano 2006c ; Santos et al., 2006**). Ces essais in vitro ont permis de montrer un effet, le plus souvent inhibiteur, de ces composés.

Bien que parmi les polyphénols, les stilbènes sont reconnus comme les composés antifongiques les plus actifs de la vigne, peu d'entre eux ont été testés dans ce type d'essai : le resvératrol (**Mazullo et al., 2000, Santos et al., 2006, Bruno & Sparapano 2007, Coutos-Thévenot et al., 2001**) le ptérostilbène (**Mazullo et al., 2000**), l' $\epsilon$ - et la  $\delta$ - viniférine (**Djoukeng et al., 2009**).

# **Conclusion**



### Conclusion Générale et perspectives

Au terme de ce travail consacré essentiellement à l'étude de l'effet de deux stress biologiques, un agent pathogène et un bioproduit sur la stimulation de la défense naturelle et sur la croissance des tiges et des racines chez deux variétés de vigne et deux porte greffe, il nous a paru intéressant de dégager des conclusions auxquelles nous avons aboutis.

Le test de pathogénicité a été réalisé sur des boutures de deux variétés locales (Redglobe, Cardinal, SO4 et 41B) avec *B.dothidea*, cet agent fongique a induit le développement des lésions sur les tiges du matériel végétal infecté après sept semaines d'incubation. L'isolat testé était très virulent. Le teste du biocontrôle *in situ*, a montré des résultats obtenus très intéressants, il parait clairement une nette réduction dans la taille des lésions des différentes variétés de vigne infectées et traitées par le jus de lombricompost.

Les aboutissements relatifs aux effets des phytostimulants sur la croissance des longueurs des racines et des tiges sont très satisfaisants ou nous avons enregistré une augmentation assez distincte des longueurs des racines et des tiges par rapports aux boutures infectées et aux témoins blessées misent dans l'eau.

Le présent aspect d'étude constitue une première étude de la variation des teneurs de poly phénols et les flavonoïdes de l'espèce hôte (variétés et porte greffe de la vigne) *in situ*. L'examen de la qualité phytochimique du bois des sarments des plantes hôtes a montre une variabilité très claire de ces teneurs en fonction du type de stress appliqué.

L'étude de la réduction des lésions par le jus du lombricompost face à l'infection par le pathogène a permis de mettre en évidence l'existence des eliciters de défense naturelle dans les plantes. En fin, les biofertilisants inconnus liés à l'emploi des SDN et à leur mode action complexe ; il va de soi que la première perspective d'avenir sur cette thématique est la progression des connaissances scientifiques grâce à une recherche active.

Les essais du pouvoir antifongique dénotent les possibilités de leurs valorisations dans les procédés de lutte biologique. Il est à rappeler que cette étude de l'effet antifongique vis-à-vis les champignons du bois constitue une étape prometteuse dans

la recherche de molécules naturelle d'origine biologique, par leur valorisation en lutte biologique.

Devant une telle situation, pour résoudre cette problématique et d'en tirer les conclusions concernant le rôle de ces champignons, il est indispensable de:

- Recourir à d'autres méthodes de détection rapide, sensible, et permettant de déterminer le niveau de colonisation des agents pathogènes dans le bois, et la recherche des outils complémentaire notamment le dosage biochimique de leurs toxines (Eutypine, la scytalone, l'isosclérone et la famille des dihydroisocoumarines cas des melleines)
- Etude des réponses de défense de différents cépages et l'identification des composants chimiques des polyphénols suite à l'attaque des agents causals des maladies du bois, et détecter lesquels sont doté des propriétés antifongiques les plus marquées ?
  
- Caractérisé le jus de lombricompost, chercher à séparer des métabolites primaires intéressants.
- Tester l'effet de chaque métabolite afin de cibler la molécule bio active.
- Envisager, d'étendre l'expérimentation *in situ* avec ce biofertilisant sur d'autres espèces phytopathogènes qui menacent notre patrimoine végétale.

