

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

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA
FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Thème

**Effet fongicide de l'huile essentielle de scirpe maritime (*Scirpus maritimus L.*)
à l'égard d'un champignon lignivore (*Fomitiporia mediterranea*) des maladies
de la vigne**

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 : phytopharmacie appliquée

Présenté par : Mr. **BOUFAR ABDELWAHAB**

Devant les membres de jury composé de :

Mme. DJENAS K.	M.A.A.	U.S.D.B.	Présidente
Mme. AMMAD F.	M.A.A.	U.S.D.B.	Promotrice
Mme. BENSALD F.	M.A.A.	U.S.D.B.	Examinatrice
Mme. SABRI K.	M.A.B.	U.S.D.B.	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2012/2013

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A ma mère mon soleil de jour et astre de la nuit qui n'a pas cessé une seconde à m'encourager et qui m'a tant donné d'amour et d'affection.

A mon père Youcef affectueux qui n'a jamais omis de me soutenir.

A ma sage et seul frangine Amina et son petit-fils Wail

A mes très chères frères, Fares, Oussama et Haroune qui s'inquiètent autant ou même plus que moi pour que j'arrive victorieux au but.

A spécialement à mon frère Hamza d'avoir m'aider et me soutenir.

A surtout ma grande mère Jedda Fatima .

A mes oncles Dr.Makhlouf, Mbarek, Pharmacien Amar , l'Ingenieur Yahia ,et surtout Laborantin Aziz .Sans oublier Touhami et Khoutir.

A toute la famille.

A mes amis : Hamid ,Abdessalem, Khaled ,Sebri,Fouzi , Wail, et surtout rida qui m'ont beaucoup aidé.

A tout le groupe Dar jedda dont je garderai toujours un bon souvenir.

Enfin, je dédie ce modeste travail à ma très chère promotrice Mme. AMMAD F., La femme modeste et responsable.

Remerciements

Par le présent manuel ; je tiens à remercier Dieu tout puissant de m'avoir aidé à exécuter ce modeste travail.

Je remercie tout particulièrement ma promotrice Mme. AMMAD F .d'avoir dirigé mon mémoire de fin d'étude avec beaucoup d'efforts et de patience, ses qualités pédagogiques remarquables m'a permis de profiter de ses connaissances et ont contribué à l'avancement de mon travail en ne négligeant ni ses conseils avisés et ni ses critiques constructives. qui ont accepté de consacrer leurs temps en examinant le manuscrit.

Mes vifs remerciements et mes respects vont à Mme. DJENAS K., qui me fait l'honneur de présider le jury.

Je voulais remercier Mme. BENSALD F., d'avoir bien voulu accepter d'être membre de jury et d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier Mme. SABRI K., d'avoir bien voulu accepter d'être membre de jury et d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier aussi Mr Ramdhane S .et Mr Djazouli qui par ses conseils, son encouragement et sa disponibilité ont eu une influence décisive sur la réalisation de ce travail.

Je remercie également Melle Naima l'administratrice d'avoir m'aider et me soutenir.

Je suis honoré et je leurs exprime toute mes profondes reconnaissances.

Que Dieu nous épargne de tout malheur et exhausse nos vœux.

Abdelwahab. E

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS

DÉDICACES

RÉSUMÉ

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

REMERCIEMENTS

DÉDICACES

RÉSUMÉ

Summary

الملخص

SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
CHAPITRE I : GENERALITE SUR LA VIGNE.....	3
I.1.origine et historique.....	3
I.2. La viticulture dans le monde.....	3
I.3.La viticulture en algerie.....	4
I.4.Les principaux bio-agresseur de la vigne.....	6
II.1.Donnees generales sur les maladies du bois de la vigne.....	7
II.2.Localisation des champignons de deperissement dans la souche.....	7
II.3L'esca.....	8

II.3.1.Historique de la maladie.....	8
II.3.2.Symptomatologie.....	9
II.3.2.1.Forme lente.....	9
II.3.2.2.Forme foudroyante ou apoplexie.....	11
II.3.3.processus de dégradation du bois.....	12
II.3.4.Champignons associés	13
II.3.4.1. <i>phaeomoniellachlamydospora</i>	13
II.3.4.2. <i>phaeoacremonium aleophilum</i>	14
II.3.4.3. <i>Fomitiporia mediterranea</i>	15
II.3.4.4. <i>Stereumhirsutum</i>	15
II.3.4.5. <i>Botryosphaeriaobtusa, b. Stevensii et n. Parvum</i>	16
II.3.5. Facteurs de développement de la maladie du dépérissement.....	16
II.3.5.1 Conditions climatiques.....	16
II.3.5.2 Cépages.....	16
II.3.5.3 Age de la vigne.....	17
II.3.5.4 Mode de conduite.....	17
II.4. La lutte contre le dépérissement de la vigne.....	17
II.4.1.protection raisonnée contre l'eutypiose.....	18
II.4.1.1.Lutte chimique.....	18
II.4.1.2.Mesure curatives.....	18
II.4.1.3.Lutte génétique.....	19
II.4.1.4.Limiter l'inoculum.....	19

II.4.1.5.Limiter le nombre des plaies de taille.....	19
II.4.1.6. Conduire les souches.....	19
II.4.1.7.Lutte biologique.....	20

CHAPITRE II : DONNÉES GÉNÉRALES SUR LES HUILES ESSENTIELLES ET LA PLANTE UTILISÉE

I.1. Les huiles essentielles.....	21
I.1.1. Définition.....	21
I.1.2. Histoire de leur utilisation.....	21
I.1.3. Localisation.....	21
I.1.4. Composition chimique des H.E.....	22
I.1.5. Les facteurs de variabilité des huiles essentielles.....	22
I.1.6. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	22
I.1.6.1. En thérapeutique.....	22
I.1.6.2. En cosmétologie.....	22
I.1.6.3. En agroalimentaire.....	22
I.1.7. Les méthodes d'extraction.....	23
I.1.7.1. L'extraction par l'entraînement à la vapeur.....	23
I.1.7.2. Hydrodistillation	23
I.1.7.3. Hydrodiffusion	23
I.1.7.4. Extraction par solvant volatil.....	23
I.1.7.5. L'expression.....	24

I.1.7.6. Enfleurage.....	24
I.1.7.7. L'extraction au CO2 supercritique.....	24
I.1.8. Les facteurs à considérer pour la mise en œuvre des procédés d'extraction.....	25
I.1.8.1. La matière végétale.....	25
I.1.8.2. La température.....	25
I.1.8.3. Hydromodule	25
I.1.8.4. Durée d'extraction.....	25
I.1.8.5. La nature du solvant.....	25
II. PRESENTATION DES MACROPHYTES.....	26
Introduction.....	26
II.1. Définition.....	26
II.2. Classification.....	26
II.3. Importance écologique.....	26
II.4. Présentation de la plante : Scirpe maritime (<i>Scirpus maritimus L.</i>).....	27
Introduction.....	27
II.4.1. Systématique.....	27
II.4.2. Répartition.....	27
II.4.3. Caractéristiques botaniques.....	28
CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES	
Objectif	32
I. Matériel d'étude.....	32
I.1. Matériel biologique.....	32

I. 1.1. Présentation de la souche fongique.....	32
I.1.2. Maintien de la souche fongique.....	32
I.1.3. L'espèce végétale.....	33
II. Présentation générale de la région d'étude	33
II.1. Situation géographique et administrative.....	33
II.1.1. Localisation générale.....	33
II.1.2. Etude du climat de la région d'étude.....	34
II.1.2.1. La température	34
II.1.2.2. Les précipitations.....	35
III.1. Récolte du matériel végétal.....	36
III.2. Extraction de l'huile essentielle.....	37
III.2.1. Hydrodistillation.....	37
III.2.1.1. Détermination de rendement en huile essentielle.....	37
III.2.1.2. Méthode d'analyse chromatographique	38
III.2.1.3. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) : +CPG /SM.....	38
III.2.1.3.1. Principe	38
III.2.1.3.2. Conditions d'analyse chromatographique CPG et CPG/SM.....	38
IV. Préparation des doses des huiles essentielles.....	39
V. Application des traitements biologiques	39
VI. Analyse statistique.....	41
 CHAPITRE IV : RESULTAT ET DISCUSSION	
I. RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS.....	42
I. Résultats d'extraction de l'huile essentielle.....	42
I.1. Le rendement en huile essentielle de <i>Scirpus maritimus</i> L.....	42

I.2.La composition chimique de l'Huile essentielle de <i>Scirpus maritimus</i> L.....	42
I.3.Profil Chromatographique (PC1).....	42
I.4. Évaluation de l'activité fongicide de l'huile essentielle de Scirpe maritime.....	43
I .5 . Effets comparés de l'efficacité de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime sur le champignon.....	47
II. Discussion.....	50
II.1.Evaluation de rendement des huiles essentielles.....	50
II.2.Evaluation de l'activité fongicide de l'huile essentielle à base de scirpe maritime.....	51
CONCLUSION.....	55
ANNEXES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.	Situation de la viticulture en Algérie	5
Tableau 2.	les principaux bio-agresseurs de la vigne	6
Tableau 4.	Composition chimique de l'huile essentielle de Scirpe maritime	43
Tableau 5.	Résultats des tests du pouvoir antifongique de l'huile essentielle	43
Tableau 6.	Tableau d'analyse de la variance des différents paramètres étudiés	47

CHAPITRE I : GENERALITE SUR LA VIGNE

I.1. Origine et historique

L'histoire de la vigne et du vin accompagne l'humanité depuis des millénaires. Certains indices tel que la présence de pollen, de grain, et de feuilles fossiles, permettent de dire que la vigne existait au 1^{er} tertiaire en Asie mineure, en Europe orientale et en Amérique; mais la culture de la vigne a débuté à partir du refuge de transaction ou les hommes se sont sédentarisés et ont découvert l'intérêt alimentaire de cette plante (Bouquet, 1982). Les migrations des hommes vers le Sud (Palestine, Egypte) puis vers l'Ouest (Grèce et Empire Romain) ont assuré le transport de la plante vers d'autres régions.

