



République Algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Blida 1
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département des biotechnologies



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master académique en Sciences
de la Nature et de la Vie

Spécialité : Biotechnologies microbiennes

**Évaluation de la réponse chimique de quelques
variétés de vigne au stress biotique**

Présenté par

AHMED MESSAOUD Fatma Zohra

Devant le jury composé de :

H. BENKORTEBY	MAA, Univ, Blida 1	Présidente
D. BENCHABANE	MAA, Univ, Blida 1	Examinatrice
F. AMMAD	MCA, Univ, Blida 1	Promotrice

Année universitaire 2020/2021

Remerciement

Je remercie avant tout Dieu tout puissant, de m'avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

Je remercie ceux qui m'ont confié ce sujet et qui l'ont guidé : Madame AMMAD Faiza, Je tiens par ces quelques mots, à vous témoigner ma sincère reconnaissance pour votre disponibilité, votre investissement et vos encouragements bienveillants.

Enfin, merci pour vos conseils qui n'ont jamais fait défaut et aussi pour votre orientation.

Mes remerciements vont également à l'ensemble des membres du jury qui ont accepté d'examiner mon travail.

Mesdames, AMMAD Faiza comme promotrice, BENCHABANE Dalila à accepter d'être examinatrice et Mme. BENKORTEBY à présider ce jury, pour l'intérêt que vous allez certainement porter à ce travail par vos précieux conseils qui vont permettre une discussion enrichissante. Trouvez ici l'expression de mes profonds remerciements.

Ce travail n'aurait pu se faire sans les collaborations établies au cours de ce mémoire. Je remercie BELKACEM Nourelhouda d'avoir me suivre durant l'expérimental ainsi que madame BRAHIMI Latifa, je vous remercie.

Merci à tous les membres actuels et anciens de l'université BLIDA 1. En particulier Mr BENCHABANE le chef d'option et Pr KRIMI. Au-delà de l'expérience professionnelle, ces cinq années ont été humainement riche. Cela était un vrai plaisir de partager mes années de formation avec vous. J'espère retrouver cette ambiance de travail dans le futur.

Je réserve mes derniers remerciements à mes proches.

A mes amis, Yasmine, Ferial, et tous les étudiants de la promotion Master 2 Biotechnologie microbienne.

A mes parents qui m'ont permis de faire ces études dans des conditions idéales et m'ont toujours écoutée et soutenue, A ma seure Meriem et mon frère Ahmed pour avoir égayé mon mémoire de moments de bonheur ainsi que mes chères cousines Lily et Amira. Je vous exprime mes sincères remerciements.

Résumé

Évaluation de la réponse chimique de quelques variétés de vigne au stress biotique

La vigne est sensible aux maladies vasculaires fongiques qui sont considérées comme très dommageables pour la pérennité du patrimoine viticole. Dans le cadre de l'évaluation de la réponse chimique de quelques variétés de vigne au stress biotique, cette étude a porté sur l'inoculation de quelques variétés autochtones, adaptés et sur des porte-greffes par deux espèces de *Botryosphaeria sp.* Les résultats de ce test de pathogénicité *in situ* a permis l'apparition des lésions au bout de sept semaines, les lésions enregistrés sur les cépages inoculés ont été presque identique, une légère différence a été enregistré entre les cépages autochtone (Tourki et Amellal) et les cépages adaptés, alors que des faibles lésions ont été noté sur les portes greffe et juste un léger brunissement autour du point d'incision est noté sur les témoins.

Aucune différence n'a été relevé sur la virulence des deux espèces de *Botryosphaeria sp* testées, ils ont induit presque les mêmes longueurs de lésion, par contre une nette augmentation dans les longueurs de lésions dans le temps.

Les boutures blessées et infecté ont montré un bon développement de système racinaire, la longueur des racines la plus importante est enregistré sur les deux cépages locales (Tourki et Amellal) en comparaison avec les autres cépages.

Mots clés : Cépages - dépérissement de la vigne- *Botryosphaeria sp*- lutte biologique- défense naturelle

Abstract

Evaluation of the chemical response of some grapevine varieties to biotic stress

The vine is sensitive to several types of vascular diseases which are considered very damaging for the sustainability of the vineyard heritage. In the framework of bio protection and biostimulation and for the research of new control methods against these diseases of vine decline, this study focused on the inoculation of some autochthonous varieties, adapted and on rootstocks by two species of *Botryosphaeria sp.* The results of this *in situ* pathogenicity test allowed the appearance of lesions after seven weeks, the lesions recorded on the inoculated varieties were almost identical, a slight difference was recorded between the autochthonous varieties (Tourki and Amellel) and the adapted varieties, while weak lesions were noted on the rootstocks and just a slight browning around the point of incision was noted on the controls.

No difference was found on the virulence of the two species of *Botryosphaeria* sp tested, they induced almost the same lesion lengths, however a clear increase in lesion lengths over time.

The injured and infected cuttings showed a good development of root system, the most important root length is recorded on two local grape varieties (Tourki and Amellal) in comparison with the other grape varieties.

Keywords: Grapevine - vine decline - *Botryosphaeria* sp- biological control - natural defense

الملخص

تقييم الاستجابة الكيميائية لبعض أصناف العنب للإجهاد الحيوي

تعد أشجار العنب جد حساسة لعدة أنواع من أمراض الأوعية التي تعتبر ضارة جدًا. في إطار تقييم الاستجابة الكيميائية لبعض أصناف العنب للإجهاد الحيوي، ركزت هذه الدراسة على تلقيح بعض الأصناف المحلية والأصناف المكيفة من العنب والطعوم الجذرية بنوعين من الفطر الممرض *Botryosphaeria* sp.

سمحت نتائج اختبار الأمراض من ناحية بظهور أطوال الآفات بعد سبعة أسابيع من المتابعة حيث تم تسجيل اختلاف طفيف بين أصناف العنب الأصلية (توركي واملال) وأنواع العنب المكيفة، بينما لوحظ وجود أطوال آفات ضعيفة على الطعوم الجذرية ولوحظ تحوّل طفيف حول نقطة الشق في الشواهد لم يلاحظ أي اختلاف في ضراوة نوعي الفطر المختبرين، فقد تسببوا في نفس أطوال الآفة تقريبًا، ومن ناحية أخرى تم زيادة ملحوظة في أطوال الآفة بمرور الوقت.

تم تسجيل نمو جذري واضح على بعض أصناف المصابة حيث تم تسجيل أطول جذور جيدة جذر على الصنفين المحليين من العنب (التوركي واملال) مقارنة بأصناف العنب الأخرى في نفس الوقت لم نسجل أي نمو للجذور على الطعوم الجذرية وعلى الشواهد.

الكلمات المفتاحية: أصناف العنب - موت الكرمة - المكافحة البيولوجية - الدفاع الطبيعي

Liste des abréviations

BDA: Black Dead Arm

CNCC : Le centre national de contrôle et de certification (CNCC)

ET : L'éthylène

G.L.M : modèle linéaire général.

HR : La réponse hypersensible

ISR : La résistance systémique induite

ITAFV : Institut Technique de l'Arboriculture fruitière et de la vigne

ITS : Internal Transcribed spacer

JA : l'acide jasmonique

LAR : La résistance locale acquise

LPS : lipopolysaccharides des bactéries

LR : Longueur du système racinaire.

MAMP: Microbe-Associated Molecular Pattern

MeJA: Le méthyljasmonate

MIMP: Microbe-Induced Molecular Pattern

NF : Nombres de feuilles.

OIV : l'organisation internationale de la vigne et du vin

PDA: Potato Dextrose Agar

PR: Pathogenesis Related

PRR : Pattern Recognition Receptor

SA : L'acide salicylique

SAR : La réponse systémique acquise

SDN : Stimulateurs de défenses naturelles

TMV : Le virus de la mosaïque du tabac

Liste des figures

Figure 1	Symptômes externes d'esca sur <i>Vitis vinifera</i>	08
Figure 2	L'aspect tigré du BDA sur des feuilles chez un cépage noir (Cabernet Sauvignon)	11
Figure 3	Taches rouge vineux, aspect léopardé et tigré chez un cépage noir (Cabernet- Sauvignon)	11
Figure 4	L'aspect tigré et les zones nécrotiques chez un cépage blanc (Sauvignon)	12
Figure 5	Aspect tigré des feuilles chez un cépage blanc (Chardonnay).....	12
Figure 6	Les différents stades de tigrures et les différentes zones nécrotiques chez un cépage noir (Cabernet-Sauvignon)	13
Figure 7	Feuilles situées le long du même rameau chez un cep de Mourvèdre atteint par la Botryosphaeriose.....	14
Figure 8	Les symptômes foliaires de l'esca dans le bois.....	14
Figure 9	La forme lente et la forme sévère liée aux <i>Botryosphaeriaceae</i>	15
Figure 10	Nécroses sectorielles liées au <i>Diplodia seriata</i>	15
Figure 11	Les différents symptômes de dépérissement d'un cep eutypié.....	17
Figure 12	Le dessèchement d'inflorescences et millerandage des grappes.....	17
Figure 13	La nécrose sectorielle de l'eutypiose.....	17
Figure 14	Aspect macroscopique des deux <i>Botryosphaeriaceae sp</i>	31
Figure 15	Le développement des lésions durant les 7 semaines d'inoculation d'une bouture de la variété introduite Muscat Italie par les deux <i>Botryosphaeria sp</i>	35
Figure 16	Le développement des lésions durant les 7 semaines d'inoculation d'une bouture de la variété introduite Amellal par les deux <i>Botryosphaeria sp</i> ..	36
Figure 17	Le développement des lésions durant les 7 semaines d'inoculation d'une bouture de la variété introduite Tourki par les deux <i>Botryosphaeria sp</i> ...	37
Figure 18	Le développement des lésions durant les 7 semaines d'inoculation d'une bouture de la variété introduite Victoria par les deux <i>Botryosphaeria sp</i> ..	38

Figure 19	Le développement des lésions durant les 7 semaines d'inoculation d'une bouture du porte greffe SO4 par les deux <i>Botryosphaeria sp.</i>	39
Figure 20	Le développement des lésions durant les 7 semaines d'inoculation d'une bouture du porte-greffe 1103P par les deux <i>Botryosphaeria sp.</i>	40
Figure 21	Les longueurs des lésions provoquées sur les boutures de vigne traitées...	42
Figure 22	Les longueurs des racines enregistrés sur les boutures de vigne traitées...	44
Figure 23	Le ré-isollement des deux <i>Botryosphaeria sp.</i>	45

Liste des tableaux

Tableau 1	Sensibilité des cépages de <i>Vitis vinifera</i> à l'eutypiose, à l'esca et au Black Dead Arm	06
Tableau 2	Origine et caractéristiques du matériel végétal utilisé.....	27
Tableau 3	Origine des souches fongiques.....	28
Tableau 4	Longueur des nécroses sur des boutures de vigne après 7 semaines d'inoculation Par <i>Botryosphaeria</i> sp.....	34
Tableau 5	Les longueurs des lésions provoquées sur les boutures traitées en fonction des : variétés, agents fongiques et en fonction du temps.....	41
Tableau 6	Longueurs des racines après sept semaines d'inoculation avec les deux <i>Botryosphaeria</i> sp.....	43
Tableau 7	Longueurs des lésions provoquées sur les boutures de vigne traitées en fonction : Variétés, agents fongiques et temps.....	44

Sommaire

Introduction.....	01
Chapitre I : Etude bibliographique.....	03
1 Généralité et importance économique.....	03
2 Les maladies du bois de la vigne.....	04
3 Les principales maladies fongiques du vignoble.....	05
4 Mécanisme de défense chez les plantes.....	18
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	26
1 Objectifs.....	26
2 Site expérimental.....	26
3 Matériel biologique.....	26
4 Milieu de culture et purification des champignons.....	28
5 Inoculation du matériel végétal.....	28
6 La longueur du système racinaire.....	29
7 Ré-isolément.....	29
8 Analyse statistique.....	30
Chapitre III : Résultats et discussion	31
I Caractérisation macroscopique et microscopique de l'agent pathogène.....	31
II La réponse des boutures de la vigne au stress biotique.....	32
1 Descriptif symptomatologique.....	32
2 Etude comparative de l'inoculation des cépages de vigne par les deux <i>Botryosphaeria sp</i>	41
3 Evaluation de la phytostimulation.....	43
4 Etude comparative de la longueur des racines des cépages de vigne inoculées par les deux <i>Botryosphaeria sp</i>	43
5 Le ré-isolément des deux <i>Botryosphaeria sp</i>	45
6 Discussion.....	45
Conclusion et perspective	48
Référence bibliographiques	50
Annex I.....	58

Introduction

La vigne est une plante dont l'importance économique est de premier plan pour de nombreux pays, particulièrement en Algérie.

En effet, l'Algérie est dotée d'un patrimoine viticole très diversifié constitué, hormis les cépages classiques, d'un grand nombre de variétés autochtones réparties essentiellement en zone de montagnes. On assiste malheureusement à une forte régression de ces vignes locales où elles n'existent actuellement que sous forme de vieilles collections (germoplasmes), situées dans des stations expérimentales telle que l'Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne (ITAF) de Benchicao à Médéa.

La vigne est très sensible aux maladies vasculaires. En une trentaine d'années, les maladies du bois, d'origine fongique, sont devenues une préoccupation majeure pour les viticulteurs. 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, car il n'existe pas de solution curative.

Le Black Dead Arm (BDA), le syndrome de l'esca et l'eutypiose sont parmi les maladies vasculaires fongiques de la vigne majoritaire dans le monde. Le caractère insidieux de ces maladies tient en trois points principaux : l'internalisation des agents pathogènes, une phase de latence plus ou moins longue avant l'apparition des symptômes et une manifestation irrégulière de ces derniers en fonction des années. Plusieurs agents entrent en jeu, compliquant un peu plus la compréhension de ces maladies.