# **Références bibliographiques**

1. **Alfonzo et al, 2009.** <http://www.anova-plus.com/blog/maladies-bois-de-la-vigne-biocontrole/>,10p.
2. **Ammad, F., Benchabane, M., Toumi ,M., Belkacem, N., Guesmi ,A., Ameer,C., Lecomte, P., Merah, O., (2014).** [https://www6.inra.fr/maladies-du-bois-vigne\\_eng/Publications/2014/Ammad-et-al.-2014](https://www6.inra.fr/maladies-du-bois-vigne_eng/Publications/2014/Ammad-et-al.-2014), 16p.
3. **Amborabé, E., Aziz A., Trotel-Aziz P., Quantinet D., Dhuicq L. et Guy V., (2002).** Stimulation des défenses naturelles de la vigne. Essais d'emploi du chitosan contre *Botrytis cineria*. *Phytoma*, 571,10p.
4. **Amrani B., 2009.** (<http://www.djazairress.com/fr/latribune/18278>) 3-4p.
5. **Anonyme, 2000 b.** <http://www.vignes.be/maladies.htm> , 4p.
6. **Anonyme, 2017a.** <http://lavinification.e-monsite.com/pages/la-culture-de-la-vigne.html> , 3p.
7. **Anonyme, 2017c.**  
[https://www.google.dz/search?q=D%C3%A9doublement+des+rameaux+et+des+vrilles+d%C3%BB+au+court+nou%C3%A9&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj6m8DD26DWAhWD6RQKHXCysQ\\_AUICigB&biw=1366&bih=667#imgsrc=KZoHgHuAWAoMkM:](https://www.google.dz/search?q=D%C3%A9doublement+des+rameaux+et+des+vrilles+d%C3%BB+au+court+nou%C3%A9&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj6m8DD26DWAhWD6RQKHXCysQ_AUICigB&biw=1366&bih=667#imgsrc=KZoHgHuAWAoMkM:), 6p.
8. **Auger et al. 2010; Herche et Gubler, 2010.** <http://www.anova-plus.com/blog/maladies-bois-de-la-vigne-biocontrole/>,9-10p.
9. **Audouin V., 1942.** Histoire des insectes nuisibles à la vigne et particulièrement de la pyrale in BARTIER M., 2012.De l'écologie de *Sparganothis pilleriana* Den. &Schiff. (Lepidoptera, Tortricidae) à la protection intégrée des plantes. Mémoire d'ingénieur. Option : gestion durable du végétal. Institut Supérieur des Sciences Agronomiques, Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage. France, 6p.
10. **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. and Pinkas M. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung.* 1996; 46: 1086-1089,21p.**
11. **Barjot, C., Tournaire, M., Castagnino, C., Vigor, C., Vercauteren, J. & Rossi, J.F., 2007.** Evaluation of antitumor effects of two vine stalk oligomers of resveratrol on a panel of lymphoid and myeloid cell lines: comparison with resveratrol. *Life sciences*, 81(23-24) ,37p.
12. **Bolwell, G.P.(1999).** Role of active oxygen species and NO in plant defence responses.*Curr. Opin. Plant Biol.*2, 287–294, 12p.