Selon Robinson (1988), la culture de la vigne a débuté il y a plus de 4000 ans à partir d'espèces sauvages du Proche Orient ; les Grecs sont les initiateurs de la viticulture en Europe Méditerranéenne. Le premier vignoble était implanté à Massalia (aujourd'hui Marseille), mais c'est avec l'arrivée des Romains que la viticulture a connu une extension, surtout sur le pourtour de la Méditerranée, ce qui explique sa présence en Algérie.

I.2. La viticulture dans le monde

Dans le monde, le raisin est consommé à l'état frais, sec ou pressuré. En Europe, la culture viticole est beaucoup plus concentrée vers la production du vin. Dans les pays musulmans d'Afrique et d'Asie, la viticulture est diversifiée (raisin de table, frais, sec, jus et concentrés de raisin).

D'après des données de OIV (Organisation International de Vin et Vigne) en 2009 la superficie du vignoble mondial es de 7 742 000 ha. qui se répartie comme suit :

- L'Europe avec près de 58.4% du vignoble mondial ; 4 581 328ha. les pays d'importance viticole sont l'Espagne avec 1165000 ha, l'France avec 852000 ha et l'Italie avec 840 000 ha.
- L'Asie avec 21.1% de vignoble mondiale avec superficies de, 1633562 ha : la Turquie avec 517000 ha, la Chine ave 470 000ha et Iran avec 330000 ha.

- L'Amérique représente 12,8 % du vignoble mondial avec une superficie de 990976 ha, l'USA avec 398000 ha, l'Argentine avec 227000 ha et Chili avec 198000 ha.
- L'Afrique avec près de 5% de vignoble mondial dont la superficie, qui est de 387100 ha pour l'Afrique du Sud, l'Algérie de 350000 ha et le Maroc de 116 000 ha,

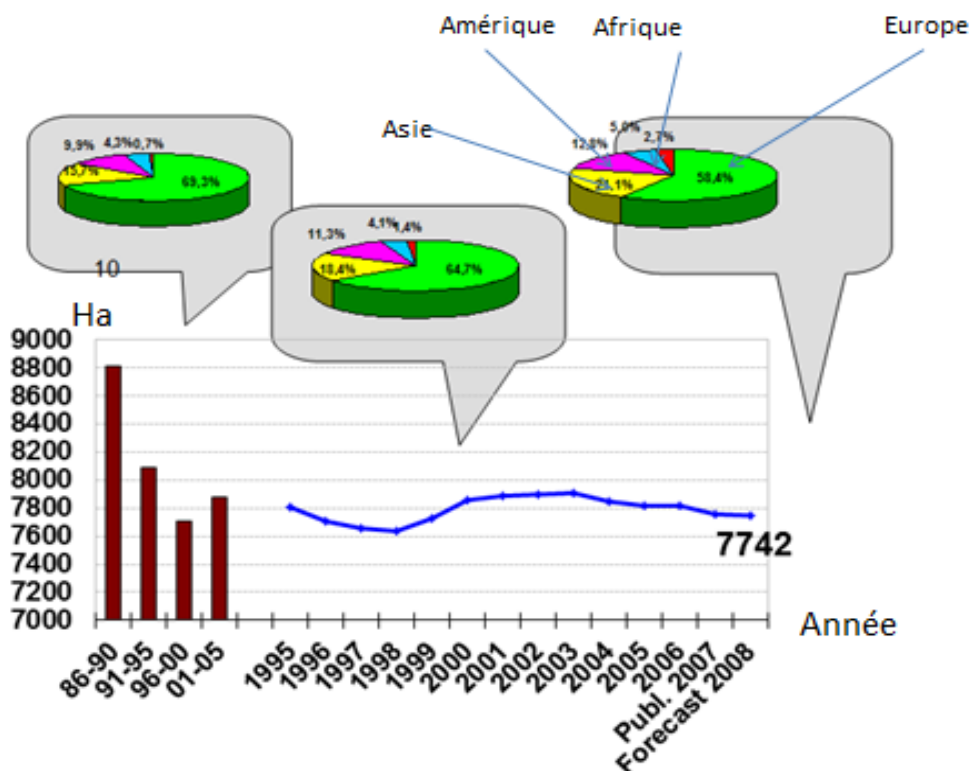


Figure 1 :Surface de vignobles dans le monde (O.I.V, 2008).

oiv

I.3.La viticulture en Algérie

En Algérie, avant 1962 la superficie viticole était composée en grande partie par des cépages à vin, dont la production était destinée à l'exportation. Selon les données du ministre de l'agriculture et développement rurale pour l'année 2009, La surface en vigne de vin était de 355 000 ha alors que celle du raisin de table était seulement de 5 000 ha. Il va de même pour la superficie réservée au champ pied -mère (c.p.m) réduite à 74 ha alors que celle destinée au raisin sec était presque inexistante (O.I.V, 2009).

A la fin des années soixante, divers programmes de reconversion et de reconstitution des vignobles algériens ont été mis en place. Cependant, rare étaient les cultures susceptibles d'offrir les mêmes possibilités d'emploi que la vigne. Ce n'est que dans les années soixante-dix, que les régions viticoles s'étant réduite progressivement, et qu'un réel effort fut fait pour affronter les réalités économiques et pallier les manques de débouchés (Robinson. 1994).

Le développement de la viticulture a pris une place importante dans la nouvelle vision du développement du secteur agricole, à travers le Plan National de Développement Agricole (PNDA) qui a été initié à partir de l'an 2000. Ce plan vise à relancer cette culture en Algérie, notamment dans les régions à vocation viticole (Mascara, Médéa, Ain temouchent...) (Ammad, 2006). Ainsi les superficies et les productions en cette culture ne cessent pas d'évoluer d'année en année (Tableau 1). Ces données montrent clairement le regain d'intérêt visé à vis de la vigne. A titre d'exemple les superficies en vigne de table ont gagné plus de 32% entre 2001 et 2004. Même la vigne de cuve a évolué en surface (56%), et en production (77%), durant cette période, le raisin sec et évolue en surface (78%). De même pour les champs de pied mère où le gain en surface est l'ordre de 52%.

Tableau.1: Situation de la viticulture en Algérie(O.I.V,2009)

Année	Superficie (ha)				Production (qx)			
	2001	2002	2003	2004	2001	2002	2003	2004
Vigne de table	38.260	41.860	48.520	50465	1.612.580	1.881.390	2.157.140	2.220.550
VIGNE DE CUVE	30.190	38.010	45.380	47.070	347.570	458.510	619.140	661.000
Raisin sec	90	120	125	161	1.440	4.070	3.100	2.450
Champs de pied mère	1.140	1.560	1.605	1.736	Nd	Nd	Nd	Nd
Total	69.680	81.550	86.760	99.430	1.961.590	2.323.970	2.668.120	2.893.000

I.4. Les principaux bio-agresseur de la vigne

Comme toute culture, la vigne en raison de sa pérennité et de ces caractéristique botanique (cep, feuillage), est sujette à de nombreux bio-agresseur et dégâts d'origine abiotique (le froid, la grêle, la neige et le vent), les dégâts d'origine biotique sont causées par déferant ravageur et agent phytopathogène

Tableau 2 : les principaux bio-agresseurs de la vigne (Galet, 1991)

Catégorie	Agents
Nématodes	Nématodes à galles <i>Meloidogynes</i> Nématodes du genre <i>Xiphinema sp</i>
Les Arachnides	Erinose: <i>Colomerusvitis</i> . Acarien rouges <i>Panomychus ulmi</i> .
Insectes	La cicadelle de la flavescence dorée <i>Scaphoideus titanus</i> La cicadelle verte <i>Compoasca vitis</i> Drosophile des raisins : <i>Drosophila melanogasteir</i> .
Bactéries	<i>Xanthomonas ampilina</i> <i>Agrobacterium tumifaciens</i>
Virus	Le court noué: (GFLV). Flavescence dorée
Champignons	Le mildiou : <i>Plasmopara viticola</i> . L'oïdium : <i>Uncinulanecator</i> . La pourriture grise : <i>Botrytinia fuckuliana</i> . L'Excoriose : <i>Phomopsis viticola</i> . La maladie de l'ESCA Le pourridié agaric : <i>Armmilia rellamellea</i> Le pourridié laiteux : <i>Rosellinia necatrix</i> BDA : <i>Botryosphae ria spp</i>

Nous constatant une grande variabilité des agents responsables des dégât sur la vigne. Même si historiquement le mildiou de la vigne et plus connu à travers le monde, les autres maladies demeurent dangereuses et occasionnent des pertes économique très dommageables allant à la destruction totale des vignoble. Parmi ces maladie, les affections de bois occupent une place importante, en raison des pertes signalé ces dernier année dans déférant région dans le monde (Viret et Gindro, 2006).