Ces dernières années, les efforts fournis en matière de recherche sur ces maladies ont été considérables : étude des agents pathogènes, des modes d'infection, des relations hôtes-parasites et des méthodes de lutte. Néanmoins les interrogations restent nombreuses. Si l'existence de cépages plus ou moins sensibles aux maladies du bois est un fait couramment observé, l'explication de ces différentes sensibilités n'a jamais réellement été apportée. Une des hypothèses qui pourrait être avancée, repose sur la présence en quantités plus élevées de composés antimicrobiens constitutifs et/ou induits dans les tissus ligneux des plantes tolérantes. Chez la vigne, de tels composés sont susceptibles d'appartenir à la famille des composés phénoliques. Ils sont connus pour leurs propriétés antifongiques contre les champignons pathogènes. Le rôle de ces composés phénoliques dans la résistance des espèces ligneuses aux pourritures du bois a été étudié assez largement et leur possible implication dans la tolérance de la vigne aux maladies du bois est étayée par de récentes études. L'influence de certains

composés sur la croissance des champignons impliqués dans les maladies du bois a notamment été démontrée. De plus, des composés phénoliques s'accumulent au niveau des zones nécrosées de ceps atteint de ces maladies, suggérant que ces composés puissent être défensifs et donc impliqués dans la lutte biologique et la bio protection de la vigne contre le dépérissement.

L'intérêt de cette étude s'est porté sur l'évaluation du niveau de résistance de quatre cépages et deux portes greffe vis-à-vis des agents causals de (BDA), dont deux cépages autochtone (Tourki et Amellel), deux cépages cultivés localement est adaptés en Algérie (Muscat et Victoria).

Chapitre I

Etude bibliographique

1. Généralités et importance économique de la vigne

La vigne cultivée, *Vitis vinifera sativa*, ainsi que les espèces du genre *Vitis*, sont des plantes pérennes angiospermes dicotylédones de la famille des Vitaceae. Cette famille concerne une douzaine de genres pour environ 700 espèces. La multiplication de la vigne peut être assurée par voie sexuée ou asexuée (bouturage et greffage). Elle est largement répandue dans les zones tropicales et tempérées à travers le monde. Les vignes cultivées sont toutes du genre *Vitis* qui est composé d'environ quatre-vingts espèces plus ou moins bien définies et qui se répartissent sur le continent Américain (55%), en Europe (1%) et en Asie (44%) (OIV, 2021).

La vigne est cultivée pour ses fruits charnus, les baies de raisin qui peuvent être consommées comme fruit frais ou secs, Ces dernières permettent la préparation du jus de raisin, l'élaboration du vin, la distillation de liqueurs. L'établissement d'un vignoble nécessite quelques années avant son entrée en pleine production, il faut attendre trois ans pour obtenir les premiers fruits, 10 à 12 ans pour avoir un rendement significatif, et 25 ans pour arriver à la pleine production. La qualité organoleptique augmente avec l'âge du cep.

A l'échelle mondiale, *Vitis vinifera* est l'espèce viticole la plus commune et la plus importante au niveau économique (Aradhya *et al.*, 2003). C'est l'arbre fruitier le plus cultivé au monde avec près de 7500000 hectares en 2016 (OIV, 2021). Le vin représente un héritage culturel qui s'est perpétué depuis des millénaires en Europe, et s'est ensuite implanté sur d'autres continents. Il existe une grande diversité de cépages, d'assemblages greffon / porte-greffe, de climats, de sols, de pratiques culturales et de procédés de vinification. La combinaison de ces différents facteurs est la source de l'identité organoleptique des vins provenant des différentes régions vitivinicoles dans le monde.

La superficie du vignoble Algérien est d'environ 73.400 ha, les grandes régions viticoles sont situées au nord et au centre du pays. Depuis l'indépendance, le secteur viticole algérien a connu des bouleversements profonds engendrés par des mutations d'ordre politique et socio-économique. Les surfaces cultivées ont considérablement diminué suite à des arrachages et à la faiblesse de production.

Selon les données obtenues auprès des services de production du Ministère de l'Agriculture et du Développement rural (2014), il apparaît clairement un regain d'intérêt envers cette culture.

En effet, les surfaces viticoles progressent d'année en année en s'orientant plus vers les raisins de table avec une diversification variétale.

En effet, la vigne est sensible à de nombreuses maladies dues à divers agents pathogènes : virus, phytoplasmes, bactéries, insectes et champignons. Néanmoins, la majorité des pesticides utilisés en viticulture sont des fongicides. En moyenne, 7 à 19 traitements sont appliqués par parcelle au cours d'une saison (Agreste). Les principales maladies visées par ces traitements sont le mildiou et l'oïdium et dans une moindre mesure la pourriture grise qui sont respectivement dues aux agents *Plasmopara viticola*, *Erysiphene cator* et *Botrytis cinerea*. Ces affections atteignent les organes herbacés de la vigne et peuvent être maîtrisées en conjuguant une prophylaxie et un usage des traitements chimiques. Cependant, depuis une vingtaine d'années des maladies cryptogamiques touchant les vaisseaux conducteurs de sève de la vigne ont émergés.

2. Les maladies du bois de la vigne

Les maladies du bois sont classées parmi les maladies vasculaires les plus préoccupantes aujourd'hui, qui sont aussi appelées maladies du flétrissement ou de dépérissement, correspondent à des atteintes du système des végétaux par des microorganismes (champignons, bactéries) (Larignon, 2016).

Les maladies vasculaires fongiques sont considérées comme très dommageables pour la pérennité du patrimoine viticole, car elles attaquent les organes pérennes de la vigne (Larignon, 2009), Elles sont dues à un ou plusieurs champignons capables de se développer dans les vaisseaux du xylème, provoquant 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 (Lambert, 2011).

3.1. La symptomatologie des maladies vasculaires fongiques

Ces maladies peuvent toucher les jeunes plantations et les vignes plus âgées. 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 (Lambert, 2011). Elles peuvent se caractériser par des formes plus ou moins sévères allant jusqu'à l'apoplexie ou par des formes lentes conduisant à l'affaiblissement progressif de la plante (perte de vigueur), pour aboutir à la mort d'une de ses parties (coursons, bras), puis à sa totalité.

Elles se manifestent par différentes symptomatologies au niveau de la partie herbacée. Sur les feuilles se traduisant par quelques taches ou par des zones beaucoup plus importantes donnant un aspect de tigrure à la feuille, soit par des rabougrissements de la végétation (Larignon, 2016). Selon leur gravité ou la période pendant laquelle elles se manifestent, elles peuvent toucher les inflorescences ou les fruits. Ces derniers peuvent ne pas atteindre leur maturation, se dessécher ou encore prendre un aspect millerandé. Les fruits peuvent aussi se tacher rendant ainsi non commercialisable (les raisins de table).

Dans le bois, ces maladies se traduisent par différentes nécroses sectorielles et/ou centrales qui sont plus ou moins développées allant de quelques vaisseaux obstrués jusqu'à la formation de chancres dans le tronc et les bras et au niveau foliaire par des décolorations et des dessèchements qui peuvent être foudroyants. Le bois peut présenter différents aspects de dégradation (Larignon, 2016).

Il est également possible d'observer la mort de la plante sans qu'il y ait expression de symptômes visibles. Les effets de ces maladies du bois seront nombreux à moyen terme : elles entraîneront soit une dépréciation de la qualité des vins suite à un rajeunissement des parcelles, soit une perte de la typicité d'un vin d'une région viticole suite à la non replantation des cépages les plus sensibles.

3. Les principales maladies fongiques du vignoble

Le vignoble regroupe trois principales maladies fongiques du bois au niveau mondial : l'eutypiose, l'esca et le Black Dead Arm (BDA) (Larignon et al, 2009).

Les agents impliqués appartiennent à plusieurs espèces dont : *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeocremonium aleophilum*, *Eutypa lata*, *Fomitiporia mediterranea*, *Botryosphaeria obtusa*, *Neofusicoccum parvum* et *Botryosphaeria stevensii* sont les principales espèces isolées associées au dépérissement de la vigne (Larignon et al., 2009).

A partir des données de l'observatoire des maladies du bois, une classification des cépages en fonction de leur sensibilité à l'eutypiose, à l'esca et au BDA a été réalisée. Le Tableau 1 présente ces résultats.

Tableau I : Sensibilité des cépages de *Vitis vinifera* à l'eutypiose (A), à l'esca et au BDA (B) (Larignon, 2009)

L'incidence de la maladie est <2% pour les tolérants, de 2 à 5% pour les sensibles et >5% pour les très sensibles).

A

Tolérants :	Sensibles :	Très sensibles :
Melon	Muscat petit grain	Cabernet sauvignon
Savagnin	Pinot noir	Chenin
Riesling	Gamay	Sauvignon
Gewurztraminer	Chardonnay	Ugni blanc
Poulsard	Cinault	
Trousseau	Pinot auxerrois	
Merlot	Syrah	
Carignan		

B

Tolérants :	Sensibles :	Très sensibles :
Pinot noir	Chardonnay	Chenin
Syrah	Pinot auxerrois	Cinsault
Grenache	Cinsault	Riesling
Merlot		Cabernet sauvignon
Carignan		Gamay
Muscat petit grain		Ugni blanc
		Gewurztraminer
		Melon
		Sauvignon
		Savagnin

3.1. L'esca

L'esca, maladie cryptogamique, décrite sous le nom de pourriture, présente dans les vignobles de l'hémisphère Nord, notamment en Algérie (Berraf et Péros, 2005 ; Larignon, 2016).

➤ Les agents pathogènes

Les principaux agents pathogènes du complexe fongique responsable de L'esca sont : *Fomitiporia mediterranea*, *Phaeoconiella chlamydospora* et *Phaeoacremonium aleophilum*. D'autres champignons ont été associés à l'esca : *Cephalosporium spp*, *Eutypa lata*, *Stereum hirsutum* et ainsi que plusieurs Botryosphaeriaceae dont *Diplodia seriata* (Larignon, 2016).

P. chlamydospora, un ascomycète de la famille des Herpotrichiellaceae produit un arsenal d'enzymes impliquées dans la pathogenèse : des polygalacturonases, des polyméthylgalacturonases, des β -glucosidases et des β -1,4-glucanases, des cellulases, des xylanases et des polygalacturonases. Il produit également des composés tels que les exopolysaccharides responsables de sa phytotoxicité, circulant dans la plante, via la sève brute, atteindre les feuilles et les baies où ils causeraient l'apparition des symptômes caractéristiques de l'esca (Lambert,2011).

E. lata est également associé à l'esca. Il a la capacité de dégrader en partie les parois secondaires, contribuerait à la formation de la nécrose brune sectorielle.

Parmi les champignons isolés dans des plants atteints d'esca on retrouve plusieurs Botryosphaeriaceae dont *D. seriata* et *B. dothidea* (Larignon et Dubos,1997).

➤ Symptomatologie de l'esca

Les symptômes externes de l'esca peuvent apparaître sous différentes formes

1). On note une forme lente (Fig. 1A), et une forme foudroyante ou apoplectique (Fig. 1B).



Figure 1 : Symptômes externes d'esca sur *Vitis vinifera*. (Cabernet franc) (Lambert, 2011).

(A) Symptôme foliaire typique de la forme lente. (B) Ceps présentant la forme apoplectique de l'esca

L'apparition des symptômes est précédée par une baisse de l'activité photosynthétique, un changement du métabolisme oxydatif et l'expression de gènes de défense dans les feuilles

(Valtaud *et al.*, 2009). Des symptômes peuvent aussi être observés sur les baies, sous la forme de taches sombres violacées « Black Meastle » et du flétrissement des baies de raisin (Mugnai *et al.*, 1999).

La forme lente de l'esca est caractérisée par des digitations jaunes (cépages blancs) ou rouges, bordées de jaune (cépages noirs) entre les nervures qui restent vertes (Larignon *et al.*, 2009) ; Sur les feuilles, des taches jaunes appariées au niveau du limbe, prennent une couleur rougeâtre en leurs centres et fusionnent entre elles, créant ainsi de plus grandes plages. Le limbe rouge est séparé des nervures vertes par un liseré jaune clair. Les feuilles montrent un aspect de tigrure caractéristique (Mugnai *et al.*, 1999 ; Larignon *et al.*, 2009).

La forme apoplectique se caractérise par la présence de digitations internervaires, une perte subite de la turgescence des feuilles, se traduisant par le flétrissement de la totalité de la plante ou d'un rameau (Letousey *et al.*, 2010). Cette forme foudroyante est caractérisée par une chute de l'activité photosynthétique des feuilles une semaine avant son expression (Letousey *et al.*, 2010). Elle se distingue de la forme lente de l'esca par l'absence de liseré jaune dans les premiers stades de l'apparition des symptômes.

➤ **Le développement de l'esca**

Le développement de l'esca commence par la germination des spores de champignons pionniers : *P. chlamydospora* et *P. aleophilum*. Le premier se développe longitudinalement dans le cep pour former une nécrose brune centrale. Le second se développe radicalement depuis la moelle en formant une nécrose brun-rouge puis forme avec *P. chlamydospora* la nécrose brune centrale. Leur mycélium se propage dans le xylème et envahit d'autres vaisseaux et les cellules parenchymateuses adjacentes au travers des parois ponctuées. Leur caractère pionnier tiendrait à leur capacité à se développer dans un milieu riche en composés phénoliques antimicrobiens et à les détoxifier. Dans certains cas, *E. lata* contribue à la phase de colonisation en formant une nécrose brune sectorielle.

Par la suite, *F. mediterranea* va pouvoir coloniser les nécroses brunes centrales ou sectorielles. Son cortège d'enzymes lignolytiques et cellulolytiques vont lui permettre d'achever la dégradation des parois et de donner l'amadou (Lambert, 2011).

3.2. La Botryosphaeriose ou Black dead arm

Le terme Black Dead Arm provient du fait que les tissus du phloème et du xylème des zones ligneuses infectées montrent une coloration noire. Ce terme est utilisé pour désigner des dépérissements liés à des Botryosphaeriaceae. Sa répartition géographique est certainement plus importante, elle est encore trop souvent confondue à la forme lente de « l'esca ».

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). En Algérie, elle était déclarée la première fois en 2014 par Ammad *et al.*

➤ Les agents pathogènes impliqués

Ils sont des ascomycètes de la famille des Botryosphaeriaceae comme *Diplodia seriata* anamorphe de *Botryosphaeria obtusa*, ce champignon est associé à cette maladie au Chili, en Espagne, en France, en Italie et au Portugal. *Diplodia mutila*, il est associé à cette maladie en Hongrie. *Fusicoccum aesculi*, ce champignon est associé à cette maladie en Iran, et *Neofusicoccum parvum* Il est associé à cette maladie en France et au Portugal en 2001, en France, il fut désigné sous le nom de *Botryosphaeria dothidea*, mais ensuite identifié sous son vrai nom (Lambert, 2011 ; Larignon 2016).