13. **Boudon-padiou E., 2000.** Recent advances on grapevine yellows: Detection, etiology, epidemiology and control strategies. 13 th Meeting ICVG. Adelaide, Australia, March 12- 17, 2000. Extended abstracts, 5p.
14. **Carisse O., Bacon R., Lasnier J. et Mcfadden Smith W., 2006.** Guide d'identification des principales maladies de la vigne. Agriculture et Agroalimentaire Canada, 4p.
15. **Camps, C., Kappel, C., Lecomte, P., Léon, C., Gomès, E., Coutos-Thévenot, P. & Delrot, S., 2010.** A transcriptomic study of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Cabernet-Sauvignon) interaction with the vascular ascomycete fungus *Eutypa lata*. *Journal of experimental botany*, 61(6), 19p.
16. **Cartolaro P., 2016.** <https://www6.inra.fr/epiarch/Pathosystemes/Vigne-Oidium> ,5p.
17. **Champagnol F., 1980.** La matière organique des sols de vigne du Midi de la France progrès Agricole et Viticole, 8, 13p.
18. **Chamel A., (1988).** Foliar uptake of chemicals studied with whole plants and isolated cuticles. Neumann P.M. (Ed). Plants growth and leaf-applied chemicals. Boca Raton, FL: CRC Press, 13p.
19. **Chapuis, Laurence, 1995.** *L'eutypiose de la vigne : contribution à l'étude des relations hôteparasite*. Thèse de l'Université Bordeaux II. 39p.
20. **Chassod R., Breuil M-C., Nouaim R., Leveque J. Et Andreux F., (1999).** Des mesures microbiologiques pour évaluer la fertilité des sols viticoles. *Revue des Œnologues*, 95, 9-13p
21. **Cole and Kirskey, 1971; Sasaki et al. 1970.** <file:///C:/Users/leged/Downloads/Colmar-nov2015.pdf>, 9p.
22. **Colmar, 2015.** <file:///C:/Users/leged/Downloads/Colmar-nov2015.pdf>, 10p.
23. **Coombe Et Dry, 1988.** <http://trove.nla.gov.au/work/7525766>, p3.
24. **Del Río, J.A., Gomez, P., Baidez, A., Fuster, M.D., Ortuno, A. & Frias, V., 2004.** Phenolic compounds have a role in the defence mechanism protecting grapevine against the fungi involved in Petri disease. *Phytopathologia Mediterranea*, 43(1), 23-38p.
25. **Denman et al. 2000, Crous et al. 2006.** <file:///C:/Users/leged/Downloads/Colmar-nov2015.pdf>, 9p.

26. **Djoukeng, J.D., Polli, S., Larignon, P. & Abou-Mansour, E., 2009.** Identification of phytotoxins from *Botryosphaeria obtusa*, a pathogen of black dead arm disease of grapevine. *European Journal of Plant Pathology*, 124(2), 9-22-24-38p.
27. **Dorey S, Baillieul F, Pierrel MA, Saindrenan P, Fritig B, Kauffmann S. Spatial and temporal induction of cell death, defense genes, and accumulation of salicylic acid in tobacco leaves reacting hypersensitively to a fungal glycoprotein elicitor. *Mol Plant-Microbe Interact.* 1997;10:646–655,12p.**
28. **Dubos, 2002.** Maladies cryptogamiques de la vigne : champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne [2e éd. rev. et augm.], Bordeaux: Éd. Féret ,7p.
29. **Fravel D.R., 2005.** Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43, p13.
30. **Galet, 1995.** Précis de viticulture. 6ème éd. Dehan. Montpellier. 1p.
31. **Gourgazaud, 2016.** <https://www.syngenta.fr/traitements/pyrale-de-la-vigne>, 6p.
32. **Groult J.M., 2008.**  
[https://www.google.dz/search?q=cochenille+farineuse+de+vigne&tbm=isch&imgil=K9P\\_KIzzyAuRAM%253A%253BtQ2S0ppeT47zDM%253Bhttp%25253A%25252F%25252Fwww.vitisphere.com%25252Factualite-68844-une-maladie-qui-se-propage-en-france-et-qui-inquiete-les-chercheurs.htm&source=iu&pf=m&fir=K9P\\_KIzzyAuRAM%253A%252CtQ2S0ppeT47zDM%252C\\_&usg=\\_\\_3UaXQuZHukwyTVZhEICS4R-nR1c%3D&biw=1366&bih=667&ved=0ahUKEwikzsSLqbvVAhUDrRQKHQNaBvMQyjcIPg&ei=UjmDWaTdNoPaUoO0mZgP#imgdii=jjK5To4I7QFVdM:&imgrc=RijD7-F7MoZXOM:](https://www.google.dz/search?q=cochenille+farineuse+de+vigne&tbm=isch&imgil=K9P_KIzzyAuRAM%253A%253BtQ2S0ppeT47zDM%253Bhttp%25253A%25252F%25252Fwww.vitisphere.com%25252Factualite-68844-une-maladie-qui-se-propage-en-france-et-qui-inquiete-les-chercheurs.htm&source=iu&pf=m&fir=K9P_KIzzyAuRAM%253A%252CtQ2S0ppeT47zDM%252C_&usg=__3UaXQuZHukwyTVZhEICS4R-nR1c%3D&biw=1366&bih=667&ved=0ahUKEwikzsSLqbvVAhUDrRQKHQNaBvMQyjcIPg&ei=UjmDWaTdNoPaUoO0mZgP#imgdii=jjK5To4I7QFVdM:&imgrc=RijD7-F7MoZXOM:), 7p.
33. **Hammond-Kosack, K.E., and Jones, J.D.G. (1 996).** Resistance gene-dependent plant defense responses. *Plant Cell*, 12p.
34. **Hattenschwiler, S. & Vitousek, P.M., 2000.** The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends in Ecology and Evolution*, 15(6). 10p
35. **Hassan H S A., Sarrwy S M A., Mostafa E A M., (2010).** Effect of foliar spraying with liquid organic fertilizer, some micronutrients, and gibberellins on leaf mineral content, fruit set, yield, and fruit quality of Hollywood plum trees. *Agriculture and Biology Journal of North America*. Issn Print: 2151-7517, ISSN Online: 2151-7525. Dokki, Giza, Egypt 14p.