II.1.Donnees générales sur les maladies du bois de la vigne

Selon Larignon et *al*, 2009,Il a recensé été trois principales maladies du bois : l'eutypiose, l'esca et le BDA. Ces maladies de dépérissement sont associées à la présence de différents champignons capables de dégrader les tissus ligneux: *Eutypalata*,*Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeocremonium aleophilum*,*Fomitiporia mediterranea*, *Botryosphaeria oblongata*, *Neofusicoccum parvum* et *Botryosphaeria stevensii*.

Ces maladies s'expriment au niveau du bois par la formation de nécroses sectorielles et/ou centrales, par la présence de bandes brunes ou de chancres dans le tronc et les bras et au niveau foliaire par des décolorations et des dessèchements qui peuvent être foudroyants (Guerin ,2004).

II.2.Localisation des champignons de dépérissement dans la souche

L'étude réalisée par Larignon (2005) a démontré qu'en ne tenant compte que du taux de contamination dans les plants, seuls quelques plants devraient être infectés par *Phaeomoniella chlamydospora* et *Phaeocremonium aleophilum* (Larignon. 2005) .Les plants traditionnels sont préparés de façon à éliminer les feuilles, Des prélèvements ont lieu à 7 niveaux du plant

- Greffon (G)
- Soudure (S)
- Porte-greffe : 1 cm sous la soudure (PG1)
- Au centre du porte-greffe (PG2)
- 5 mm au-dessus de la plaie d'éborgnage (PG3)
- Plaie d'éborgnage (P e)
- Talon (PG4)

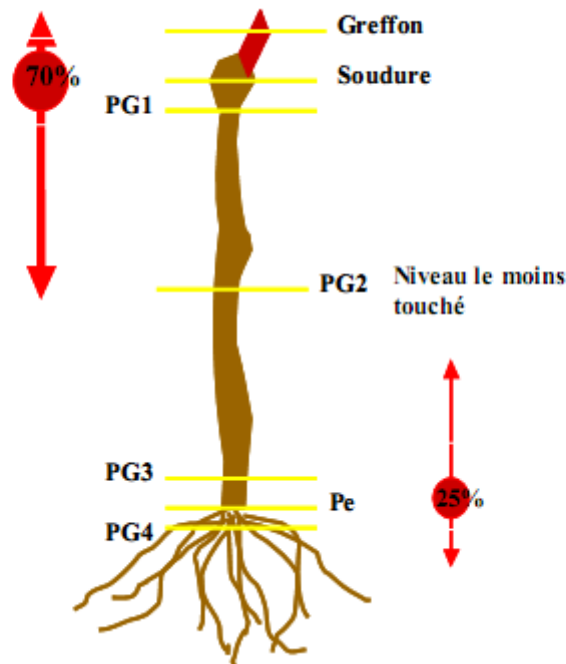


Figure 2 :Principales localisations des champignons associés aux maladies du bois.(Galet, 1999).

Pch : *Phaeoconiella chlamydospora*, Pal : *Phaeocremonium aleophilum*

Lors de l'enquête, les champignons sont préférentiellement isolés à deux niveaux (Figure 2) :

La zone de soudure qui semble être prépondérante

Base du plant (plaie d'éborgnage et talon) plus mineure.

II.3L'Esca

II.3.1.Historique de la maladie

L'esca, maladie cryptogamique, décrite sous le nom de pourriture à l'avènement de notre ère est plus particulièrement présente dans les vignobles de l'hémisphère Nord. Elle a été décrite tout d'abord sous sa forme apoplectique, dont l'origine fut longtemps indéterminée et attribuée à un accident d'ordre physiologique qui était désigné sous le nom

de folletage. Ce n'est qu'à la fin du XIX^{ème} siècle que cette forme fut attribuée à un champignon et de ce fait distinguée du folletage. En 1922, le terme esca a été introduit pour désigner cette maladie caractérisée par la présence d'une pourriture blanche et par la forme apoplectique. L'esca est un terme d'origine languedocienne ou provençale qui signifie amadou (= pourriture blanche). Il était désigné auparavant sous le nom d'iska en Grèce ou de yesca en Italie. Entre 1923 et 1931, d'autres formes d'expression ont été décrites sous le nom d'apoplexie lente (Mugnai et al .1999).

II.3.2.Symptomatologie

Selon la nature et l'évolution des symptômes de dépérissement, l'esca présente deux formes différentes : la forme lente et la forme foudroyante (Galet, P; 1999)

II.3.2.1.Forme lente : La forme lente de l'esca est associée à différentes nécroses dans le bois. Elle peut être reliée à une pourriture blanche, à la présence d'une nécrose brune en position centrale ou à des ponctuations noires (correspondant à des vaisseaux nécrosés)(Figure 3) lorsque la maladie n'est pas très évoluée ou avancée. Elle est caractérisée aussi par des digitations jaunes (cépages blancs)(Figure4) ou rouges, bordées de jaune (cépages noirs) (Figure 5) entre les nervures qui restent vertes (Larignon, 2009).



Figure 3 : Nécrose centrale ponctuations noires(Larignon, 2009).

digitations jaunes
(cépages blancs)



digitations rouges, bordées
jaune (cépages noirs)



Figure 4 : Symptôme sur Cépage
blanc (Larignon, 2009)

Figure 5 : Symptômes sur
cépages noirs(Larignon, 2009)

Les symptômes sur les grappes sont variables selon la région et le cépage. Les grappes peuvent paraître normales, mais les baies restent petites et mûrissent mal finissant par s'éclater et se dessécher.

Dans le cas où les symptômes sont absente sur les feuilles, des taches bleuâtres à noirâtres apparaissent sur les baies (Figure 6). Cette manifestation est très fréquente dans les vignobles de raisin de table en Californie correspondant au faciès « Black measles ».En France, hormis le retard de maturation et quelques cas de flétrissement de la grappe, l'esca sous sa forme lente ne montre pas de symptômes caractéristiques au niveau des baies. (Galet, 1999).

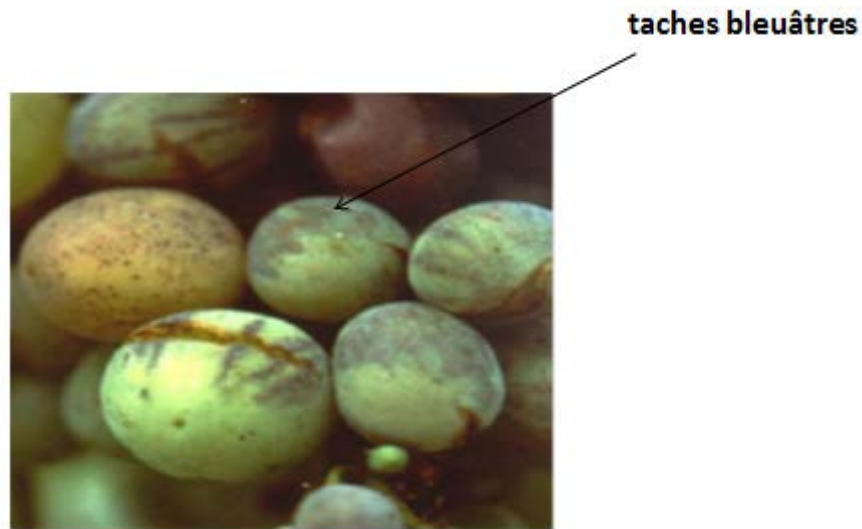


Figure 6 : Symptômes sur les bais. (Larignon, 2009)

II.3.2.2. Forme foudroyante ou Apoplexie : Se caractérise également par la présence de digitations inter-nervales, mais se distingue de la forme lente de l'esca par l'absence de liseré jaune dans les premiers stades de l'apparition des symptômes (Larignon, 2009), se manifeste pendant les périodes de fortes chaleurs et souvent à la suite d'un orage. Contrairement à la forme lente, un dessèchement rapide des feuilles, rameaux et grappes survient en l'espace de quelques heures. Dans ces conditions, aucune pousse ne réapparaît l'année suivante. Selon Arnaud et Arnaud tout se passe comme si le tronc et les bras de la souche avaient été sectionnés. Dans certains cas, les dégâts sont limités à une partie du cep. Au niveau du bois, les nécroses sont identiques à celles observées avec la forme lente (Figure 7)



Figure 7: Forme foudroyante de l'esca

II.3.3. Processus de dégradation du bois

Deux processus menant à la formation de cette nécrose ont été décrits.