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. Ces champignons sont aussi impliqués dans le syndrome de l'esca (Mugnai *et al.*, 1999) et l'excoriose.

La conservation hivernale des agents du Black Dead Arm se fait sous forme de pycnides sur le cep et les bois de taille (Larignon *et al.*, 2001). La dissémination des spores semble plus importante en période végétative (Kuntzmann *et al.*, 2009), les plaies causées par les travaux en vert (épamprage, rognage) sont des voies d'entrée potentielles pour ces agents. Ils ont été détectés en pépinière à la surface et à l'intérieur des porte-greffes et des greffons.

Les Botryosphaeriaceae produisent des toxines polysaccharidiques (Martos *et al.*, 2008) et des dérivés de la mélléine dont la phytotoxicité a été démontrée sur feuille mais n'a pas été reliée directement avec la pathogénicité des souches. L'analyse du protéome de *D. seriata* a mis en évidence des protéines potentiellement impliquées dans la pathogénèse (Cobos *et al.* 2010).

➤ **La symptomatologie du BDA**

Les symptômes foliaires sont caractérisés par des digitations internervaires sans liseré jaune dans les premiers stades de leur apparition.

Cette maladie se manifeste dans le vignoble à partir de la floraison sous plusieurs formes, légère et sévère.

La forme légère est une caractéristique qui permettrait de distinguer esca et BDA, 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).

Elle se manifeste dans les cépages noirs par des taches de couleur rouge vineux sans liseré jaune en bordure ou sur le limbe des feuilles apparaissent initialement puis elles s'agrandissent, laissant une bande verte le long des nervures principales (Fig. 2 et 3).



Figure 2 : L'aspect tigré du BDA sur des feuilles chez un cépage noir (Cabernet Sauvignon) (Larignon, 2016).

A gauche et au milieu à gauche, aspect tigré des feuilles chez un cépage noir (Cabernet-Sauvignon). Au milieu à droite, aspect léopardé de la feuille, des taches nécrotiques bordées par des liserés rouge foncé. A droite, dessèchement de l'inflorescence.



Figure 3 : Taches rouge vineux, aspect léopardé et tigré chez un cépage noir (Cabernet-Sauvignon) (Larignon, 2016).

A gauche, quelques taches rouge vineux à la surface du limbe. Au milieu à gauche, aspect léopardé de la feuille. Au milieu à droite, aspect tigré de la feuille. À droite, jaunissement des derniers tissus qui restaient verts et des nervures.

Pour les cépages blancs, ce sont de petites taches jaunâtres assez vives qui se développent en bordure ou sur le limbe des feuilles. De fortes similitudes avec l'expression de la forme lente de l'esca entraînent certaines confusions (Fig. 4 et 5).



Figure 4 : L'aspect tigré et les zones nécrotiques chez un cépage blanc (Sauvignon) (Larignon, 2016).

A gauche et au milieu, feuille tigrée chez un cépage blanc. A droite, zones nécrotiques délimitées par des zones chlorotiques en bordure d'une feuille



Figure 5 : Aspect tigré des feuilles chez un cépage blanc (Chardonnay) (Larignon, 2016).

Pour les manifestations plus sévères, à la surface du limbe et en bordure de la feuille sont observées des zones nécrotiques plus ou moins développées. Elles résultent d'une perte de turgescence de certaines zones de la feuille (Figure 6 et 7). Pour les cépages noirs, elles prennent une couleur gris-verdâtre alors que pour les cépages blancs elles sont de couleur plutôt gris orangeâtre. A noter qu'une autre forme, dite défoliatrice ou apoplexie lente, est observée dans le vignoble.

Lorsque la forme sévère de la maladie s'exprime, les tiges meurent, les feuilles tombent précocement, les fleurs et les fruits sèchent.



Figure 6 : Les différents stades de tigrures et les différentes zones nécrotiques chez un cépage noir (Cabernet-Sauvignon) (Larignon, 2016).

En haut, différents stades de tigrures donnant une apparence sale à la feuille chez un cépage noir (Cabernet-Sauvignon). A gauche, zones nécrotiques de couleur gris verdâtre. Au milieu, zones nécrotiques gris orangeâtre bordées par un liseré rouge vineux. A droite, zones nécrotiques de couleur gris verdâtre et gris orangeâtre.



Figure 7 : Feuilles situées le long du même rameau chez un cep de Mourvèdre atteint par la Botryosphaeriose (Larignon, 2016).

A gauche, feuille localisée en haut du rameau montrant quelques éclaircissements des tissus entre les nervures. Au milieu, taches nécrotiques sur le limbe d'une feuille située au milieu du rameau. A droite, tissus nécrotiques beaucoup plus développées à la surface d'une feuille localisée à la base du rameau, la feuille se recroqueville sur elle-même suite aux dessèchements situés sur le pourtour de la feuille

Il est important de noter que ces symptômes de forme lente présentent quelques différences selon le cépage considéré.

Dans le bois, ces symptômes foliaires sont en relation avec une bande brune située sous l'écorce pouvant aller du rameau malade jusqu'au niveau de la soudure (Fig. 8). Une coupe transversale dans le bois montre en bordure de la bande brune une zone de couleur jaune à orange, se limitant à quelques millimètres de profondeur dans laquelle les vaisseaux sont obstrués. Cette bande brune peut se former de part et d'autre d'une nécrose sectorielle (Fig. 9) et se traduire ensuite soit par la présence de taches noires, soit par la formation d'un chancre. Le plus ou moins grand nombre de vaisseaux touchés doit avoir une influence sur la plus ou moins grande sévérité des symptômes allant de la forme lente jusqu'à la forme sévère dite défoliatrice. Le dessèchement commence par la partie apicale du rameau, il peut affecter complètement ou en partie le cep et conduit rarement à la mort du cep probablement en lien avec le développement d'un nouveau feuillage.



Figure 8 : Les symptômes foliaires de l'esca dans le bois (Larignon, 2016).

A gauche et au milieu à gauche, bande brune située sous l'écorce. Au milieu à droite, coupe transversale montrant la bande brune et de grosses ponctuations noires. A droite, agrandissement de la zone de la bande brune et observation dans les vaisseaux de matériel jaunâtre qui les obstrue (Cabernet-Sauvignon).



Figure 9 : La forme lente et la forme sévère liée aux *Botryosphaeriaceae* (Larignon. 2016).

A gauche, forme lente liée aux *Botryosphaeriaceae* en association avec une nécrose de couleur brune en position sectorielle. A noter une bande brune à la périphérie de la coupe transversale. Au milieu, nécrose sectorielle. A droite, forme sévère associée aux *Botryosphaeriaceae*. (Cépage : Sultana Seedless vineyard in Aegean Region). Photos : Dr. SonerAkgül, Çukurova Üniversitesi, ZiraatFakültesi, BitkiKorumaBölümü, Fitopatoloji, Sarıçam / ADANA, Turquie.

On peut aussi observer dans les tissus ligneux des nécroses sectorielles de couleur grise (Fig. 10) ou de grosses ponctuations noires en coupe transversale.



Figure 10 : Nécroses sectorielles liées au *Diplodia seriata* (cépage : mourvèdre) (Larignon, 2016).

Sur la sensibilité des cépages, il est connu que les cépages Cabernet Sauvignon, Cabernet franc, Sauvignon blanc sont plus sensibles à ce dépérissement que le Merlot. Pour les facteurs environnementaux, les étés doux et pluvieux sont favorables à l'expression des symptômes foliaires, comme dans le cas de l'esca (Larignon, 2016).

3.3. L'eutypiose

L'eutypiose est due à un champignon ascomycète de la famille des Diatrypaceae : *Eutypa lata*. Sa forme asexuée (ou anamorphe) est *Libertella blepharis* et ne semble pas participer à la contamination de la plante.

Cette maladie est également appelée maladie du bras mort car elle provoque une mortalité des coursons qui n'affecte souvent qu'une partie du cep. La manifestation des symptômes est observée plus particulièrement lors de printemps pluvieux et dans les vignobles dont la pluviométrie est au moins de 300 mm par an (Fontaine, 2018).

Les observations réalisées ont révélé la présence de l'eutypiose et de l'esca dans différentes régions viticoles de l'Algérie (Berraf et Perros, 2005 ; Ammad *et al* 2014). A l'échelle mondiale. Elle est présente dans la majorité du vignoble, absente dans les zones semi-désertiques (Larignon, 2016).

➤ **La symptomatologie de l'eutypiose**

Les symptômes de l'eutypiose peuvent apparaître 5 à 10 ans après l'infection par *E. lata* et leur expression est aléatoire (Larignon, 2012). L'apparition des symptômes est plus particulièrement lors de printemps pluvieux et dans les vignobles dont la pluviométrie est au moins de 300 mm par an (Fontaine, 2018).

Elle se manifeste par le rabougrissement des rameaux (entre-nœuds courts) facilement observables dès le stade 6-8 feuilles chlorotiques, crispées, déchiquetées avec des nécroses marginales qui peuvent se généraliser sur l'ensemble du limbe (Fig. 11), et parfois d'inflorescences desséchées ou de grappes millerandées (Fig. 12). Elle se traduit également par la mort d'un bras d'où le nom de maladie du bras mort. Dans le bois, elle montre la présence d'une nécrose brune et dure en position sectorielle qui montre des rayures plus foncées (Fig. 13) (Larignon, 2016).



Figure 11 : Les différents symptômes de dépérissement d'un cep eutypié (Larignon 2016).

A gauche et au milieu à gauche, rameaux rabougris. Au milieu à droite, cep en voie de dépérissement avec un rameau eutypié et des coursons morts. A droite, feuille déchiquetée avec nécrose marginale.



Figure 12 : Dessèchement d'inflorescences et millerandage des grappes (Larignon, 2016).

A gauche dessèchement d'inflorescences. Au milieu et à droite, millerandage des grappes. (Pierre Mackiewicz, IFV, France).



Figure 13 : La nécrose sectorielle de l'eutypiose (Larignon, 2016).

A gauche et au milieu, nécrose sectorielle de couleur brune avec des bandes plus foncées. A droite, section de la nécrose suite à un coup sec donné par le pied à la base de la plante (test carotte).

4. Mécanismes de défense chez les plantes

Chez les plantes deux types de relations hôte/pathogène sont distinguables, la relation incompatible et compatible. L'incompatibilité fondamentale ou résistance race/cultivars se traduit par la résistance de tous les cultivars d'une espèce végétale donnée vis-à-vis des différents biotypes d'une espèce d'agent pathogène. Elle dépend des cultivars d'une espèce végétale ou des biotypes d'un agent pathogène.

Si la plante n'est pas capable de mettre en place des défenses suffisamment efficaces pour stopper la progression de l'agent pathogène, elle est alors dite sensible.

Les mécanismes de défenses des plantes peuvent être divisés en deux composantes : les défenses passives (préexistantes, constitutives), et les défenses actives (induites).

4.1. Défenses constitutives

4.1.1. Défenses physiques

➤ La cuticule

La première barrière que les plantes opposent à leurs agresseurs est leur épiderme. Il permet au végétal de prévenir les dommages mécaniques et de lutter contre la déshydratation. Les cellules qui le composent forment un tissu très serré. Leur paroi est épaisse et recouverte de cires, composés fortement hydrophobes enrobées de cutine. Cette matrice extracellulaire forme ce qu'on appelle la cuticule (Pouzoulet, 2012).

Elle n'est pas complètement imperméable et sa perméabilité à certaines substances émises par les pathogènes (*Botrytis cinerea*) peut favoriser une réponse adaptée de la plante. Cette première barrière naturelle est donc déjà très sélective et interagit avec les mécanismes de défense induite.

➤ Les trichomes

Les trichomes sont de fines excroissances présentes sur l'épiderme des plantes. Ils peuvent être de types variés, les plus habituels étant l'écaille ou le poil. C'est la présence ou l'absence de ces structures sur l'épiderme qui fait dire qu'il est respectivement pubescent ou glabre. Leur présence peut conférer plusieurs avantages à la plante.

Les trichomes peuvent être glandulaires ou simples, selon qu'ils produisent ou non des sécrétions. Les trichomes glandulaires accumulent de grandes quantités de métabolites dans l'espace situé entre la paroi de leurs cellules glandulaires et la cuticule. Ceci permet à la plante de former une réserve de sécrétions dans un compartiment qui est virtuellement à l'extérieur de l'organisme. Ces structures accumulent non seulement des composés huileux phytotoxiques (terpénoides) mais ils exposent encore ces substances sur la première ligne de défense de la plante.

Les trichomes simples permettent aussi une défense efficace contre les maladies cryptogamiques. Ils empêchent la germination des spores et le contact du tube germinatif avec la surface de la feuille.

➤ **La paroi cellulaire**

Les cellules végétales sont protégées extérieurement par une paroi pectocellulosique. Les constituants de la paroi varient selon l'espèce, le type cellulaire et même les cellules avoisinantes.

En outre, le stade de développement et l'exposition au stress abiotique ou biotiques accroissent ces variations dans sa composition ou sa structure. La nature dynamique de la paroi peut s'adapter aux différentes fonctions élémentaires, comme la croissance, le développement, la perception de l'environnement, la signalisation, la communication intercellulaire et le transport sélectif des métabolites aux interfaces. Elle joue un rôle important dans la cicatrisation, notamment via une glycoprotéine, l'extensine qui rend la paroi plus impénétrable, empêchant ainsi l'infection par des pathogènes. Par ailleurs, les macromolécules de la paroi sont difficiles à dégrader (cellulose, lignine, silice). Cet aspect complique la digestion et réduit les pathogènes.

4.1.2. Défenses chimiques

Au-delà des structures physiques opposant un premier obstacle aux pathogènes, les plantes ont développé tout un arsenal de molécules, produites par le métabolisme secondaire et assurant une défense d'ordre chimique. Parmi ces métabolites, on trouve principalement les phytoalexines et les phytoanticipines.

Les molécules de défense incluent des substances toxiques comme les polyphénols, les terpénoïdes et les alcaloïdes. Ces molécules ne seront pas utilisées pour assurer les fonctions primaires ; la plante accumule des toxiques qui représentent un danger pour elle-même ou pour l'écosystème qui l'entoure. Donc pour contourner ces inconvénients, les plantes ne déclenchent la synthèse qu'au moment de l'attaque. Pour cette raison, les défenses constitutives restent un complément indispensable aux défenses induites.