- 36. Heller R., 1969.** Biologie végétale .II. Nutrition et Métabolisme, Ed. Masson, Paris, 13p.
- 37. Huglin P., et Schneidier C., 1998.** Biologie et écologie de la vigne, 2eme éd. Lavoisier TEC & DOC. N° 260. Paris. 3p.
- 38. Kuntzmann et al. 2010.** Villaume, S., Larignon, P. & Bertsch, C. 2010. Esca, BDA and Eutypiosis: foliar symptoms, trunk lesions and fungi observed in diseased vinestocks in two vineyards in Alsace. *Vitis*, 49(2), 8p.
- 39. Larignon, P. et al. 2001.** Contribution à l'identification et au mode d'action des champignons associés au syndrome de l'Esca de la Vigne. Thèse de l'Université de Bordeaux 2, 8-28.
- 40. Lambert C., 2011.** Étude du rôle des stilbènes dans les défenses de la vigne contre les maladies du bois, Doctorat de l'université Bordeaux 2, Mention : Sciences, Technologie, Santé, Option : Œnologie, 1-8-7-9p.
- 41. Lamb DC, et al. (1997)** The mutation T315A in *Candida albicans* sterol 14 $\alpha$ -demethylase causes reduced enzyme activity and fluconazole resistance through reduced affinity. *J Biol Chem* 272(9):5682-8, 12p.
- 42. Lecomte, P., Darrietort G., Dfives, A., Louvet, G., Liminana, J.M. & Blancard, D. 2006.** Observations of Black Dead Arm symptoms in Bordeaux vineyards: evolution of foliar symptoms, localisation of longitudinal necroses, questions, hypotheses. *IOBC WPRS Bulletin*, 29(11), 8p
- 43. Lepoivre, P, 2003.** <https://www.chapitre.com/BOOK/lepoivre-philippe/phytopathologie,1356129.aspx> , 11p.
- 44. Link, K.P., Angell, H. & Walker, J., 1929.** The isolation of protocatechuic acid from pigmented onion scales and its significance in relation to disease resistance in onions. *Journal of Biological Chemistry*, 81(2), 39p.
- 45. Lizzy Y., Coulomb C., Polian C., Coulomb J P Et Coulomb P O., (1998).** La défense des végétaux, N 508, PHYTOMA, 13p.
- 46. Mazullo, A., Di Marco, S., Osti, F. & Cesari, A., 2000.** Bioassays on the activity of resveratrol, pterostilbene and phosphorous acid towards fungi associated with esca of grapevine. *Phytopathologia Mediterranea*, 39p.
- 47. Mehdy, M.C. (1994).** Active oxygen species in plant defense pathogens. *Plant Physiol.* 105, 12p.
- 48. Morel R., (1989).** Les sols cultivés. Editions Tec & Doc, Lavoisier, 8-12p.