Le premier processus aboutit à la formation d'une nécrose claire et tendre en position central et fait intervenir trois champignons : *Phaeoacremonium aleophilum* et *P. chlamydospora*, trouvés dans une nécrose brune et dure en position centrale, et *Fomitiporia mediterranea*, Fischer = *Fomitiporia punctata*, Murrill = *Phellinus punctatus*, responsable de la pourriture blanche (Morat, 2009).

Le deuxième processus impliqué par *Eutypalata*, responsable de la nécrose brune en position sectorielle, et *F. mediterranea* qui dégrade ce bois brun en une pourriture blanche. (Morat, 2009)

Les deux processus peuvent être observés sur la même plante. *F. mediterranea* est le champignon le plus trouvé dans la pourriture blanche en France, en Italie, en Espagne et en Allemagne. D'autres champignons sont responsables de la pourriture blanche tel que *S. hirsutum* dont la présence dans les ceps atteints d'esca est décrite en Hongrie, en France et en Autriche. Ces champignons ne semblent pas être présents sur les autres continents. Les microorganismes responsables de la pourriture blanche sur les autres continents sont différents de ceux trouvés en Europe. Fischer signale la présence de *Fomitiporia*

polymorphaen Amérique du Nord, *Fomitiporia australiensis* et de deux taxons inconnus en Australie, trois taxons inconnus en Afrique du Sud, *Inocutis jamaicensis* et *Fomitiporella vitis* en Amérique du Sud, associés respectivement à la Hojâ de Malvon et à l'enroulement chlorotique des feuilles (Larignon, 2007).

II.3.4.Champignons associes

Cette maladie fut initialement attribuée à un seul champignon à la fin du XIXème siècle La présence de carpophores de *Stereumhirs utum* (Willd. : Fr.) et de *Phellinus igniarius* sur les ceps dépérissant suggérait au début du XXe siècle, que ces champignons en étaient responsables. Concevait d'ailleurs que suivant les régions, de telles espèces de champignon lignicole prédominaient plutôt qu'une autre. En 1959, Chiarappa soulignait l'importance d'un autre champignon dans la maladie, *Cephalosporium* sp. qui, par la suite, a été identifié comme étant *Phaeomoniella chlamydospora*(W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnâi) Crous et W. Gams ; il considérait également *S. hirsutum* comme un agent saprophyte et mettait en évidence le caractère parasitaire de *P. igniarius*. A la fin du XXe siècle, l'esca était donc plutôt attribué à un complexe de champignons qui, par leur succession dans le bois conduisait à la formation de la nécrose qui lui est caractéristique. (Mostert ,2003)

II.3.4.1.Phaeomoniella chlamydospora

Ce champignon est présent dans la majorité des vignobles. Outre l'esca, ce champignon est associé à la maladie de Petri, affection des jeunes plantations qui est signalée en Afrique du Sud, Europe, Etats-Unis et en Australie. Il appartient à la Classe des Ascomycètes de la famille des Herpotrichiaceae :sa forme sexuée n'est pas connue. La description de ce champignon est signalée par Crous et al(2000). Ses conditions de culture (température, pH) sont décrites par Whiting et al(2001). *P. chlamydospora* a été classé parmi les champignons de bleuissement car il ne dégrade pas les parois cellulaires. Les enzymes produites et identifiées sont des polygalacturonases, des polyméthylgalacturonases, des β -glucosidases et des endo- β 1,4 glucanases. Des polysaccharides extracellulaires ont été également identifiés ainsi que neuf autres métabolites dont certains sont considérés comme étant des toxines potentielles (p-hydroxybenzaldéhyde) .*P. chlamydospora* inhibe la formation du cal, provoque une forte mortalité des greffés-soudés

s'il est inoculé au niveau de la soudure et diminue la vigueur des plants. Aucun élément n'est apporté au sujet des déterminants du pouvoir pathogène. (Larignon, 2009).

Les conidies sont de forme oblongue leurs taille est de 2,4 à 6 x 1 à 2µm. La présence de chlamydospores est caractéristique de cette espèce, elles apparaissent généralement sur les cultures âgées d'au moins un mois. Les colonies se développent lentement avec un optimum thermique de 25°C (Crous et Gams, 2000)

II.3.4.2. *Phaeoacremonium aleophilum*

Il est présent dans la majorité des vignobles .Sa description a été réalisée par Crous et al(2000). Et ses conditions de culture par Whiting et al(2001).Il appartient à la Classe des Ascomycètes et à l'Ordre des Calosphaeria les.La forme sexuée a été obtenue *in vitro* par le croisement de souches compatibles sur milieu de culture ou par incubation en conditions humides de souches atteintes d'esca. Des périthèces du genre *Togninia* sont obtenus au bout de 3–4semaines d'incubation et la comparaison avec la morphologie d'autres(Mugnai et al.,1999).

La forme téléomorphe de *P. aleophilum* qui est *Togninia minima*. a été décrite pour la première fois par Hausner et al(1992). Sur différents hôtes[Aulne, Saule, *Prunus pennsylvanica*], puis a été observée dans le vignoble californien. Ce champignon est aussi rencontré sur d'autres plantes-hôtes notamment l'olivier. Ce champignon a été classé parmi les champignons de la pourriture molle car il se développe à l'intérieur des parois secondaires en y provoquant la formation de cavités. Les enzymes produites et identifiées sont des xylanases, des β-glucosidases et des endo-β 1,4glucanases ainsi que sept autres métabolites identifiés comme étant des toxines potentielles (naphthalenones). Contrairement à *P. chlamydospora*, *P. aleophilum* n'inhibe pas la formation du cal au niveau de la souduregreffon/porte-greffe. Les déterminants du pouvoir pathogène n'ont pas été identifiés mais son rôle important dans la progression des nécroses dans le bois a été montré. (Larignon, 2009).

Les conidiophores sont simples ou ramifiés, le plus souvent pigmentés et plus particulièrement au niveau des cellules basales. Les phialides présentent des collerettes, les conidies sont hyalines de forme oblongue, ellipsoïdale voire allantoïde, droite ou légèrement courbée, leur taille est de 4 à 5,5 x 1,6 à 2 µm. Il n'y a pas de chlamydospores. Sa température optimale de croissance est de 30°C. (Erkan, 2000).

II.3.4.3. *Fomitiporia mediterranea*

F. mediterranea (désigné auparavant sous le nom de *Phellinus punctatus* et de *Fomitiporia punctata*). Il appartient à la classe des Basidiomycètes et à l'ordre des Hyménochaetales. Ses conditions de culture et sa description sont données par Fischer (2002). Il est rencontré sur différentes plantes : *Vitis vinifera*, *Olea europaea*. Ce champignon a été classé parmi les champignons de la pourriture blanche, car il dégrade complètement les parois cellulaires. Les enzymes produites et identifiées sont des xylanases, des cellulases, des β -1,3 glucanases, des laccases, des peroxydases et des phénoloxydases. D'autres métabolites de type phydroxybenzaldéhyde sont produits par le champignon. (Larignon, 2009).

Peu d'études ont été réalisées sur son cycle biologique. Il se conserve sous forme de basidiomes sur les parties malades de la plante, et se dissémine lorsque les températures sont supérieures à 10 °C et le taux d'hygrométrie est supérieur à 80%. La présence du champignon sur les plaies de taille récente a été montrée par des outils moléculaires (PCR pour Polymerase Chain Reaction). Les études sur sa variabilité génétique suggèrent fortement qu'il se propage par les basidiospores dans le vignoble (Fischer, 2002)

Les basidiospores sont globuleuses, hyalines, lisses et leur diamètre varie de 5 à 6 μ m. Les cultures de ce champignon sur malt gélosé sont blanches au début, deviennent très rapidement jaunes à ocre et présentent un aspect velouté. Le mycélium pousse de 4 à 5 cm de diamètre en deux semaines à 22°C (Fischer, 2002).

II.3.4.4. *Stereum hirsutum*

Ce champignon appartient à la division des Basidiomycètes, à l'ordre des Stéreales et à la famille des Stéreales. Il se caractérise par des fructifications aux lames coriaces, à bords retournés avec une pilosité caractéristique de la face supérieure et un hyménium orange à brun clair. Leur taille varie de 0,5 à 1,5 cm. Les Basidiospores sont hyalines, ellipsoïdes à cylindriques (5 à 7,5 x 2,9 à 3 μ m). Ces fructifications n'apparaissent que rarement dans les vignobles. Les cultures de *Stereum hirsutum*, sur le milieu malt gélosé, présentent une croissance rapide, 5 à 6 cm par semaine à 22°C. Au fur et à mesure du vieillissement, la couleur varie du blanc vers le crème puis l'ocre. Les

hyphes présentent des anses d'anastomose, leur longueur varie de 1,9 à 8 μm . (Dubos, 2003).