4.2 Défenses induites

Pour optimiser leurs défenses et les rendre plus pertinentes devant l'attaque des agresseurs, les plantes ont mis en place des mécanismes plus délimités dans le temps, plus localisés et plus spécifiques du pathogène. Ce type de défense se déroule en trois phases : la reconnaissance, la signalisation et la défense.

➤ **La reconnaissance**

C'est l'étape clé pour la mise en œuvre d'une résistance. La plante repère des molécules correspondant à une infection avant la multiplication du pathogène dans l'organisme végétal.

Ces molécules correspondent soit à des constituants du pathogène lui-même (MAMP pour Microbe-Associated Molecular Pattern), soit à des produits de dégradation des tissus de la plante par le pathogène (MIMP pour Microbe-Induced Molecular Pattern). Les MAMPs correspondent donc au non-soi et les MIMPs au soi modifié. Les MAMPs et les MIMPs sont aussi appelés éliciteurs généraux

Les MAMPs sont des molécules structurales issues de la surface de la plupart des pathogènes ; par exemple, les constituants de la paroi cellulaire des champignons (chitine, glucanes, protéines ou glycoprotéines), les lipopolysaccharides des bactéries (LPS) ou la flagelline, protéine majoritaire structurale du flagelle des bactéries.

Ce type de reconnaissance est appelé immunité non-spécifique ou immunité innée primaire et permet d'avoir pour cible de nombreux pathogènes.

L'efficacité de la reconnaissance dépend de sa rapidité. Pour cette raison, les plantes possèdent un système de surveillance formé de protéines postées à différents niveaux cellulaires : paroi, membrane cellulaire, cytoplasme, noyau. La détection doit se faire à de très faibles concentrations en éliciteur ; pour cela, les récepteurs doivent avoir une très forte affinité avec les éliciteurs, d'où l'importance de la structure tridimensionnelle de ces molécules. Ces récepteurs sont appelés PRRs (Pattern Recognition Receptors). Les pathogènes ont à leur tour, cherché à contourner les systèmes de protection de la plante. Certains parviennent à les bloquer par des effecteurs, depuis les voies de signalisation jusqu'à l'activation des gènes de défense, exposant la plante à l'infection. Par un nouveau cycle, la plante contre-attaque en mettant cette fois en œuvre une reconnaissance exacte de l'effecteur. Cette reconnaissance est appelée immunité spécifique ou immunité innée secondaire. Un autre cycle peut suivre et ainsi de suite.

a. La signalisation

La reconnaissance de l'éliciteur est immédiatement suivie d'une cascade de mécanismes qui vont permettre la transmission de l'information au sein de la cellule, puis de toute la plante. Les voies de signalisation peuvent différer par leur cinétique et leur intensité selon la nature du stimulus.

L'enchaînement des processus permet une amplification du signal et assure la spécificité de la réponse.

Les espèces chimiques, ainsi produites ou mobilisées, vont permettre l'interconnexion des fonctions cellulaires. Il s'ensuit l'activation de gènes, la synthèse d'hormones et des changements métaboliques.

Les phytohormones produites n'ont pas toutes le même rôle. Les plantes activent des voies de défenses distinctes impliquant différents régulateurs selon le type de parasite par exemple les réactions de défense associées à l'éthylène (ET), à l'acide jasmonique (JA) et à son dérivé le méthyljasmonate (MeJA) semblent être activées par les nécrotrophes tandis que celles qui mettent en jeu l'acide salicylique (SA) sont déclenchées par les biotrophes (Chastang, 2014).

Hormis l'immunité innée, il existe un autre mécanisme qui permet à la plante d'améliorer sa propre défense au fil des attaques. Dans les années 1960, Ross montra que des plants de tabac, attaqués par le virus de la mosaïque du tabac (TMV), développèrent par la suite une résistance accrue aux infections secondaires dans d'autres tissus. Cette expansion de la résistance à travers les tissus fut nommée réponse systémique acquise (SAR), elle est durable et efficace contre un large éventail de pathogènes.

b. Les réponses de défense

➤ La réponse hypersensible

La réponse hypersensible ou HR a pour but de confiner l'agent pathogène au site d'infection. Elle se traduit par la mort des cellules au point d'entrée de l'agent pathogène, ainsi que par la production de formes actives d'oxygène et de phytoalexines. La HR est généralement le produit d'une interaction spécifique. Elle est suivie d'une résistance locale acquise (LAR) qui correspond à une hyper-activation ciblée des défenses des cellules adjacentes qui produisent notamment des composés à activité antimicrobienne et renforcent leur paroi. Souvent, cette réponse hypersensible est à l'origine de la résistance systémique acquise.

➤ La synthèse de protéines PR

Les protéines PR « Pathogenesis Related », sont des molécules de faible poids moléculaire (10 à 30 kDas) et se caractérisent par leur solubilité, leur stabilité en milieu acide et leur résistance à la protéolyse. Leur localisation peut être extracellulaire, pariétale et/ou intercellulaire. Elles peuvent aussi s'accumuler dans la vacuole. Certains ont été trouvés dans la sève brute du xylème, notamment chez la vigne (Agüero *et al.*, 2008).

Les protéines PR sont des composées induites de défense déclenchées de façon directe ou indirecte par le pathogène. Elles ont un rôle antimicrobien direct. Par exemple, les chitinases dégradent la chitine composant la paroi fongique, comme cela a été montré sur *B. cinerea*. Néanmoins, elles peuvent s'accumuler lors d'un processus physiologique ou sous l'effet d'un stress abiotique (Van Loon *et al.*, 2006).

Chez la vigne, les protéines de défense les plus connues sont les β -1,3 glucanases, les chitinases et les thaumatin-like. Les transcrits de gènes codant pour des protéines PR s'accumulent dans les feuilles de plantes infectées par des agents de maladie du bois (Letousey *et al.*, 2010).

➤ **Le renforcement pariétal**

Après une infection et lors d'une induction des défenses, les parois des cellules végétales peuvent être renforcées par des dépôts de substances comme la callose, les pectines, la lignine.

La callose est un polymère d'unités glucose reliées par des liaisons β -1,3. Le dépôt de callose est observé lors d'une infection fongique, ou lors d'une élévation par le méthyle-jasmonate. La synthèse des glycoprotéines structurales de la paroi pecto-cellulosique riches en hydroxyproline, comme l'extensine, où ils s'accumulent au cours d'une infection fongique. Ce type de protéines a également été noté chez la vigne en réponse à des traitements éliciteurs.

Entre la paroi et la membrane plasmique, au niveau du site de pénétration du champignon, peut se former un amas dense, appelé papille quasiment impénétrable pour le champignon. Cet amas est constitué de callose, de pectine, d'extensines, de composés phénoliques polymérisés et de silice.

➤ **La synthèse de phytoalexines**

L'arsenal de défense des plantes est aussi constitué de molécules antimicrobiennes non enzymatiques. Ces molécules induites par l'attaque d'un agent pathogène, elles peuvent être induites par des stress abiotiques. Les phytoalexines de la vigne appartiennent à la famille des composés phénoliques.

➤ **Les composés phénoliques de la vigne**

Les composés phénoliques forment un groupe diversifié de métabolites secondaires largement distribués dans le règne végétal. Ils sont porteurs d'au moins une fonction phénol, c'est-à-dire d'un noyau aromatique lié à un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle(s), modifié(s) ou non.

Ils ont des rôles variés. Ils protègent la plante contre les UV et les herbivores, ils sont des signaux qui participent à l'attraction des pollinisateurs et des disséminateurs en tant que

pigments, à la croissance, et à la réponse aux stress biotiques et abiotiques (Lattanzio et al. 2006)

➤ **La biosynthèse des composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont présents dans tous les organes de la vigne et peuvent être distingués en deux grandes catégories : les non flavonoïdes et les flavonoïdes. Ces molécules dérivent de la phénylalanine d'où le nom de voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes

1. Les flavonoïdes

Les composés flavonoïdes ont une structure en C6-C3-C6 : deux cycles benzéniques sont reliés par un hétérocycle oxygéné pour former une unité flavone

▪ Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments dont la teinte varie du bleu au rouge en fonction de leur environnement. Les cinq anthocyanidines (aglycones) de la vigne sont la malvidine, la péonidine, la delphinidine, la pétunidine et la cyanidine. Elles sont, généralement, estérifiées par des sucres, notamment le glucose.

Elles sont présentes dans les feuilles et les baies de raisin où elles ont un rôle protecteur contre les UV et le stress oxydant et permettent d'attirer les disséminateurs. Les anthocyanes sont solubles et s'accumulent dans les vacuoles des cellules de l'épiderme des feuilles et au niveau de la pellicule des baies de raisin.

Les anthocyanes ne sont généralement pas considérés comme des molécules de défense chez la vigne (Lambert., 2011).

▪ Les flavanols et les tanins

Cinq monomères de flavan-3-ols existent chez la vigne : (+) -catéchine, (-) -épicatéchine, (-) -épigallocatechine, (-) -épicatéchine-3-O-gallate et la (+) -gallocatechine. Ils peuvent exister en tant que tel ou s'associer et former des polymères appelés tanins, tanins condensés, tanins catéchiques ou encore appelés proanthocyanidines. Les tanins sont en concentration importante dans les pépins et la pellicule des baies de raisin où ils peuvent s'accumuler dans les vacuoles ou les parois (Lacampagne., 2010).

Les flavanols agiraient pour partie dans l'arsenal de défense de la vigne. Certains inhibent l'activité des stilbène-oxydases de *B. cinerea*. C'est aussi le cas de tanins qui semblent contribuer à la résistance de certains cépages à la pourriture grise.

▪ Les flavonols

Les flavonols sont des pigments jaunes caractérisés par la présence d'une fonction carbonyle sur l'hétérocycle central. Ils peuvent être liés à un sucre, le plus souvent le glucose. Comme les anthocyanes, ils jouent un rôle de protection contre les UV et d'antioxydants. Ces composés sont stockés dans la vacuole et pourraient être présents dans le noyau et la membrane plasmique. Certains flavonols inhibent la croissance de champignons pathogènes et sont parfois considérés comme des phytoalexines.

2. Les non flavonoïdes

▪ Les acides phénols

Le groupe des acides phénols est partagé en deux types d'acides : les benzoïques et les hydroxycinnamiques. Les acides benzoïques sont formés à partir de l'acide cinnamique et possèdent une structure en C6-C1. Les acides hydroxycinnamiques dérivent de l'acide p-coumarique, lui-même formé à partir de l'acide cinnamique par la cinnamate-4-hydroxylase. Ils peuvent se trouver sous forme d'esters tartriques, d'aldéhydes ou d'hétérosides. Ils ont été identifiés au niveau des racines, des sarments et des feuilles de la vigne. Il a été démontré in vitro que certains acides phénols du raisin inhibent la croissance de *B. cinerea* et l'activité de ses stilbène-oxydases. In planta, les acides phénols semblent jouer un rôle dans la protection contre *B. cinerea* dans la fleur et la baie avant la véraison (Keller, 2002 ; Pezet *et al.*, 2003).

▪ Les stilbènes

Les stilbènes ont une structure en C6-C2-C6 : deux cycles benzéniques sont reliés par deux carbones, eux-mêmes unis par une double liaison. Chez la vigne, le terme hydroxystilbène serait plus correct en raison des fonctions hydroxyles présentes sur les cycles. L'unité de base des stilbènes est le trans-3,5,4'-trihydroxystilbene ou trans-resvératrol. C'est le premier stilbène identifié chez les Vitacées, dans des feuilles de vigne soumises aux UV ou inoculées par *B. cinerea*. Ces composés peuvent être induits ou constitutifs et sont présents dans toutes les parties de la vigne où leur synthèse varie en fonction du tissu, de l'organe et du cépage (Lambert, 2011).

Ils ont la capacité d'inhiber la germination des spores et la croissance de champignons pathogènes de la vigne. Ainsi, son activité contre *B. cinerea* a été évaluée à plusieurs niveaux, par l'inhibition de la germination des conidies qui atteint 50% in vitro, et par l'inhibition du

développement mycélien in vitro également, à des concentrations comprises entre 60 et 140 $\mu\text{g/ml}$ (El Khawand, 2019).

En effet, les stilbènes contribuent significativement à la résistance du bois de cœur (ou duramen) aux champignons et sont aussi considérés comme des éléments importants de la défense dans l'aubier. Ils auraient formé in situ au cours de la formation du duramen ou lors d'une attaque parasitaire et non pas transportés depuis les organes végétatifs vers le bois (Lambert, 2011).

Chapitre II

Matériels et méthodes

1. Objectifs

Dans le cadre de la recherche sur des nouveaux procédés en Bio protection et de lutte biologiques. La bio stimulation 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 de quelques variétés de vigne à un stress biotique (deux champignons phytopathogènes) impliqué dans le dépérissement de la vigne appartenant à la famille des Botryosphaeriaceae.

Notre travail est constitué de deux parties :

- ✓ La première partie comprend un essai in situ vis-à-vis des boutures de 04 cépage de vigne : 02 cépages autochtone, 02 cépages adaptés (introduites et cultivés aux conditions pédoclimatiques de l'Algérie) introduites et deux porte greffe inoculés par deux agents pathogènes pour détermine : les réponses physiques au stress à travers un test de pathogénicité.

- ✓ La seconde partie consiste l'évaluation de quelques paramètres agronomiques chez les cépages de vigne sous un stress biologique.

2. Site expérimental

L'expérimentation s'est déroulée dans une serre au niveau d'une exploitation agricole au niveau de la commune de Blida, durant la période allant du mois de Février au mois de Mai, 2021.

3. Matériel biologique

3.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de quatre cépages de vigne destinés pour la production du raisin de table : Victoria, Muscat, Tourki et Amellal et deux portes greffe (SO4, 1103P) (**Tab.2**), nous avons utilisé des sarments, car ils sont un modèle d'étude intéressant des tissus ligneux et

leur prélèvement est aisé puisqu'ils sont taillés chaque année et de manière non destructive pour la plante.

Les cépages adaptés, provenant d'une pépinière multidisciplinaire de la wilaya de Blida, agréée par le centre national de contrôle et de certification (CNCC) d'Alger. Et Les cépages locaux, provenant de la serre de l'élevage d'Institut Technique de l'Arboriculture fruitière et de la vigne l'ITAFV de Benchicaou, wilaya de Médéa

Tableau 2 : origine et caractéristiques du matériel végétal utilisé.