- 49. Moreno A. et Paoletti M G., (2002).** Andiorhinus kurun. Sp., one giant earthworm (Oligochaeta: Glossoscolecidae) food resource for makiritare Indians of the alto rio Padamo, Amazonas, Venezuela. Presented at the seventh International Symposium on Earthworm Ecology, Cardiff, 13p.
- 50. Mugnai et al. 1999. Mugnai, L., Graniti, A. & Surico, G., 1999.** Esca (black measles) and brown wood-streaking: Two old and elusive diseases of grapevines. *Plant disease*, 83(5), 8p.
- 51. Nascimento, T., Rego, C. & Oliveira, H., 2007.** Potential use of chitosan in the control of grapevine trunk diseases. *Phytopathologia Mediterranea*, 46(2). 11p
- 52. Newman, MA., von Roepenack-Lahaye, E., Parr, A., Danies, MJ. and Dow, JM., (2002).** Prior exposure to lipopolysaccharide potentiates expression of plant defenses in response to bacteria. *Plant J.* **29** (4): 38p.
- 53. Niber B A., (1994).** The ability of powders and slurries from ten plant species to protect stored grain from attack by *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 30,12p.
- 54. Pajot; E., Maurice S, Guerrand J, Chirapongsatunkul N, Ruffray P.; Maxant F et Méric H, (2007).** TTF5, fertilisant pouvant stimuler des défenses naturelles de plantes contre des pathogènes Sur tabac, fraise et vigne, travaux sur un mélange PHYTOMA. *La Défense des Végétaux N 603* Avril, 38p.
- 55. Pajot E., (2010).** « Les Stimulateurs des Défenses Naturelles en Production Végétale : Mythe ou Réalité ? » , XVI Rencontres Professionnelles. Ep Valinov-VEGEPOLYS. Rittmo. Colmar, 1-38-39p.
- 56. Paoletti M G., Dufour D L., Torres F., Pizzoferrato L., & Pimentel D., (2000).** The importance of leaf- and litter-feeding invertebrates as sources of animal protein for the Amazonian Amerindians. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267, 13p.
- 57. Pennycook and Samuels, 1985,** file:///C:/Users/leged/Downloads/Colmar-nov2015.pdf, 9p.
- 58. Perez marin J.L., 2007.** Champignons in les parasites de la vigne, stratégies de protection raisonné. Ed. La vigne. DUNOD N° 5100. Paris. 4p.
- 59. Phillips, AJL, 1998.** *Botryosphaeria dothidea* and other fungi associated with excoriose and dieback of grapevines in Portugal. *Journal of Phytopathology*, 146(7), 8p.



- 60. Pieterse, CMJ., van Wees, SCM., van Pelt, J.A., Knoester, M., Laan, R., Gerrits, H., Weisbeek, P.J. & van Loon, L.C., 1998.** A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *The Plant Cell Online*, 10(9), 12-37p.
- 61. Pozo, MJ., Cordier, C., Dumas-Gaudot, E., Gianinazzi, S., Barea, JM. And Azcon-Aguilar, C., (2002).** Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to phytophthora infection in tomato plants. *J Exp Bot.* **53** (368): 525-534, 38p.
- 62. Rees R., And Castle K., (2002).** Nitrogen recovery in soils amended with organic manures combined with inorganic fertilizers. *Agronomie*, 13p.
- 63. Rodrigues Perez M., 2007.** Pyrale de la vigne (*Sparganothis pilleriana* Schiffermuller) in les parasites de la vigne, stratégies de protection raisonné. Editions. La vigne. Ed. DUNOD. N° 5100. Paris, 6p.
- 64. Ryals, J.A., Neuenschwander, U.H., Willits, M.G., Molina, A., Steiner, H.Y., Hunt, M., 1996.** Systemic acquired resistance. *The Plant Cell*, 8(10), 12p.
- 65. Santos-Oliveira J F., Passos De Carvalho J., Bruno De Sousa R F X, & Madalena Siano M., (1976).** The nutritional value of four species of insects consumed in Angola. *Ecol. Food Nutr.* 14p.
- 66. Schnee S., 2009.** Facteurs de résistance à l'oidium (*Erysiphe necator* Schwein.) chez la vigne (*Vitis vinifera* L.). Thèse de doctorat de la Faculté des Sciences. Plantsurvival National Centre Compétences in Research. Université de Neuchâtel. France, 4p.
- 67. Shoemaker, 1964,** file:///C:/Users/leged/Downloads/Colmar-nov2015.pdf, 9p.
- 68. Shigo, A.L. & Marx, H.G., 1977.** Compartmentalization of decay in trees. *Agricultural Information Bulletin*, 405, 11p.
- 69. (Singleton Et Al, 1999)** [Http://Www.Memoireonline.Com/11/13/7937/M\\_Dosage-Des-Polyphenols-De-La-Tomate-Et-Etude-De-Leur-Pouvoir-Anti-Oxydant25.Html](http://Www.Memoireonline.Com/11/13/7937/M_Dosage-Des-Polyphenols-De-La-Tomate-Et-Etude-De-Leur-Pouvoir-Anti-Oxydant25.Html), 2p.
- 70. Slippers and Wingfield, 2007.** file:///C:/Users/leged/Downloads/Yacoub.pdf , 8p.
- 71. Smith E. H. 1996.** The grape phylloxera, a celebration of its own. *American Entomologist*, vol 38, 9p.