II.3.4.5. *Botryosphaeria obtusa*, *B. stevensii* et *N. parvum*

Ces champignons sont présents dans la majorité des vignobles. Ils sont rencontrés sur différentes plantes : *Vitis* spp, arbres fruitiers, ... et peuvent provoquer un grand nombre de dépérissements. Ils appartiennent à la Classe des Ascomycètes et à la famille des Botryosphaeriaceés. Peu d'informations sont données sur le type de pourriture qu'ils provoquent dans le bois et sur leur équipement enzymatique. *B. obtusa* secrète du tyrosol, des mélléines, des dérivés de la mélléine. Aucune relation entre la pathogénie et le taux de toxines produites n'a été mise en évidence (Morat, 2009). Leur cycle biologique sur vigne est peu connu. Ils se conservent sous forme de pycnides qui sont localisées soit sur le cep (tronc, bras, plaies de taille), soit sur les bois de taille laissés au sol. Ils se disséminent plus particulièrement pendant la période végétative de la vigne. Ils peuvent également se propager par les bois de porte-greffes ou de greffons en pépinières (Larignon, 2007). Aucun élément n'est apporté au sujet des déterminants de leur pouvoir pathogène.

II.3.5. Facteurs de développement de la maladie du dépérissement

II.3.5.1. Conditions climatiques

Le climat semble jouer un rôle important sur l'expression des symptômes de l'Esca. On sait, par exemple, que l'apoplexie se manifeste en été, souvent lorsqu'un temps chaud suit une pluie, probablement parce que l'évapotranspiration n'est pas compensée par un apport en eau suffisant des vaisseaux du bois, qui ne sont que partiellement ou plus du tout fonctionnels. Il est à signaler à ce propos que l'Esca est plutôt une maladie des vignobles méditerranéens que des vignobles septentrionaux (Dubos, 2002).

II.3.5.2. Cépages

La plupart des variétés de *Vitis vinifera* sont susceptibles à l'esca. Cette sensibilité est mal définie, mais semble à peu près identique à celle établie pour l'eutrophie (Dubos,

1999). Sparapano et al(2001) ont comparé la sensibilité de deux cépages (Italia et Matilde) en inoculant *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phaeoconiella chlamydospora* et *Fomitiporia punctata*, individuellement et en combinaison, ils ont constaté que le cépage Italia est plus sensible aux différents champignons testés. Des symptômes au niveau des feuilles et sur les baies ont été visibles plus tôt, au bout de deux ans, sur le cépage Italia, aussi, la colonisation des tissus du bois est plus importante pour l'Italia que matilde.(Sparapano, 2001).

II.3.5.3. Age de la vigne

L'esca a toujours été considérée comme étant une maladie des vignes âgées, cela est en relation avec le nombre de plaies de taille qui augmente avec l'âge de la vigne (Dubos, 2002). Cependant, des vignes âgées de 4 à 5 ans, peuvent présenter des symptômes foliaires de l'esca. Sur les plants de 10 ans et plus que les symptômes et dommages deviennent plus apparents (Mugnai, 1999).

II.3.5.4. Mode de conduite

Le mode de conduite qui cause de grosses plaies de taille crée les conditions idéales pour le développement de l'esca. Il a été montré que l'incidence de la maladie étant de 0,1 % pour les vignobles taillés en Cordon bilatéral et de 15 à 20 % pour ceux taillés en Guyot double (Mugnai, 1999).

Selon Galet les dommages causés par les gelées d'hiver, l'excoriose et les coupes de taille sur les bras pour modifier le mode de conduite afin de s'adapter à la vendange mécanique, sont des facteurs favorables à l'extension de la maladie (Galet, 1995).

II.4. La lutte contre le dépérissement de la vigne

Les maladies de la souche, préoccupent depuis toujours les vignerons. C'est ainsi qu'à l'avènement de notre ère, les agronomes préconisaient afin d'empêcher "les pourritures" qui étaient une des causes de la mort des ceps, d'éviter ou de protéger les grandes blessures de taille (P. l'Ancien.1984).

Ils recommandaient également de guérir les souches en train de pourrir soit par curetage, soit par recépage. La constante préoccupation de protéger les plaies de taille ou encore de diminuer leur nombre et leur surface, ou de rechercher une période de taille idéale, se retrouve chez les agronomes d'hier et les phytopathologistes d'aujourd'hui. A

l'aube du XXème siècle, la lutte à l'égard de l'esca a trouvé son originalité dans la découverte tout à fait fortuite de l'efficacité de l'arsénite de sodium (Ravaz,1919).

II.4.1. Protection raisonnée contre l'eutypiose

Les maladies du bois ne se soignent pas encore. Les moyens d'intervention visent essentiellement à réduire les sources d'inoculum, à éviter les contaminations, à régénérer les plants malades au début de la manifestation des symptômes et, dans l'avenir, à limiter l'incidence des contaminations sur la pérennité de la souche. (Reynier, 2007).

Par prévention, En supprimant et en brûlant tous les bois morts (souches, bras, cornes), en éliminant les tas de souches exposées à la pluie, y compris les souches utilisées comme bois de chauffage. Le nettoyage des vignes doit être réalisé avant la taille pour éliminer l'inoculum et après la taille pour éliminer les bois de deux ans et les bras. Ces mesures doivent être prises par l'ensemble des viticulteurs pour tenir compte du transport des spores sur de longues distances.

II.4.1.1. Lutte chimique

En protégeant toutes les plaies de taille avec un fongicide. L'Escudo (association de flusilazole et de carbendazime), un fongicide qui a été homologué pour l'eutypiose par exemple (mais peu utilisé par les viticulteurs du fait de son fort coût de main d'œuvre car le produit est appliqué par badigeonnage) et retiré du fait de sa toxicité en 2007. (Dubos, 1991). Ce produit qui a une pénétration rapide et profonde dans le bois, assure une protection à la fois mécanique et chimique. Il est appliqué avant le stade B, au pinceau (2,5 l/ha pour 50 000 plaies de taille), au tampon (2 l/ha pour 50 000 plaies de taille) ou bien avec un petit pistolet fixé sur un sécateur pneumatique (4,5 l/ha pour 50 000 plaies) (Reynier, 2007).

II.4.1.2. Mesure curatives

Il n'existe, pratiquement aucune méthode de lutte curative. Cependant, nous pouvons envisager les mêmes techniques et conduites culturales, conseillées dans le cas de l'eutypiose, pour diminuer et ralentir la maladie (Fischer, 2002)

II.4.1.3.Lutte génétique

Des travaux de biotechnologie (régénération in vitro à partir des tissus ou des cellules) ont déjà donné naissance à des plants d'ugni blanc tolérants à l'eutypiose, pour le moment en cours du test au champ .un autre programme de recherche, lancé par la société Martell à Cognac, basé sur la génie génétique ; vise à obtenir des plants résistants par l'introduction des gène de résistance contre l'eutypiose dans le génome de la vigne.

II.4.1.4.Limiter l'inoculum

Les ceps présentant des symptômes sont repérés et marqués au niveau du tronc. Les bras et les ceps morts sont enlevés et brûler avant la taille d'hiver(Dubos, 1994).

II.4.1.5.Limiter le nombre des plaies de taille

Les blessures accidentelles (choc par un outil aratoire ou occasionnées par des gelées d'hiver) et les blessures provoquées par les instruments de taille mettent à nu les tissus qui se dessèchent en formant du bois mort. La taille annuelle et, surtout, les tailles de rajeunissement et le recépage sont des sources importantes de blessures pour la vigne et donc de contamination. La zone mortifiée est d'autant plus grande que la plaie est importante. Si les conditions climatiques sont favorables aux parasites, ces plaies de taille peuvent être contaminées, et elles le sont souvent par divers parasites (Sparapano, 2001).

La plante-hôte, la vigne, dispose de son côté de deux types de barrières de défense :

Les unes passives qui agissent de deux manières au niveau des surfaces tissulaires soit en développant des obstacles à la pénétration, soit en opposant des barrières biochimiques (exsudais, composés phénoliques, tanins) ; Mais dès qu'il y a une plaie, notamment par la taille, la vigne ne dispose plus momentanément de défense alors que le parasite dispose d'enzymes capables de traverser les parois cellulaires puis de digérer les tissus. La réceptivité de la vigne est alors maximale.(Reynier, 2007).

II.4.1.6 Conduire les souches

La façon de conduire les vignes et le comportement du tailleur sont des éléments déterminant de la pérennité des vignes. Pour prévenir ces dérives et maîtriser l'expression végétative des vignes, seule une gestion technique raisonnée, initiée dès la plantation, permet de se protéger, sans toutefois l'empêcher totalement, contre un dépérissement précoce de certaines parcelles de vignes d'une exploitation agricole. (Reynier, 2007).