Régions	Blida	Médéa
Localité	Larbaa	Benchicaou
Cépage	Victoria et Muscat	Tourki et Amellal
Porte greffe	SO4 et 1103P	-
Age (ans)	2 ans	5 ans
Date de la taille	Février 2021	Février 2021
Traitement à l'arsenite	Néant	Néant

3.2. Le matériel fongique

Les souches fongiques sélectionnées sont : l'agent fongique à deux espèces responsables du dépérissement de la vigne appartenant au genre *Botryosphaeria* (Tab.3). L'identité de ces espèces a été confirmée sur la base des caractères morphologiques, culturales d'une clé d'identification (Phillips, 2002), et une analyse moléculaire en utilisant des amorces universelles : Internal Transcribed spacer (ITS 1 et ITS 4).

En raison de l'absence des fructifications dans les cultures fongiques obtenues durant l'incubation des espèces appartenant au genre *Botryosphaeria*, nous avons utilisé des disques mycéliens à partir des cultures âgées de 5 jours.

Tableau.3 : origine des souches fongiques

Espèces	Hôte	Identification	Provenance
<i>Botryosphaeria sp 3</i>	Vigne	Ammad et al, 2014	Blida
<i>Botryosphaeria sp 4</i>	Vigne	Ammad et al, 2014	Tipaza

4. Milieux de culture et purification des champignons

Nous avons utilisé le Milieu PDA (Potato Dextrose Agar) pour la mise en culture des champignons phytopathogènes testés, dont leurs compositions sont indiquées dans l'Annexe 1.

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 Dextrose Agar (PDA). L'incubation des cultures fongiques a été effectuée à une température de 25°C pendant 7 jours.

5. Inoculation du matériel végétal

Des sarments de 14 à 16 cm de longueur et de 08 à 10 mm de diamètre, ont été prélevés à partir de quatre variétés de vigne et deux portes greffe. Un total de 30 boutures a été inoculé avec les deux espèces fongiques testées (5 boutures de chaque cépage sont inoculées par un champignon phytopathogène). Et 30 boutures juste blessé et non inoculés ont été utilisé comme témoin (5 boutures par cépages)

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. L'inoculation consiste à percer un trou à mi-hauteur des sarments bouturés et jusqu'à la moelle et à y introduire une pastille de gélose recouverte de mycélium prélevé à la marge de mycélium entretenu en boîte de pétri. L'orifice est bouché avec de la paraffine. La bouture témoin est simplement percée et le trou rebouché. Pour chaque condition, le nombre de répétitions est de 5.

Après inoculation, les incisions ont été enveloppées avec du coton stérile humide puis scellées avec du para film. Les boutures ont été mises dans des pots contenant de l'eau de robinet. Tout le travail est effectué dans les conditions aseptiques (à côté du bec bunsen, matériels stérilisés) pour éviter toute contamination. Le suivi de l'évolution de la symptomatologie a duré sept semaines.

5.1. Evaluation des taux d'infection

Dix jours après l'inoculation, des relevés ont été réalisés, qui vise à rechercher des nécroses au niveau du matériel végétal inoculé. Le suivi s'est basé sur la mesure des lésions nécrotiques sur papier millimétrique pendant 49 jours (sept relevés /49jours) car (un relevé / semaine)

6. La longueur du système racinaire

Pendant les relevés effectués (un relevé chaque 10 jours durant sept semaines), 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).

7. Ré-isolément

La technique utilisée est décrite par Péros et Berger (1994) et Péros (2005), pour confirmer la responsabilité des agents pathogènes dans l'apparition des lésions. Les buchettes ont été découpées à trois niveaux des boutures inoculées (au point d'incision et à environ deux centimètres de part et d'autre de l'incision), avec trois répétitions pour chaque test.

Les buchettes ont été plongées dans un pilulier contenant une solution d'hypochlorite de sodium à 8° pendant 10mn. Et ensuite sont rincées par trois bains consécutifs avec l'eau stérile et séchées sur du papier buvard stérile.

Les coupes des buchettes sont rafraîchies à l'aide d'un scalpel, puis les buchettes sont disposées par cinq dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA, Scellées avec du para film et mises à incuber à 25°C à l'obscurité.

L'observation des boîtes se fait tous les deux à trois jours et à chaque fois qu'une colonie se développe.

8. 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 sont considérées comme des facteurs indépendants.

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) en utilisant le logiciel SPSS (v 20.0, Microsoft), à un seuil ($p < 0.005$).

Chapitre III

Résultats et discussion

I. Caractérisation macroscopique et microscopique de l'agent pathogène

Sur le milieu PDA, le champignon présente des colonies régulières d'un aspect cotonneux. Le mycélium est blanc au départ, quelques isolats ont viré vers le gris clair pour devenir gris très foncé à noirâtres vers un vert olive (Fig. 14)

Le mycélium est aérien avec présence de cordons, il devient très dense avec le temps et présente une croissance rapide. Sans utilisation de colorant l'observation microscopique montre que le mycélium jeune est hyalin, cloisonné, coloré d'un brun très foncé à noir.

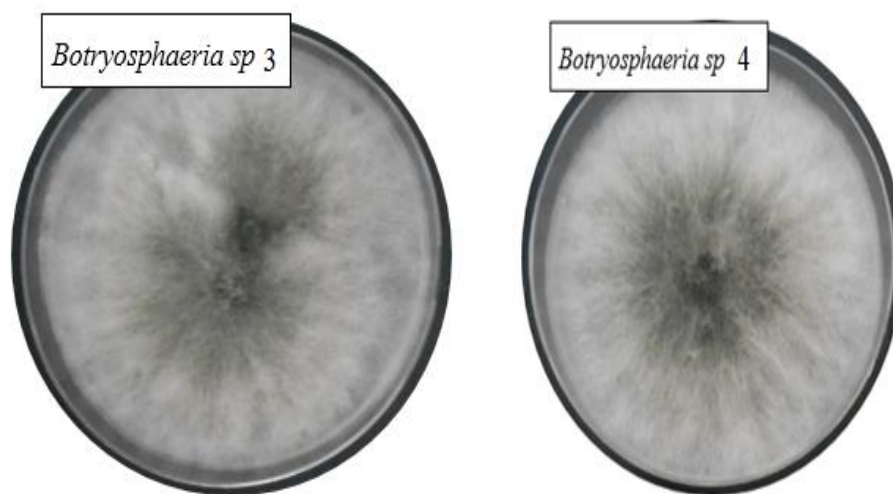


Figure.14 : Aspect macroscopique des deux *Botryosphaeria sp*

II. La réponse des boutures de la vigne au stress Biotique

L'étude de la réponse des cépages au stress biotique *in situ*, a permis l'obtention des résultats avec les variables étudiées à savoir : le taille (longueur des lésions), temps et quelques paramètres agronomiques.

1. Descriptif symptomatologique

Dans ces essais nous avons noté une variation dans la fréquence de l'expression de la symptomatologie sur les boutures de quelques cépages de vigne et de portes greffes.

Les tests de pathogénicité ont été réalisés sur des boutures de vigne, sur les variétés :

Victoria, Muscat d'Italie, Tourki et Amellal et deux porte-greffe SO4 et 1103P. Après sept semaines d'incubation, différents types de lésions se sont développées sur les sarments.

Au niveau de la bouture témoin, non inoculée, un très léger brunissement et circonscrit au pourtour de la zone percée apparaît, En revanche, une longue bande brune est bien visible de part et d'autre du site d'inoculation, sur les boutures foliaires infectées par les champignons phytopathogènes.

Les deux espèces de *Botryosphaeria sp*, ont montré ont provoqué des lésions sur l'ensemble des cépages testés, elles ont induit des nécroses internes et des chancre avec des valeurs qui varie d'une cépage à un autre .

Nous avons enregistré une valeur moyenne de longueur des lésions chez la variété autochtone de Tourki de 0.74cm infecté par l'espèce *Botryosphaeria sp* 3 et de 0.66 cm sur celles infecté par *Botryosphaeria sp* 4,chez la deuxième variété autochtone Amellal les nécroses paraissent identique avec celle obtenues sur tourki, une légère différence a été enregistré sur les bouture infectées par *Botryosphaeria sp*3 et une différence importante sur celles infectés par *Botryosphaeria sp* 4 respectivement (0.70 cm et 0.89)(Tableau 4)

Pour le cas des variétés introduites inoculé par *Botryosphaeria* 3, nous avons enregistré des valeurs sur presque identique chez les variétés Victoria et Muscat Italia , les mesures varient de 0,70 à 074 cm respectivement. Parmi les boutures de ces deux cépages infectés par *Botryosphaeria sp* 4, nous avons relevé la présence des nécroses avec des longueurs qui sont de 0.62 cm chez Muscat Italia et 0.75 cm victoria (Tableau 4).

Chez la porte greff 1103Pd'une valeur moyenne des répétitions de 0.59 cm infecté par *Botryosphaeria sp* 3 et de 0.62 cm infecté par *Botryosphaeria sp* 4 et chez la porte greff

SO4 d'une valeur moyenne des répétitions de 0.54 cm infecté par *Botryosphaeria sp 3* et de 0.64 cm infecté par *Botryosphaeria sp 4* (Tableau 4).

Sur les 36 plants infectés de toutes les variétés et les port-greffes, nous avons noté la présence de décoloration de la partie ligneuse vers le haut et vers le bas du point d'inoculation des plants.

La moyenne des longueurs maximales et minimales des lésions obtenues chez les différents cépages et porte greff inoculé par *Botryosphaeria sp 3* est comme suit : Muscat d'Italie étaient (1.68±0,52 cm) (Fig. 15), Amellal (0.98±0,78cm) (Fig. 16), Tourki (0.90± 0.64cm) (Fig. 17), Victoria (0.76±0.6cm) (Fig. 18) et, le port-greffe SO4 étaient de (0.92 ±0,56cm) (Fig. 19) et le port-greffe 1103P (0.74 ± 0.48) (Fig. 20) (Tableau 4).

En revanche les cépages inoculé par *Botryosphaeria sp 4* ont montré des moyennes des longueurs maximales et minimales des lésions comme suit : toujours la lésion plus au moins importante est enregistré chez Muscat d'Italie étaient (0.90±0,56 cm), suivi par Amellal (1.88±0,72cm), Tourki (0.90 ± 0.66 cm), Victoria est de (0.76±0.6cm), et le port-greffe 1103P étaient de (0.92 ±0,54cm), le port-greffe SO4 est de (0.8 ± 0.54) (Tableau 4).

Tableau 4: Longueur des nécroses sur des boutures de vigne après 7 semaines d'inoculation
Par *Botryosphaeria* sp

Variétés	Isolats	Moyennes des longueurs maximale (cm)	Moyennes des longueur minimale (cm)
Victoria	<i>Botyosphaeria sp3</i>	0.76	0.54
	<i>Botyosphaeria sp4</i>	0.84	0.66
	Témoin	0.7	0.6
Muscat	<i>Botyosphaeria sp3</i>	1.68	0.52
	<i>Botyosphaeria sp4</i>	0.9	0.56
	Témoin	0.6	0.4
Tourki	<i>Botyosphaeria sp3</i>	0.9	0.64
	<i>Botyosphaeria sp4</i>	0.9	0.66
	Témoin	0.9	0.8
Amelal	<i>Botyosphaeria sp3</i>	0.98	0.78
	<i>Botyosphaeria sp4</i>	1.88	0.72
	Témoin	0.4	0.4
So4	<i>Botyosphaeria sp3</i>	0.76	0.56
	<i>Botyosphaeria sp4</i>	0.8	0.54
	Témoin	1.2	0.9
1103p	<i>Botyosphaeria sp3</i>	0.66	0.48
	<i>Botyosphaeria sp4</i>	0.92	0.54
	Témoin	0.8	0.5



L'évolution d'une lésion de la variété Muscat Italia inoculée par le *Botryosphaeria sp3*



L'évolution d'une lésion de la variété Muscat Italia inoculée par le *Botryosphaeria sp4*

Figure 15 : Le développement des lésions durant les 7 semaines d'inoculation d'une bouture de la variété introduite Muscat Italie par les deux *Botryosphaeria sp* (Originale. 2021).

(T) : témoin, (A) : lésion minimale, (B) : lésion maximale



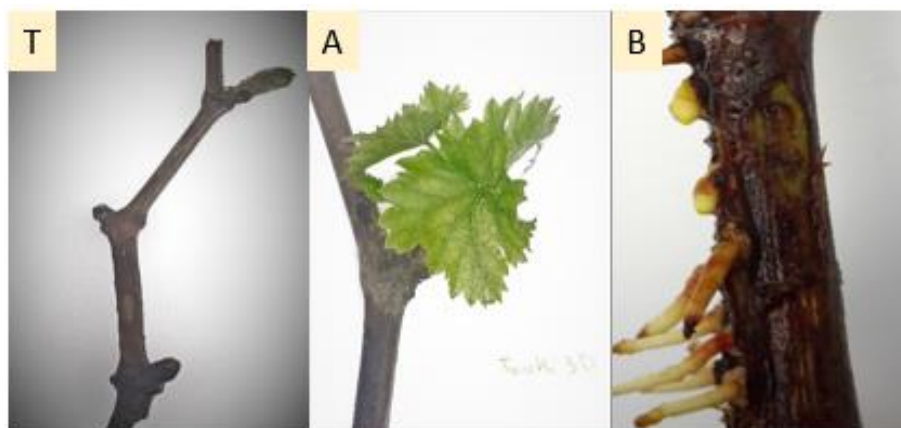
L'évolution d'une lésion de la variété Amellal inoculée par le *Botryosphaeria sp 3*



L'évolution d'une lésion de la variété Amellal inoculée par le *Botryosphaeria sp 4*

Figure 16 : Le développement des lésions durant les 7 semaines d'inoculation d'une bouture de la variété introduite Amellal par les deux *Botryosphaeria sp* (Originale. 2021).