- 72. Sticher, L., Mauch-Mani, B. and Metraux, JP. (1997).** Systemic acquired resistance. *Annu Rev Phytopathol*, 38p.
- 73. Spagnolo, A., Marchi, G., Peduto, F., Phillips, A.J.L. & Surico, G., 2011.** Detection of Botryosphaeriaceae within grapevine woody tissue by nested PCR, with particular emphasis on the *Neofusicoccum parvum/N. ribis* complex. *European Journal of Plant Pathology*, 129,8p
- 74. Thuries L., Arrufat A., Dubois M., Feller C., Herrmann P., Larre-Larrouy M-C., Martin C., Pansu M., Remy J-C. Et Viel M., (2000).** Influence d'une fertilisation organique et de la solarisation sur la productivité maraîchère et les propriétés d'un sol sableux sous abri. *Etude et Gestion des Sols*, 7,7, 9-13p..
- 75. Toledo panos J., 2007.** Cochenille farineuse de la vigne (*Pseudococcus citri*, Risso) in les parasites de la vigne, stratégies de protection raisonné. Ed. DUNOD. N°5100. Paris, 7p.
- 76. Ton, J., D'Alessandro, M., Jourdie, V., Jakab, G., Karlen, D., Held, M., Mauch-Mani, B. and Turlings, TCJ., (2007).** Priming by airborne signals boosts direct and indirect resistance in maize. *Plant J.* **49** (1), 38p.
- 77. Troccoli, L., Calamassi, R., Mori, B., Mugnai, L. & Surico, G., 2001.** *Phaeomoniella chlamydospora*-grapevine interaction: histochemical reactions to fungal infection. *Phytopathologia Mediterranea*, 40(3),39p.
- 78. Urbez-Torres et al, 2006.** Urbez-Torres, J.R., Leavitt, G. M., Voegel, T. M. & Gubler, W. D., 2006. Identification and Distribution of *Botryosphaeria* spp. Associated with Grapevine Cankers in California. *Plant Disease*, 90,8-9p.
- 79. Van Niekerk et al. 2006.** *Botryosphaeria* spp. as grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, 45(4), 8p.
- 80. Wojtaszek, P.(1997),** The oxidative burst: a plant's early response against infection. *Biochem. J.* 322, 4158–4163, 12p.
- 81. Yobregat O., 2010.** Les fiches pratiques: La production de plants de vigne en pépinières. Institut Français de la Vigne et du Vin de Midi-Pyrénées. France, 5p.

# **Annexes**

## Annexe

### Préparation de milieu de culture :

- On prend 500 g de pomme de terre on les fait bouillir dans 1 litre d'eau distillée, puis on récupère le jus en rajoutant de l'eau distillée pour obtenir 1 litre en tout.
- En ajoute encore 20g de glucose et 20g d'Agar et agiter.
- On met les flacons dans une cocotte minute, on attend 20 minutes après le soufflement de la cocotte et on éteint le feu et on attend jusqu'à le refroidissement des flacons.
- En fin on les renverse dans des boites de pétrie.



**Des boites de pétrie contiennent le milieu de culture (Original, 2017)**