II.4.1.7 Lutte biologique

Les recherches portent de plus en plus sur l'effet de micro-organismes utilisés en lutte biologique, notamment les *Trichoderma*. Ces champignons présentent une activité antagoniste et d'hyperparasitisme à l'égard d'un grand nombre de microorganismes, plus particulièrement ceux du sol et sont utilisés en lutte biologique à l'égard de diverses maladies sur différentes cultures. (Larignon, 2009.)

La lutte biologique est une méthode complémentaire à la lutte chimique qui se base sur l'utilisation de biopesticides d'origine microbienne permettant d'attaquer et de contrôler les agents phytopathogènes (champignons, bactéries, nématodes ou protozoaire) (Fravel, 2005). En plus des biopesticides microbiens, les pesticides biochimiques sont des substances qui sont synthétisées naturellement pour contrôler les organismes nuisibles par des mécanismes non toxiques. Ils comprennent des substances telles les extraits variés de plantes parfumées. Actuellement, on rapporte que 2121 espèces de plantes possèdent des propriétés de lutte antiparasitaire ; un total de 1005 espèces identifiées, présentent des propriétés insecticides, 384 avec des propriétés anti-appétissantes, 297 possédant des propriétés répulsives, 27 avec des propriétés attractives et 31 avec des propriétés de stimulateurs de croissance (Ranadingh, 2007) .

Les composés secondaires sont souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante productrice contre divers organismes comme les pathogènes et les ravageurs. Ces composés sont très nombreux et variés, appartiennent à des familles chimiques très diverses telles que les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les stéroïdes (Benayad, 2008) .

CHAPITRE I : GENERALITE SUR LA VIGNE

I.1.Origine et historique

L'histoire de la vigne et du vin accompagne l'humanité depuis des millénaires. Certains indices tel que la présence de pollen, de grain, et de feuilles fossiles, permettent de dire que la vigne existait au 1^{er}tertiaire en Asie mineure, en Europe orientale et en Amérique; mais la culture de la vigne a débuté à partir du refuge de transaction ou les hommes se sont sédentarisés et ont découvert l'intérêt alimentaire de cette plante (Bouquet, 1982).Les migrations des hommes vers le Sud (Palestine, Egypte) puis vers l'Ouest (Grèce et Empire Romain) ont assuré le transport de la plante vers d'autres régions.

Selon Robinson (1988), la culture de la vigne a débuté il y a plus de 4000 ans à partir d'espèces sauvages du Proche Orient ; les Grecs sont les initiateurs de la viticulture en Europe Méditerranéenne. Le premier vignoble était implanté à Massalia (aujourd'hui Marseille), mais c'est avec l'arrivée des Romains que la viticulture a connu une extension, surtout sur le pourtour de la Méditerranée, ce qui explique sa présence en Algérie.

I.2. La viticulture dans le monde

Dans le monde, le raisin est consommé à l'état frais, sec ou pressuré. En Europe, la culture viticole est beaucoup plus concentrée vers la production du vin. Dans les pays musulmans d'Afrique et d'Asie, la viticulture est diversifiée (raisin de table, frais, sec, jus et concentrés de raisin).

D'après des données de OIV (Organisation International de Vin et Vigne) en 2009 la superficie du vignoble mondial es de 7 742 000 ha. qui se répartie comme suit :

- L'Europe avec près de 58.4% du vignoble mondial ; 4 581 328ha. les pays d'importance viticole sont l'Espagne avec 1165000 ha, l'France avec 852000 ha et l'Italie avec 840 000 ha.
- L'Asie avec 21.1% de vignoble mondiale avec superficies de, 1633562 ha :la Turquie avec 517000 ha, la Chine ave 470 000ha et Iran avec 330000 ha.

- L’Amérique représente 12,8 % du vignoble mondial avec une superficie de 990976 ha, l’USA avec 398000 ha, l’Argentine avec 227000 ha et Chili avec 198000 ha.
- L’Afrique avec près de 5% de vignoble mondial dont la superficie, qui est de 387100 ha pour l’Afrique du Sud, l’Algérie de 350000 ha et le Maroc de 116 000 ha,

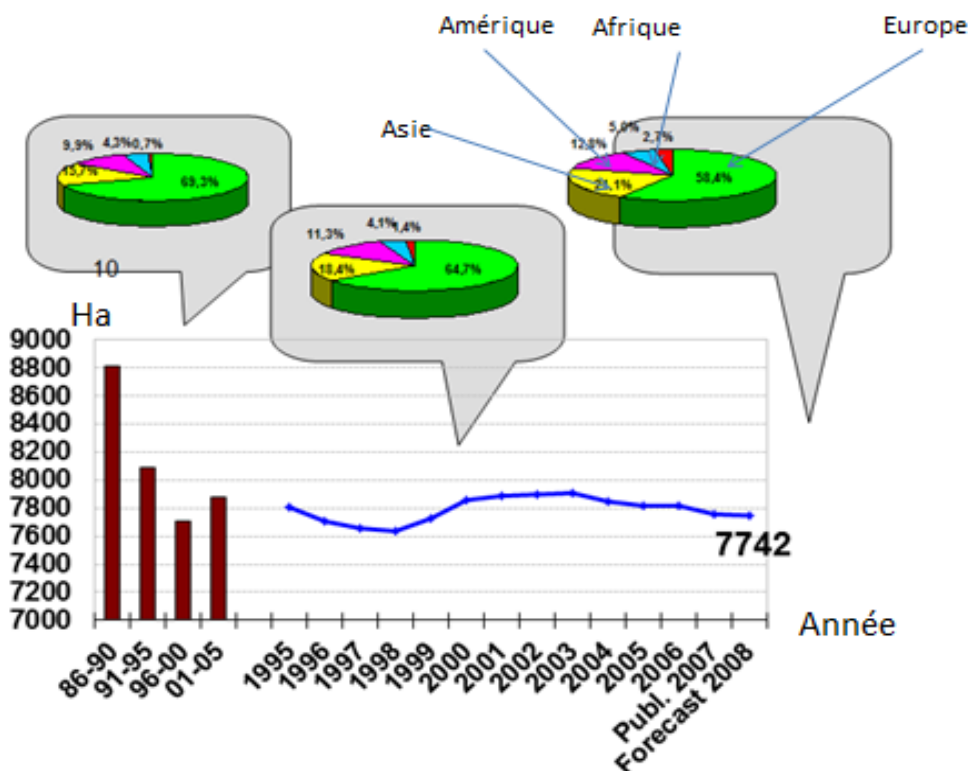


Figure 1 :Surface de vignobles dans le monde (O.I.V, 2008).

oiv

I.3.La viticulture en Algérie

En Algérie, avant 1962 la superficie viticole était composée en grande partie par des cépages à vin, dont la production était destinée à l’exportation. Selon les données du ministre de l’agriculture et développement rurale pour l’année 2009, La surface en vigne de vin était de 355 000 ha alors que celle du raisin de table était seulement de 5 000 ha. Il va de même pour la superficie réservée au champ pied –mère (c.p.m) réduite à 74 ha alors que celle destinée au raisin sec était presque inexistante (O.I.V, 2009).

A la fin des années soixante, divers programmes de reconversion et de reconstitution des vignobles algériens ont été mis en place. Cependant, rare étaient les cultures susceptibles d'offrir les mêmes possibilités d'emploi que la vigne. Ce n'est que dans les années soixante-dix, que les régions viticoles s'étant réduite progressivement, et qu'un réel effort fut fait pour affronter les réalités économiques et pallier les manques de débouchés (Robinson. 1994).

Le développement de la viticulture a pris une place importante dans la nouvelle vision du développement du secteur agricole, à travers le Plan National de Développement Agricole (PNDA) qui a été initié à partir de l'an 2000. Ce plan vise à relancer cette culture en Algérie, notamment dans les régions à vocation viticole (Mascara, Médéa, Ain temouchent...) (Ammad, 2006). Ainsi les superficies et les productions en cette culture ne cessent pas d'évoluer d'année en année (Tableau 1). Ces données montrent clairement le regain d'intérêt visé à vis de la vigne. A titre d'exemple les superficies en vigne de table ont gagné plus de 32% entre 2001 et 2004. Même la vigne de cuve a évolué en surface (56%), et en production (77%), durant cette période, le raisin sec et évolue en surface (78%). De même pour les champs de pied mère où le gain en surface est l'ordre de 52%.