(T) : témoin, (A) : lésion minimale, (B) : lésion maximale



L'évolution d'une lésion de la variété Tourki inoculée par le *Botryosphaeria sp 3*



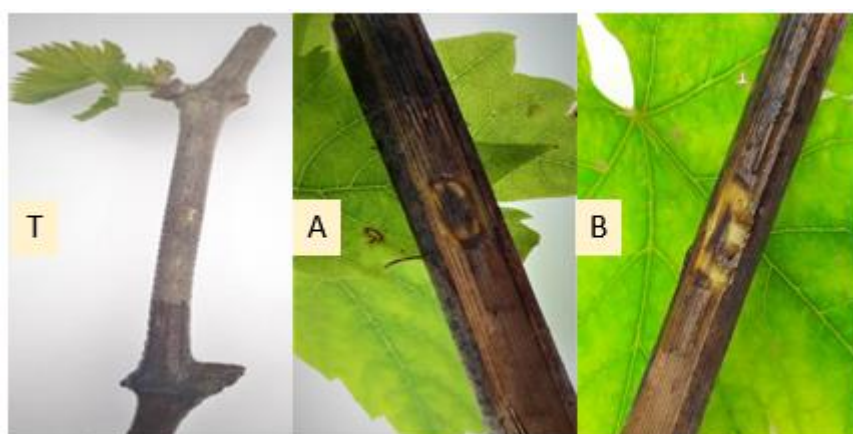
L'évolution d'une lésion de la variété Tourki inoculée par le *Botryosphaeria sp 4*

Figure 17 : Le développement des lésions durant les 7 semaines d'inoculation d'une bouture de la variété introduite Tourki par les deux *Botryosphaeria sp* (Originale. 2021).

(T) : témoin, (A) : lésion minimale, (B) : lésion maximale



L'évolution d'une lésion de la variété Victoria inoculée par le *Botryosphaeria sp 3*



L'évolution d'une lésion de la variété Victoria inoculée par le *Botryosphaeria sp 3*

Figure 18: Le développement des lésions durant les 7 semaines d'inoculation d'une bouture de la variété introduite Victoria par les deux *Botryosphaeria sp* (Originale. 2021).

(T) : témoin, (A) : lésion minimale, (B) : lésion maximale



L'évolution d'une lésion du porte greffe SO4 inoculée par le *Botryosphaeria sp 3*



L'évolution d'une lésion du porte greffe SO4 inoculée par le *Botryosphaeria sp 3*

Figure 19 : Le développement des lésions durant les 7 semaines d'inoculation d'une bouture du porte greffe SO4 par les deux *Botryosphaeria sp* (Originale.2021).

(T) : témoin, (A) : lésion minimale, (B) : lésion maximale



L'évolution d'une lésion du porte greffe 1103P inoculée par le *Botryosphaeria sp 3*



L'évolution d'une lésion du porte greffe 1103P inoculée par le *Botryosphaeria sp 4*

Figure 20 : Le développement des lésions durant les 7 semaines d'inoculation d'une bouture du porte-greffe 1103P par les deux *Botryosphaeria sp* (Originale.2021).

(T) : témoin, (A) : lésion minimale, (B) : lésion maximale

2. Étude comparée de l'inoculation des cépages de vigne par des *Botryosphaeria*

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 variétés de vigne, sous l'effet des agents fongiques et d'autre part, quelques paramètres agronomiques. Les variables quantitatives ont été scorées par rapport à deux agents fongiques pathogènes à différents paramètres de croissance (longueur des lésions et longueur des racines). 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 5) a indiqué une différence hautement significative ($P = 0.000$, $P < 5\%$). Les variétés testées étaient sensibles aux deux espèces de *Botryosphaeria* en comparaison avec le témoin (Fig.21 a), les résultats de l'analyse de la variance, ont aussi montré que le facteur temps (période d'incubation) exerce un effet très hautement significatif sur la taille des lésions ($p=0,00$, $p<0,01\%$) (Fig. 21 b et c), par contre les agents fongiques ont un effet non significatif sur la variabilité des longueurs des lésions ($F\text{-ratio}=0,172$; $p=0,658$; $p>0,05$)

Tableau 5 : Les longueurs des lésions provoquées sur les boutures traitées en fonction des : variétés, agents fongiques et en fonction du temps.

Source.	Sum-of-square.	Dd	Mean-square.	F-ratio	P
Variété.	3.162	2	1.581	15.566	0.002***
Agent fongique	2.329	5	0.466	4.266	0.685 ^{N.S}
Temps	2.815	5	0.563	5.315	0.000***

N.S. : non significative, * : Probabilité significative à 5 % ; ** : Probabilité significative à 1 % ; *** : Probabilité significative à 0,1 %.

Le tableau ci-dessus désigne que les agents fongiques ont un effet non significatif sur la variabilité des longueurs des lésions ($F\text{-ratio}=0,172$; $p=0,685$; $p>0,05$). En revanche, les facteurs cépages (Fig.21a) et périodes (Fig. 21 b) après inoculation révèlent l'existence d'une différence très hautement significative sur la longueur des nécroses avec les valeurs respectives ($F\text{-ratio}=0,110$; $p=0,002$; $p\geq 0,05$) et ($F\text{-ratio}=16,940$; $p=0,000$; $p<0,001$).

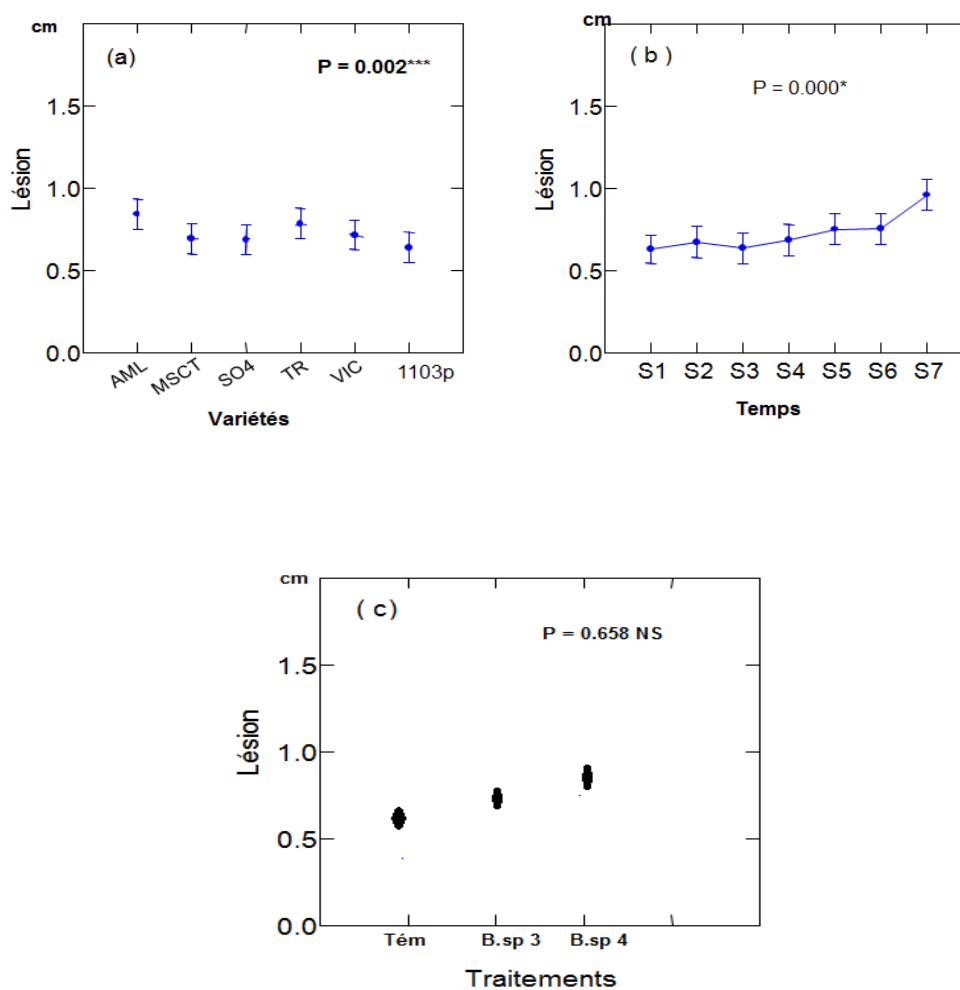


Figure 21 : Les longueurs des lésions provoquées sur les boutures de vigne traitées, variétés (a), agents fongiques (b) et (c) temps.

AML : Amellal, MSCT : Muscat, TR : Tourki, VIC : Victoria

B.sp3 : *Botryosphaeria sp3*. *B.sp4* : *Botryosphaeria sp 4*, Tém : témoin (Aucun traitement)

3. Evaluation de la phytostimulation

Durant notre suivi sur l'état de l'évolution des nécroses sur les différents cépages de vigne ainsi sur les portes greffe, nous avons remarqué l'apparition des racines sur l'ensemble du matériel végétal. Résultats présentés dans le **tableau ci-dessous**

➤ La longueur de la partie racinaire (LR).

Après 49 jours d'exposition des boutures de vigne aux *Botryosphaeria sp* nous avons noté une importante croissance de système racinaire chez quelques cépages. La longueur des racines la plus importante est noté sur les deux cépages autochtones inoculé par *Botryosphaeria sp3* suivi par ceux contaminés par *Botryosphaeria sp 4*, en revanche une légère croissance est remarquée sur les variétés adaptés et sur le SO4 inoculé par *Botryosphaeria sp 4*. Par contre aucune croissance est enregistrée sur les témoins et sur les portes greffe (Tab 6)

Tableau 6 : Longueurs des racines après sept semaines d'inoculation avec les deux *Botryosphaeria sp*

Traitement	Longueurs des racines (cm)					
	Cépages autochtones		Cépages introduits		Porte greffe	
	Tourki	Amellal	Victoria	Muscat italia	So4	1103P
Témoin	ab	ab	ab	ab	ab	ab
<i>Botryosphaeria sp3</i>	3.3	4	ab	0.8	ab	ab
<i>Botryosphaeria sp4</i>	2.2	1.4	0.6	0.5	0.8	ab

ab : absence

4. Étude comparée de la longueur des racines chez les cépages de vigne inoculés par des *Botryosphaeria*

Le tableau ci-dessous désigne que la nature des champignons a un effet non significatif sur la croissance des racines (F-ratio=0,172 ; p=0,986 ; p>0,05). En revanche, les facteurs cépages et périodes après traitement révèlent l'existence d'une différence très hautement significative sur la longueur des racines (F-ratio=0,110 ; p=0,000 ; p≥0,05) et (F-ratio=16,940 ; p=0,000 ; p<0,001) (Tab 7) et (Fig. 22).

Tableau 7 : Longueurs des lésions provoquées sur les boutures de vigne traitées en fonction : Variétés, agents fongiques et temps.

Source.	Sum-of-square.	Dd	Mean-square.	F-ratio	P
Variété.	99.534	5	19.907	18.520	0.000***
Agent fongique	0.157	3	0.052	4.266	0.986 N.S
Temps	82.410	6	0.563	13.735	0.000***

N.S. : non significative, * : Probabilité significative à 5 % ; ** : Probabilité significative à 1 % ; *** : Probabilité significative à 0,1 %.

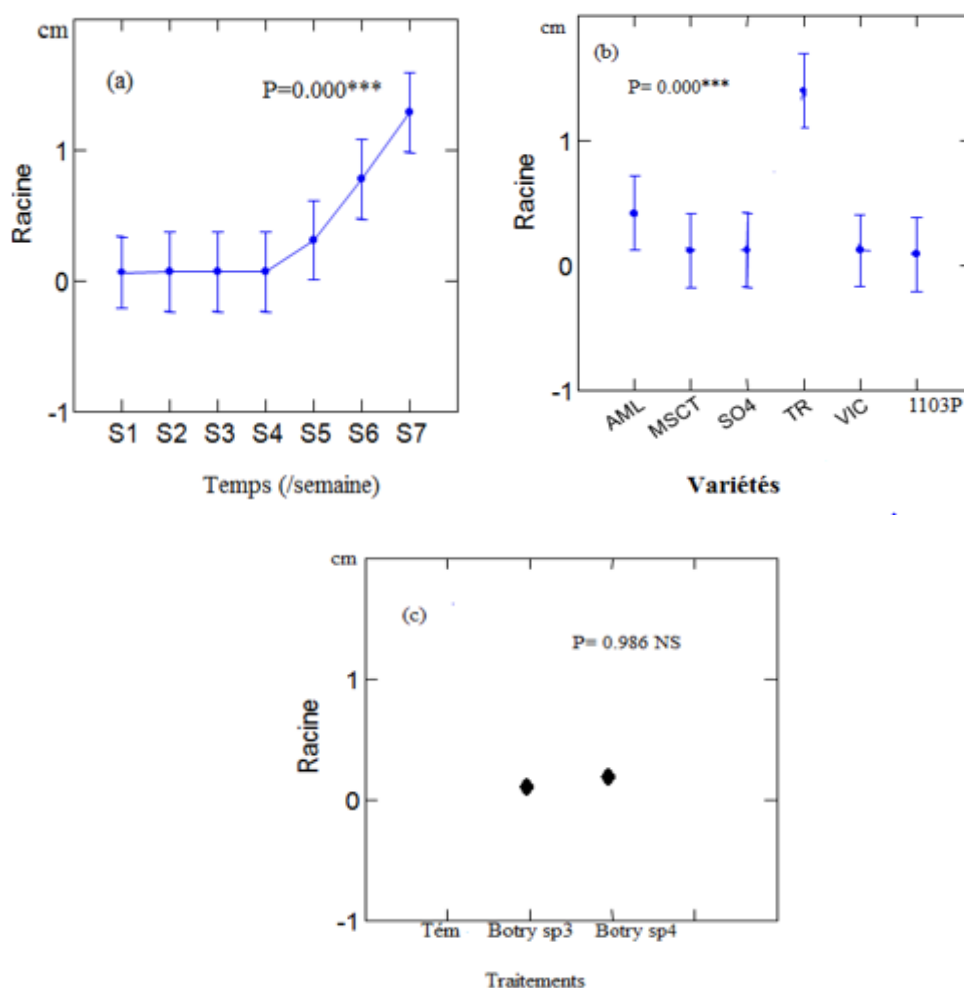


Figure 22 : Les longueurs des racines enregistrés sur les boutures de vigne traitées, variétés (a), agents fongiques (b) et (c) temps.

AML : Amellal, MSCT : Muscat, TR : Tourki, VIC : Victoria

B.sp3 : *Botryosphaeria sp3*. *B.sp4* : *Botryosphaeria sp4*, Tém : témoin (Aucun traitement)

5. Le ré-isolement de *Botryosphaeria*

Le ré-isolement des buchettes des différents de cépage inoculées par les deux espèces de *Botryosphaeria* dans le but de confirmer leur causalité, ont montré le développement des deux espèces de *Botryosphaeria* testées dans cette étude (Fig.23).

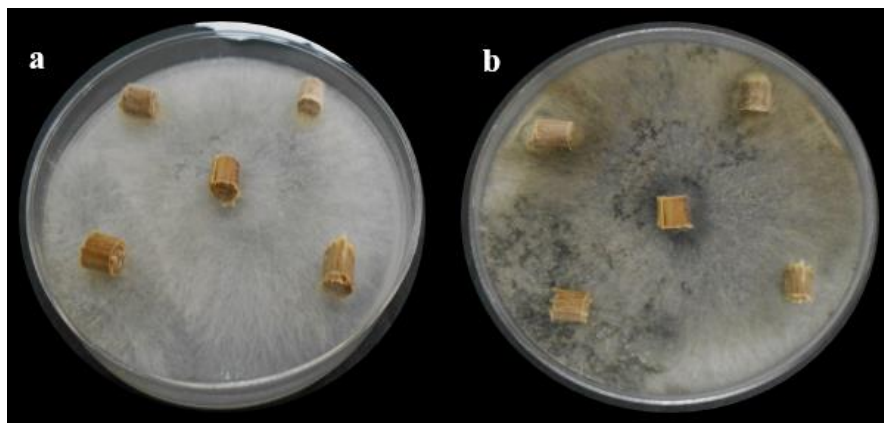


Figure 23 : Le ré-isolement des deux *Botryosphaeria sp*

6. Discussion

L'objectif de cette étude, est de tenter de détecter un éventuel pouvoir phytopathogène appartenant au genre *Botryosphaeria* agent de dépérissement.

Après sept semaines (49 jours) d'incubation des sarments (boutures) de vigne, les résultats de pathogénicité ont montré que les deux espèces de *Botryosphaeria sp* ont provoqué des lésions sur les tiges des variétés testées à savoir Tourki, Amellel, Victoria, Muscat et sur les portes greffe SO4 et 1103P.

Les deux espèces fongiques à savoir *Botryosphaeria sp3* et *Botryosphaeria sp 4* ont provoqué un brunissement et un développement des lésions sur l'ensemble des cépages inoculés. La taille des lésions des boutures infectées est presque identique chez toutes les variétés inoculées et une légère différence a été enregistré entre les cépages autochtone (Tourki et Amellel) et les cépages adaptés, par contre des faibles lésions sont remarqué sur les deux portes greffe.

Nous pouvons proposer deux hypothèses

- La première hypothèse le temps d'incubation était insuffisant.
- La seconde hypothèse les portes greffes sont tolérants.

D'après Lambert (2011), l'infection des vaisseaux conducteurs des plants ligneux entraîne des nécroses et des détériorations des tissus jusqu'à la mort de toute ou partie de la plante. Le devenir d'une plante ligneuse dépend donc de sa capacité à se prémunir contre les agresseurs et à limiter leur dispersion.

Des résultats similaires ont été enregistrés par Larignon *et al.* (2001), sur des boutures de vigne variété Cabernet Sauvignon inoculé par un agent pathogène de la famille des Botryosphaeriaceae. 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

Les composés phénoliques sont souvent présents de manière constitutive chez les végétaux et peuvent être induits par l'attaque d'un agent pathogène. C'est souvent le cas lorsqu'un micro-organisme colonise les vaisseaux conducteurs, ces composés sont fréquemment impliqués dans les mécanismes de défenses des plantes ligneuses,

Par exemple, des composés phénoliques et des lignines s'accumulent dans les tiges et les racines du brocoli, en réponse à l'infection par *Verticillium dahliae*, un champignon parasite du xylème (Njoroge *et al.* 2011).

D'après Langcake & Pryce (1976) ; Pussä *et al.* (2006), les tissus ligneux de la vigne, *V. vinifera*, renferment de nombreux stilbènes présents de manière « constitutive ». D'autres polyphénols comme la (+) -catéchine, la (-) -épicatéchine ou encore le *trans*-picéatannol ont également été démontrés comme présents dans le bois des vignes (Pussä *et al.* 2006 ; Zga *et al.* 2009)

De nombreux travaux sur les maladies du bois, se sont intéressés à l'évolution de ces molécules dans différents organes de la plante saine ou infectée. Les teneurs en composés phénoliques augmentent dans la nécrose brun-rouge d'un cep atteint d'esca (Larignon 2001 ; Agrelli *et al.* 2009). Les composés accumulés seraient en particulier le resvératrol, l' ϵ -viniférine, les stilbènes constitutifs majoritaires dans le bois, ainsi que d'autres oligomères (Amalfitano *et al.* 2011).

Les agents de maladie du bois, se développent dans le tronc mais également dans les sarments (Troccoli *et al.* 2001 ; Bruno & Sparapano 2011). 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).

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 (Santos *et al.* 2006, Bruno & Sparapano 2011)

La période de latence relativement est insuffisante entre l'entrée des agents de maladie du bois dans la plante et l'expression des symptômes, chez les différents cépages, l'observation menée sur juste sept semaine (Mars et Avril) coïncide avec le démarrage de croissance de la vigne du foliaires suggère que la plante puisse retarder le développement des champignons pathogènes (Larignon *et al.* 2009).

Après sept semaines d'inoculation des boutures de *vigne* par les agents fongiques pathogènes nous avons noté une légère phytostimulation par rapport au témoin et cela était notable sur les paramètres étudiés tel que la longueur des racines.

Dans les descriptions de mécanismes de défenses des plantes, une distinction est souvent faite entre les défenses dites constitutives et celles dites induites. Les défenses constitutives consistent en des barrières physiques comme les poils, la cuticule ou encore des barrières chimiques formées par des molécules toxiques appelées phytoanticipines.

Les phytoanticipines, au contraire des phytoalexines, sont des substances sécrétées par les cellules végétales en l'absence d'agent pathogène. Ces composés sont une première ligne de défense dans le cas d'une attaque microbienne.

Dans les tissus ligneux de la vigne, les stilbènes pourraient jouer à la fois le rôle de phytoanticipines et de phytoalexines. En effet, il a été rapporté que les stilbènes sont des molécules synthétisées de manière constitutive dans ces tissus comme le *trans*-resvératrol, l'*ε*-viniférine (Langcake & Pryce 1976, Pussä *et al.* 2006) dont la synthèse est aussi induite lors d'une infection par *P. chlamydospora* (Martin *et al.* 2009).

La stratégie de bio contrôles associés avec l'ISR donne espoirs, et certains microorganismes induisant l'ISR sont actuellement utilisés comme biopesticides.

Conclusion et perspectives

Au terme de ce travail consacré essentiellement à l'étude de l'effet d'un stress biologique (un agent pathogène impliqué dans le dépérissement de la vigne) sur quelques cépages de vigne et sur deux portes greffe, à travers la variation de sensibilité (fréquence de symptômes sur la partie ligneuse), il nous a paru intéressant de dégager des conclusions auxquelles nous avons aboutis. L'objectif de cette étude était de déterminer si le niveau de tolérance notée par certains cépages vis-à-vis les *Botryosphaeriaceae* pouvait être corrélé à une induction plus ou moins intense et/ou précoce des réponses de défense.

Les résultats de cette étude ont montré que : l'application *in situ* de deux espèces appartenant au genre *Botryosphaeria sp* a montré l'apparition des lésions au bout de 49 jours, les lésions enregistrées sont presque identiques et une légère différence a été enregistré entre les cépages autochtone (Tourki et Amellel) et les cépages adaptés, alors que des faibles lésions ont été noté sur les portes greffe.

Certaines molécules constitutives des tissus végétaux peuvent agir en tant que barrière chimique contre les agresseurs. Les stilbènes des tissus ligneux de la vigne pourraient jouer ce rôle contre les agents de maladies du bois.

Pour le cas des témoins, juste un brunissement autour de point d'inoculation a été soulevé.

Après 49 jours d'exposition des boutures de vigne aux différents agents fongiques, un effet important sur la stimulation de la longueur des racines de quelques variétés est noté.

Les résultats obtenus sont encourageants. Certes, divers travaux restent à faire pour finir de développer un produit biologique efficace et employé à grande échelle.

Dans ce contexte, la lutte biologique contre les agents causals du dépérissement à l'aide de champignons antagonistes semble être une alternative prometteuse à l'emploi des fongicides.

Ces résultats ouvrent de nombreuses perspectives parmi lesquelles :

- Etudier le mécanisme d'action d'éventuelle PGPF : induction du système de la résistance de la plante.
- Identifier les composés phénoliques dans le bois de vigne qui présentent l'activité antifongique la plus marquée.

- Identifier l'expression de gènes codant des protéines de défense (Les protéines liées à la défense ou protéines PR).

Références bibliographiques

- AGUERO C.B., THORNE E.T., IBANEZ A.M., GUBLER W. D. et DANDEKAR A. M., 2008 - Xylemsaproteinsfrom *Vitis vinifera* L. Chardonnay. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59(3) : 306. [en ligne]. Disponible sur : https://www.researchgate.net/profile/Walter_Gubler/publication/295930308_Analysis_of_xylem_sap_proteins_in_water-stressed_vs_non-stressed_Vitis_vinifera_%27Cabernet_Sauvignon%27_and_%27Thompson_Seedless%27/links/56f3008208ae38d7109a5419/Analysis-of-xylem-sap-proteins-in-water-stressed-vs-non-stressed-Vitis-vinifera-Cabernet-Sauvignon-and-Thompson-Seedless.pdf (Consulté le 21 mai 2021).
- AMMAD F., BENCHABANE M., et TOUMI M. 2014a- Diversity of fungal trunk pathogens associated with grapevine dieback of grapevine in Algeria. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 7(1) :35-39. [en ligne]. Disponible sur : <http://jjbs.hu.edu.jo/files/v7n1/Paper%20Number%207m.pdf> (Consulté le 16 mai 2021).
- AMMAD F., BENCHABANE M., TOUMI M., BELKACEM N., GUESMI A., AMEUR C., LECOMTE P. et MERAH O., 2014b - Occurrence of Botryosphaeriaceae species associated with grapevine dieback in Algeria. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 38(6) : 965-976. [en ligne]. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/284381308_Occurrence_of_Botryosphaeriaceae_species_associated_with_grapevine_dieback_in_Algeria (Consulté le 16 mai 2021).
- AMMAD F., BENCHABANE M. et TOUMI M., 2015- New Ascomycetes associated with grapevine dieback in Algeria. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 11(2) : 439-449. [en ligne]. Disponible sur : <https://journals.ju.edu.jo/JJAS/article/download/6145/4610> (Consulté le 16 mai 2021).
- ARADHYA M.K., DANGL G.J., PRINS B.H., BOURSICQUOT J.M., WALKER M.A., MEREDITH C.P. et SIMON C.J., 2003- Genetic structure and differentiation in cultivated grapes (*Vitis vinifera* L.). *Genetic Research*, 81 :179-192. [en ligne]. Disponible sur : <https://doi.org/10.1017/s0016672303006177> (Consulté le 28 mai 2021).

- AZIZ A., GAUTHIER A., BEZIER A., POINSSOT B., JOUBERT J.M., PUGIN A., HEYRAUD A. et BAILLIEUL F., 2007- Elicitor and resistance-inducing activities of bêta-1, 4 cellodextrins in grapevine, comparison with bêta-1,3 glucans and alpha-1,4 oligogalacturonides. *Journal of Experimental Botany*, 58(6):1463-1472. [en ligne]. Disponible sur :<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17322548/>> (Consulté le 18 mai 2021).
- BEERAF A. et PERROS J.P., 2005 - Importance de l'eutypiose et de l'esca en Algérie et structure de la communauté fongique associée. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 39(3) : 121-128. [en ligne]. Disponible sur : <https://www.researchgate.net/publication/290057301_Importance_of_Eutypa_dieback_and_esca_in_Algeria_and_structure_of_the_associated_fungal_community>(Consulté le 11 mai 2021).
- CASAGRANDE K., FALGINELLA L., CASTELLARIN S. D., TESTOLIN R. et DIGASPERO G., 2011- Defenceresponses in Rpv3-dependent resistance to grapevinedownymildew. *Planta*, 234(6) :1097-109. [en ligne]. Disponible sur :<<https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F21735199>> (Consulté le 18 mai 2021).
- CHASTANG T.,2014 -*Etude de la synthèse du resvératrol et de ses dérivés(viniférines) par des suspensions de cellules de vigne etoptimisation de la production en bioréacteur* [en ligne]. Thèse, Biotechnologie végétale, Ecole centrale Paris, 192p. Disponible sur : <<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01037913/document>> (Consulté le 3 juin 2021).
- CHIRA K., SUH J.H., SAUCIER C. et TEISSEDRE P.L.,2008- Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6 : 75–82.[en ligne]. Disponible sur : <https://www.researchgate.net/publication/250618496>. (Consulté le 23 juin 2021).
- COBOS R., BARREIRO C., MATEOS R.M.,et COQUE J.J.R., 2010- Cytoplasmic- and extracellular-proteome analysis of *Diplodiaseriata*: a phytopathogenic fungus involved in grapevine decline. *Proteome science*.8(46) :1-16. [en ligne]. Disponible sur :<<https://doi.org/10.1186/1477-5956-8-46>> (Consulté le 5 juin 2021).