Tableau.1: Situation de la viticulture en Algérie(O.I.V,2009)

Année	Superficie (ha)				Production (qx)			
	2001	2002	2003	2004	2001	2002	2003	2004
Vigne de table	38.260	41.860	48.520	50465	1.612.580	1.881.390	2.157.140	2.220.550
VIGNE DE CUVE	30.190	38.010	45.380	47.070	347.570	458.510	619.140	661.000
Raisin sec	90	120	125	161	1.440	4.070	3.100	2.450
Champs de pied mère	1.140	1.560	1.605	1.736	Nd	Nd	Nd	Nd
Total	69.680	81.550	86.760	99.430	1.961.590	2.323.970	2.668.120	2.893.000

I.4. Les principaux bio-agresseur de la vigne

Comme toute culture, la vigne en raison de sa pérennité et de ces caractéristique botanique (cep, feuillage), est sujette à de nombreux bio-agresseur et dégâts d'origine abiotique (le froid, la grêle, la neige et le vent), les dégâts d'origine biotique sont causées par déferant ravageur et agent phytopathogène

Tableau 2 : les principaux bio-agresseurs de la vigne (Galet, 1991)

Catégorie	Agents
Nématodes	Nématodes à galles <i>Meloidogynes</i> Nématodes du genre <i>Xiphinema sp</i>
Les Arachnides	Erinose: <i>Colomerusvitis</i> . Acarien rouges <i>Panomychus ulmi</i> .
Insectes	La cicadelle de la flavescence dorée <i>Scaphoideus titanus</i> La cicadelle verte <i>Compoasca vitis</i> Drosophile des raisins : <i>Drosophila melanogasteir</i> .
Bactéries	<i>Xanthomonas ampilina</i> <i>Agrobacterium tumifaciens</i>
Virus	Le court noué: (GFLV). Flavescence dorée
Champignons	Le mildiou : <i>Plasmopara viticola</i> . L'oïdium : <i>Uncinulanecator</i> . La pourriture grise : <i>Botrytinia fuckuliana</i> . L'Excoriose : <i>Phomopsis viticola</i> . La maladie de l'ESCA Le pourridié agaric : <i>Armmilia rellamellea</i> Le pourridié laiteux : <i>Rosellinia necatrix</i> BDA : <i>Botryosphae ria spp</i>

Nous constatant une grande variabilité des agents responsables des dégâts sur la vigne. Même si historiquement le mildiou de la vigne et plus connu à travers le monde, les autres maladies demeurent dangereuses et occasionnent des pertes économiques très dommageables allant à la destruction totale des vignobles. Parmi ces maladies, les affections de bois occupent une place importante, en raison des pertes signalées ces dernières années dans différentes régions dans le monde (Viret et Gindro, 2006).

II.1. Données générales sur les maladies du bois de la vigne

Selon Larignon et al, 2009, il a recensé trois principales maladies du bois : l'eutypiose, l'esca et le BDA. Ces maladies de dépérissement sont associées à la présence de différents champignons capables de dégrader les tissus ligneux: *Eutypalata*, *Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium aleophilum*, *Fomitiporia mediterranea*, *Botryosphaeria oblongata*, *Neofusicoccum parvum* et *Botryosphaeria stevensii*.

Ces maladies s'expriment au niveau du bois par la formation de nécroses sectorielles et/ou centrales, par la présence de bandes brunes ou de chancres dans le tronc et les bras et au niveau foliaire par des décolorations et des dessèchements qui peuvent être foudroyants (Guerin, 2004).

II.2. Localisation des champignons de dépérissement dans la souche

L'étude réalisée par Larignon (2005) a démontré qu'en ne tenant compte que du taux de contamination dans les plants, seuls quelques plants devraient être infectés par *Phaeoconiella chlamydospora* et *Phaeoacremonium aleophilum* (Larignon, 2005). Les plants traditionnels sont préparés de façon à éliminer les feuilles, Des prélèvements ont lieu à 7 niveaux du plant

- Greffon (G)
- Soudure (S)
- Porte-greffe : 1 cm sous la soudure (PG1)
- Au centre du porte-greffe (PG2)
- 5 mm au-dessus de la plaie d'éborgnage (PG3)
- Plaie d'éborgnage (P e)
- Talon (PG4)

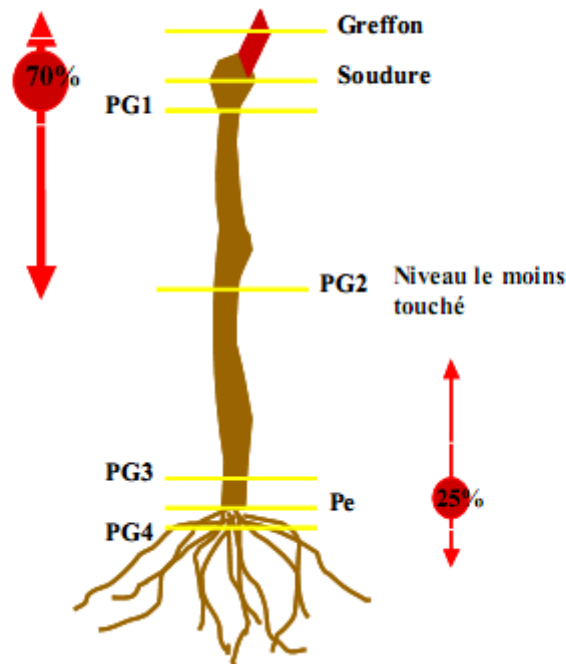


Figure 2 :Principales localisations des champignons associés aux maladies du bois.(Galet, 1999).

Pch : *Phaeomoniella chlamydospora*, Pal : *Phaeocremonium aleophilum*

Lors de l'enquête, les champignons sont préférentiellement isolés à deux niveaux (Figure 2) :

La zone de soudure qui semble être prépondérante

Base du plant (plaie d'éborgnage et talon) plus mineure.

II.3L'Esca

II.3.1.Historique de la maladie

L'esca, maladie cryptogamique, décrite sous le nom de pourriture à l'avènement de notre ère est plus particulièrement présente dans les vignobles de l'hémisphère Nord. Elle a été décrite tout d'abord sous sa forme apoplectique, dont l'origine fut longtemps indéterminée et attribuée à un accident d'ordre physiologique qui était désigné sous le nom

de folletage. Ce n'est qu'à la fin du XIX^{ème} siècle que cette forme fut attribuée à un champignon et de ce fait distinguée du folletage. En 1922, le terme esca a été introduit pour désigner cette maladie caractérisée par la présence d'une pourriture blanche et par la forme apoplectique. L'esca est un terme d'origine languedocienne ou provençale qui signifie amadou (= pourriture blanche). Il était désigné auparavant sous le nom d'iska en Grèce ou de yesca en Italie. Entre 1923 et 1931, d'autres formes d'expression ont été décrites sous le nom d'apoplexie lente (Mugnai et al .1999).

II.3.2.Symptomatologie

Selon la nature et l'évolution des symptômes de dépérissement, l'esca présente deux formes différentes : la forme lente et la forme foudroyante (Galet, P; 1999)

II.3.2.1.Forme lente : La forme lente de l'esca est associée à différentes nécroses dans le bois. Elle peut être reliée à une pourriture blanche, à la présence d'une nécrose brune en position centrale ou à des ponctuations noires (correspondant à des vaisseaux nécrosés)(Figure 3) lorsque la maladie n'est pas très évoluée ou avancée. Elle est caractérisée aussi par des digitations jaunes (cépages blancs)(Figure4) ou rouges, bordées de jaune (cépages noirs) (Figure 5) entre les nervures qui restent vertes (Larignon, 2009).



Figure 3 : Nécrose centrale ponctuations noires(Larignon, 2009).

digitations jaunes
(cépages blancs)



digitations rouges, bordées
jaune (cépages noirs)



Figure 4 : Symptôme sur Cépage
blanc (Larignon, 2009)

Figure 5 : Symptômes sur
cépages noirs(Larignon, 2009)

Les symptômes sur les grappes sont variables selon la région et le cépage. Les grappes peuvent paraître normales, mais les baies restent petites et mûrissent mal finissant par s'éclater et se dessécher.

Dans le cas où les symptômes sont absente sur les feuilles, des taches bleuâtres à noirâtres apparaissent sur les baies (Figure 6). Cette manifestation est très fréquente dans les vignobles de raisin de table en Californie correspondant au faciès « Black measles ».En France, hormis le retard de maturation et quelques cas de flétrissement de la grappe, l'esca sous sa forme lente ne montre pas de symptômes caractéristiques au niveau des baies. (Galet, 1999).