- DELIERE L., SCHNEIDER C. et AUDEGUIN L., 2017- Cépages résistants :la vigne contre-attaque. *Phytoma*,708 :34-37. [en ligne]. Disponible sur : <https://observatoire-cepages-resistants.fr/wp-content/uploads/2018/06/Cepages-resistants-PHYTOMA-HD2.pdf> . (Consulté le 26 juin 2021).
- FAURIE B., CLUZET S. et MERILLON J.M., 2009- Implication of signaling pathways involving calcium, phosphorylation and active oxygen species in methyl jasmonate-induced defense responses in grapevine cell cultures. *Journal of Plant Physiology*, 166 :1863-1877. [En ligne]. Disponible sur :<<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.05.015>>(Consulté le 09 juin 2021).
- FILIMON R., FILIMON V.R.,PATRAȘ A. et ROTARU L., 2018- Etudes sur l'extraction de composés phénoliques de vigne baguettes. *Lucrări științifice seriază horticultură*, 61 (2) :421-426. [en ligne]. Disponible sur : https://repository.uaiasi.ro/xmlui/bitstream/handle/20.500.12811/661/LSH_V.61_nr.2_Etudes%20sur%20%27extraction...pdf?sequence=1&isAllowed=y (Consulté le 29 juin 2021).
- GABASTON J., 2018- *Stilbènes de la vigne et d'essences forestières (pin, épicéa) :Etude phytochimique et recherche d'activités anti-oomycète et insecticide* [en ligne]. Thèse, Biologie végétale, Université de Bordeaux, 297p. [en ligne]. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02022911>. (Consulté le 17 juin 2021).
- GATTI M., 2014-*Evaluation de l'effet du terroir sur la teneur en stilbènes du vin* [en ligne]. Thèse, Physiologie, Université d'Angers, 244. Disponible sur :<https://tel.archives-ouvertes.fr/file/index/docid/994185/filename/These_Matteo_GATTI.pdf> (Consulter le 05 juin 2021).
- GHANBARI S., FAKHERI B.A., MAHDINEZHAD N. et KHEDRI R., 2015- Systemic Acquired Resistance. *Journal on New Biological Reports*, 4(1) :56-69.[en ligne]. Disponible sur : <https://www.researchgate.net/publication/312425728>(Consulté le 20 juin 2021).
- GRANITI A., 2006 -From 'fire esca' to 'esca of grapevine'.*Phytopathologia mediterranea*,45: 5-11. [en ligne].Disponible sur : <https://www.researchgate.net/publication/286135156_From_'Fire_Esca'_to_'Esca_of_Grapevine'> (Consulté le 10 mai 2021).

- KELLER M., VIRET O. et COLE F.M., 2003 - Botrytis cinerea infection in grape flowers: defense reaction, latency, and disease expression. *Phytopathology*, 93(3) : 316–322. [en ligne]. Disponible sur : <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO.2003.93.3.316>> (Consulté le 16 mai 2021).
- KUNTZMANN P., VILLUME S. et BERTSCH C., 2009 - Conidia dispersal of Diplodia species in a French vineyard. *PhytopathologiaMediterranea*, 48(1) :150–154.[en ligne]. Disponible sur : <<https://oajournals.fupress.net/index.php/pm/article/download/5277/5275/>> (Consulté le 15 mai 2021).
- KUNTZMANN P., VILLUME S., LARIGNON P. et 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) :71–76. [en ligne]. Disponible sur : <<https://ojs.openagrar.de/index.php/VITIS/article/view/4108>> (Consulté le 14 mai 2021).
- LACAMPAGNE S., 2010 - *Localisation et caractérisation des tanins dans la pellicule du raisin : impact de l'organisation physico-chimique des parois cellulaires sur la composante tannique, la qualité du fruit et la typicité des raisins de Bordeaux* [en ligne]. Thèse, Œnologie. Université de Bordeaux 2, 210 p. Disponible sur : <<https://hal.inrae.fr/tel-02812098/document>> (Consulté le 26 mai 2021).
- LAMBERT C., 2011- *Étude du rôle des stilbènes dans les défenses de la vigne contre les maladies du bois* [en ligne]. Thèse, Œnologie. Université Bordeaux 2, 202 p. Disponible sur: <<https://www.theses.fr/2011BOR21910/abes>>(Consulté le 11 mai 2021).
- LARIGNON P. et DUBOS B., 1997- Fungi associated with Esca disease in grapevine. *European Journal of Plant Pathology*, 103(2):147-157. [en ligne]. Disponible sur : <https://www.researchgate.net/publication/223188801_Fungi_associated_with_Esca_disease_in_grapevine> (Consulté le 11 mai 2021).

LARIGNON P., FULCHIC R., CERE L. et DUBOS B., 2001- Observation on black dead arm in French vineyards. *PhytopathologiaMediterranea*, 40(3) :336-342. [en ligne].

Disponible sur:

<https://www.researchgate.net/publication/285816345_Observation_on_Black_Dead_Arm_in_French_Vineyards> (Consulté le 14 mai 2021).

LARIGNON P., FONTAINE F., FARINE S., CLEMENT C. et BERTSCH C., 2009 - Esca et Black Dead Arm : deux acteurs majeurs des maladies du bois chez la vigne. *Comptes rendus biologiques*,332 : 765-783. [en ligne]. Disponible sur :

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1631069109001644?via%3Dihub>>

(Consulté le 10 mai 2021).

LARIGNON P., 2012 - *Maladies cryptogamiques du bois de la vigne : symptomatologie et agents pathogènes*.Institut Français de la Vigne et du Vin, 75p. [en ligne]. Disponible sur :<<https://www.researchgate.net/publication/255170066>> (Consulté le 20 mai 2021).

LARIGNON P., 2016 - *Maladies cryptogamiques du bois de la vigne : symptomatologie et agents pathogènes*.Institut Français de la Vigne et du Vin, 75p [en ligne]. Disponible sur : <<https://www.researchgate.net/publication/292616445>>(Consulté le 11 mai 2021).

LARIGNON P., BLOYP., CAHURELJ.Y., CARTIER C. et TROUVELOT S., 2017-Les maladies du bois de la vigne : mise en œuvre d'un programme de recherches pour apporter des solutions de lutte aux Professionnels.*Institut Français de la Vigne et du Vin*. 20p. [En ligne]. Disponible sur : https://www.researchgate.net/profile/Philippe-Larignon/publication/343381728_Les_maladies_du_bois_de_la_vigne_mise_en_oeuvre_d'un_programme_de_recherches_pour_apporter_des_solutions_de_lutte_aux_Professionnels/links/5f266715a6fdcccc43a24b4d/Les-maladies-du-bois-de-la-vigne-mise-en-oeuvre-dun-programme-de-recherches-pour-apporter-des-solutions-de-lutte-aux-Professionnels.pdf (Consulté le 25 mai 2021).

- LECOMPTE P., DARRIETORT G., DFIVES A., LOUVET G., LIMINANA J.M. et BLANCARD D.-2006 - Observations of Black Dead Arm symptoms in Bordeaux vineyards: evolution of foliar symptoms, localisation of longitudinal necroses, questions, hypotheses. Investigations on the control of ESCA disease by means of stem injection, IOBC/WPRS Bulletin, Boario Terme (Italy), 20-22/10/2005, 29(11):93. [en ligne]. Disponible sur :<https://www.researchgate.net/publication/319008056_Investigations_on_the_control_of_ESCA_disease_by_means_of_stem_injection> (Consulté le 16 mai 2021).
- LETOUSEY P., BAILLIEUL F., PERROT G., RABENOELINA F., BOULAY M., VAILLANT-GAVEAU N., CLEMENT C et FONTAINE F., 2010 - Early events prior to visual symptoms in the apoplectic form of grapevine esca disease. *Phytopathology*, 100 (5) : 424–431. [en ligne]. Disponible sur:<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20373962/>>(Consulté le 10 mai 2021).
- MARTOS S., ANDOLFI A., LUQUE J., MUGNAI L., SURICO G. et EVIDENTE AV., 2008 - Production of phytotoxic metabolites by five species of Botryosphaeriaceae causing decline on grapevines, with special interest in the species *Neofusicoccum luteum* and *N. parvum*. *European Journal of Plant Pathology*, 121(4) :451–461. [en ligne]. Disponible sur : <<https://www.academia.edu/download/49538135/s10658-007-9263-020161011-6502-df5rwc.pdf>> (Consulté le 15 mai 2021).
- MOHAMED N., LHERMINIER J., FAEMER M.J., FROMENTIN J., BENO N., HOUTO V., MILAT M.Z. et BLERN J.P., 2007 - Defense responses in grapevine leaves against *Botrytis cinerea* induced by application of a *Pythium oligandrum* strain or its elicitin, oligandrin, to roots. *Phytopathology*, 97(5) :611–620. [en ligne]. Disponible sur :<<https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO-97-5-0611>> (Consulté le 21 mai 2021).
- MUGNAI L., GRANITI A. et SURICO G., 1999 - Esca (Black measles) and brown wood-streaking: Two old and elusive diseases of grapevines. *Plant Disease*, 83 (5): 404-418.[en ligne].Disponible sur : <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS.1999.83.5.404>> (Consulté le 10 mai 2021).

- Organisation Internationale de la vigne et du vin. *Bases des données statistiques* [en ligne]. (Modifié le 5 mai 2021) Disponible sur : <<https://www.oiv.int/fr/>> (Consulté le 07 mai 2021).
- PEZERT R., VIRET O., PERRET C. et TABACCHI R., 2003 - Latency of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. and biochemical studies during growth and ripening of two grape berry cultivars, respectively susceptible and resistant to grey mould. *Journal of*, 151(4) : 208–214. [en ligne]. Disponible sur : <https://www.academia.edu/download/42015109/Latency_of_Botrytis_cinerea_Pers.Fr._an20160203-30232-1skjpdj.pdf> (Consulté le 16 mai 2021).
- POUZOLET J., 2012- *Développement d'une méthodologie PCR en temps réel pour la détection et la quantification in planta des principaux champignons pathogènes associés aux maladies du bois de la vigne* [en ligne]. Thèse, Interactions plantes micro-organismes, Université de Toulouse, 177 p. Disponible sur : <<https://oatao.univ-toulouse.fr/8359/1/pouzoulet.pdf>> (Consulté le 25 mai 2021).
- RANÇON F., 2019- *Imagerie couleur et hyperspectrale pour la détection et la caractérisation des maladies du bois de la vigne* [en ligne]. Thèse, COGNITIVE Automatique, productique, signal et image ingénierie cognitive, Université de Bordeaux, 231p. Disponible sur : <<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-03140819/document>> (Consulter le 8 mai 2021).
- REY P., BERTSCH C., FONTAINE F. et LARIGNON P., 2016 -Maladies du bois de la vigne avancées en France depuis 2010. *Phytoma*, 693 :7-10.[en ligne]. Disponible sur : <<https://www.researchgate.net/publication/301566992>> (Consulté le 17 mai 2021).
- SPAGNOLO A., MARCHI G., PEDUTO F., PHILIPS A.J.L. et 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(3) :485-500. [en ligne]. Disponible sur : <https://www.researchgate.net/publication/225428666_Detection_of_Botryosphaeriaceae_species_within_grapevine_woody_tissues_by_nested_PCR_with_particular_emphasis_on_the_Neofusicoccum_parvumN_ribis_complex> (Consulté le 14 mai 2021).
- VALTAUD C., FOYER C.H., FLEURAT-LESSARD P. et BOURBOULOUX A., 2009 - Systemic effects on leaf glutathione metabolism and defence protein expression caused

- by esca infection in grapevines. *Functional Plant Biology*, 36 : 260-279. [en ligne].
Disponible sur: <https://www.researchgate.net/publication/248888053_Systemic_effects_on_leaf_glutathione_metabolism_and_defence_protein_expression_caused_by_esca_infection_in_grapevines> (Consulté le 10 mai 2021).
- VALTAUD C., FOYER C.H., FLEURAT-LESSARD P. et BOURBOULOUX A., 2009-
Systemic effects on leaf glutathione metabolism and defence protein expression caused by esca infection in grapevines. *Functional Plant Biology*, 36(3) :260–279. [En ligne].
Disponible sur : <<http://dx.doi.org/10.1071/FP08293>> (Consulter le 20 mai 2021).
- VAN LOON L.C., REP M. et PIETERSE C., 2006 -Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology*, 44 :135–162. [en ligne].
Disponible sur : <<https://dspace.library.uu.nl/bitstream/handle/1874/388022/significance.pdf?sequence=1>> (Consulté le 21 mai 2021).
- VANDELLE E., POINSSOT B., WENDEHENNE D., BENTEJAC M. et PUGIN A., 2006 -
Integrated signaling network involving calcium, nitric oxide, and active oxygen species but not mitogen-activated protein kinases in BcPG1-elicited grapevine defenses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(4): 429–440. [en ligne]. Disponible sur : <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdfplus/10.1094/MPMI-19-0429>> (Consulté le 21 mai 2021).
- ZGA N., 2010- *Purification et identification de polyphénols stilbeniques présents dans la vigne* [en ligne]. Thèse, Chimie Organique, 114p. Disponible sur : <<https://biblio.univ-annaba.dz/wp-content/uploads/2014/12/ZGA-Nadia.pdf>>. (Consulté le 23 juin 2021).

Annex I

Préparation du milieu de culture PDA

Le milieu de culture PDA est favorable pour la croissance des champignons phyto - pathogènes. A chaque préparation, une dose de 0,4 g de sodium azide a été ajouté dans 1 l de milieu pour limiter les contaminations bactériennes des milieux de culture.

Voici le protocole utilisé pour la préparation de milieu de culture pour la croissance des champignons :

Constituants :

- 200 g de Pomme de terre.
- 15 g de Dextrose ou de sucre blanc de cannes
- 20 g d'agar - agar, gélose ou de gélatine.
- 1 litre d'eau distillée.

Préparation :

1. Dissoudre 20g d'agar-agar dans 300 ml d'eau distillée, homogénéiser la solution.
2. Peser 200g de pomme de terre, éplucher la pomme de terre, mélanger 200g de pomme de terre bien découpé avec 300 ml d'eau distillée, bouillir à 100° C pendant 20 à 25 minutes, ensuite recueillir l'eau de la pomme de terre environ 300 ml.
3. Le 300 ml de l'eau venant de la pomme de terre est mélangé à 300 ml de la solution agar - agar.
4. Ajuster ensuite le volume du mélange au moyen de l'eau distillée jusqu'à 1000 ml.
5. Auto - claver le mélange à la température de 125° C, la pression de 1,4 bar pendant 15 minutes.
6. Sous hotte à flux laminaire, couler la solution obtenue sur des boîtes de Pétri.

7. Laisser sécher pendant 24 à 48 heures.

En présence de PDA de synthèse, la procédure devient simple, car il suffit de :

1. Prendre 39 g de PDA de synthèse.

2. Le mélanger à 1 l d'eau distillée.

3. Secouer doucement jusqu'à obtenir un mélange homogène,

4. Auto - claver sous une pression de 1,4 bar à la température de 125°C durant 15 minutes.

5. Laisser refroidir un peu sous la hotte, puis couler la solution sur les boîtes de Pétri,

6. Laisser sécher pendant 24 à 48 heures.