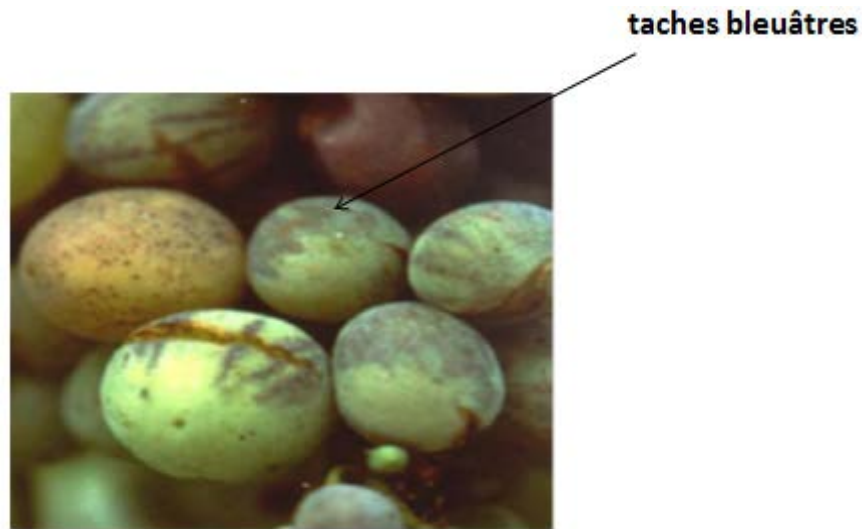


Figure 6 : Symptômes sur les bais. (Larignon, 2009)

II.3.2.2. Forme foudroyante ou Apoplexie : Se caractérise également par la présence de digitations inter-nervales, mais se distingue de la forme lente de l'esca par l'absence de liseré jaune dans les premiers stades de l'apparition des symptômes (Larignon, 2009), se manifeste pendant les périodes de fortes chaleurs et souvent à la suite d'un orage. Contrairement à la forme lente, un dessèchement rapide des feuilles, rameaux et grappes survient en l'espace de quelques heures. Dans ces conditions, aucune pousse ne réapparaît l'année suivante. Selon Arnaud et Arnaud tout se passe comme si le tronc et les bras de la souche avaient été sectionnés. Dans certains cas, les dégâts sont limités à une partie du cep. Au niveau du bois, les nécroses sont identiques à celles observées avec la forme lente (Figure 7)



Figure 7: Forme foudroyante de l'esca

II.3.3. Processus de dégradation du bois

Deux processus menant à la formation de cette nécrose ont été décrits.

Le premier processus aboutit à la formation d'une nécrose claire et tendre en position central et fait intervenir trois champignons : *Phaeoacremonium aleophilum* et *P. chlamydospora*, trouvés dans une nécrose brune et dure en position centrale, et *Fomitiporia mediterranea*, Fischer = *Fomitiporia punctata*, Murrill = *Phellinus punctatus*, responsable de la pourriture blanche (Morat, 2009).

Le deuxième processus impliqué par *Eutypalata*, responsable de la nécrose brune en position sectorielle, et *F. mediterranea* qui dégrade ce bois brun en une pourriture blanche. (Morat, 2009)

Les deux processus peuvent être observés sur la même plante. *F. mediterranea* est le champignon le plus trouvé dans la pourriture blanche en France, en Italie, en Espagne et en Allemagne. D'autres champignons sont responsables de la pourriture blanche tel que *S. hirsutum* dont la présence dans les ceps atteints d'esca est décrite en Hongrie, en France et en Autriche. Ces champignons ne semblent pas être présents sur les autres continents. Les microorganismes responsables de la pourriture blanche sur les autres continents sont différents de ceux trouvés en Europe. Fischer signale la présence de *Fomitiporia*

polymorphaen Amérique du Nord, *Fomitiporia australiensis* et de deux taxons inconnus en Australie, trois taxons inconnus en Afrique du Sud, *Inocutis jamaicensis* et *Fomitiporella vitis* en Amérique du Sud, associés respectivement à la Hojâ de Malvon et à l'enroulement chlorotique des feuilles (Larignon, 2007).

II.3.4.Champignons associes

Cette maladie fut initialement attribuée à un seul champignon à la fin du XIXème siècle La présence de carpophores de *Stereumhirs utum* (Willd. : Fr.) et de *Phellinus igniarius* sur les ceps dépérissant suggérait au début du XXe siècle, que ces champignons en étaient responsables. Concevait d'ailleurs que suivant les régions, de telles espèces de champignon lignicole prédominaient plutôt qu'une autre. En 1959, Chiarappa soulignait l'importance d'un autre champignon dans la maladie, *Cephalosporium* sp. qui, par la suite, a été identifié comme étant *Phaeomoniella chlamydospora*(W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnâi) Crous et W. Gams ; il considérait également *S. hirsutum* comme un agent saprophyte et mettait en évidence le caractère parasitaire de *P. igniarius*. A la fin du XXe siècle, l'esca était donc plutôt attribué à un complexe de champignons qui, par leur succession dans le bois conduisait à la formation de la nécrose qui lui est caractéristique. (Mostert ,2003)

II.3.4.1.Phaeomoniella chlamydospora

Ce champignon est présent dans la majorité des vignobles. Outre l'esca, ce champignon est associé à la maladie de Petri, affection des jeunes plantations qui est signalée en Afrique du Sud, Europe, Etats-Unis et en Australie. Il appartient à la Classe des Ascomycètes de la famille des Herpotrichiaceae :sa forme sexuée n'est pas connue. La description de ce champignon est signalée par Crous et al(2000). Ses conditions de culture (température, pH) sont décrites par Whiting et al(2001). *P. chlamydosporaa* été classé parmi les champignons de bleuissement car il ne dégrade pas les parois cellulaires. Les enzymes produites et identifiées sont des polygalacturonases, des polyméthylgalacturonases, des β -glucosidases et des endo- β 1,4 glucanases. Des polysaccharides extracellulaires ont été également identifiés ainsi que neuf autres métabolites dont certains sont considérés comme étant des toxines potentielles (p-hydroxybenzaldéhyde) .*P. chlamydospora* inhibe la formation du cal, provoque une forte mortalité des greffés-soudés

s'il est inoculé au niveau de la soudure et diminue la vigueur des plants. Aucun élément n'est apporté au sujet des déterminants du pouvoir pathogène. (Larignon, 2009).

Les conidies sont de forme oblongue leurs taille est de 2,4 à 6 x 1 à 2µm. La présence de chlamydospores est caractéristique de cette espèce, elles apparaissent généralement sur les cultures âgées d'au moins un mois. Les colonies se développent lentement avec un optimum thermique de 25°C (Crous et Gams, 2000)

II.3.4.2. *Phaeoacremonium aleophilum*

Il est présent dans la majorité des vignobles .Sa description a été réalisée par Crous et al(2000). Et ses conditions de culture par Whiting et al(2001).Il appartient à la Classe des Ascomycètes et à l'Ordre des Calosphaeria les.La forme sexuée a été obtenue *in vitro* par le croisement de souches compatibles sur milieu de culture ou par incubation en conditions humides de souches atteintes d'esca. Des périthèces du genre *Togninia* sont obtenus au bout de 3–4semaines d'incubation et la comparaison avec la morphologie d'autres(Mugnai et al.,1999).

La forme téléomorphe de *P. aleophilum* qui est *Togninia minima*. a été décrite pour la première fois par Hausner et al(1992). Sur différents hôtes[Aulne, Saule, *Prunus pennsylvanica*], puis a été observée dans le vignoble californien. Ce champignon est aussi rencontré sur d'autres plantes-hôtes notamment l'olivier. Ce champignon a été classé parmi les champignons de la pourriture molle car il se développe à l'intérieur des parois secondaires en y provoquant la formation de cavités. Les enzymes produites et identifiées sont des xylanases, des β-glucosidases et des endo-β 1,4glucanases ainsi que sept autres métabolites identifiés comme étant des toxines potentielles (naphthalenones). Contrairement à *P. chlamydospora*, *P. aleophilum* n'inhibe pas la formation du cal au niveau de la souduregreffon/porte-greffe. Les déterminants du pouvoir pathogène n'ont pas été identifiés mais son rôle important dans la progression des nécroses dans le bois a été montré. (Larignon, 2009).

Les conidiophores sont simples ou ramifiés, le plus souvent pigmentés et plus particulièrement au niveau des cellules basales. Les phialides présentent des collerettes, les conidies sont hyalines de forme oblongue, ellipsoïdale voire allantoïde, droite ou légèrement courbée, leur taille est de 4 à 5,5 x 1,6 à 2 µm. Il n'y a pas de chlamydospores. Sa température optimale de croissance est de 30°C. (Erkan, 2000).

II.3.4.3. *Fomitiporia mediterranea*

F. mediterranea (désigné auparavant sous le nom de *Phellinus punctatus* et de *Fomitiporia punctata*). Il appartient à la classe des Basidiomycètes et à l'ordre des Hyménochaetales. Ses conditions de culture et sa description sont données par Fischer (2002). Il est rencontré sur différentes plantes : *Vitis vinifera*, *Olea europaea*. Ce champignon a été classé parmi les champignons de la pourriture blanche, car il dégrade complètement les parois cellulaires. Les enzymes produites et identifiées sont des xylanases, des cellulases, des β -1,3 glucanases, des laccases, des peroxydases et des phénoloxydases. D'autres métabolites de type phydroxybenzaldéhyde sont produits par le champignon. (Larignon, 2009).

Peu d'études ont été réalisées sur son cycle biologique. Il se conserve sous forme de basidiomes sur les parties malades de la plante, et se dissémine lorsque les températures sont supérieures à 10 °C et le taux d'hygrométrie est supérieur à 80%. La présence du champignon sur les plaies de taille récente a été montrée par des outils moléculaires (PCR pour Polymerase Chain Reaction). Les études sur sa variabilité génétique suggèrent fortement qu'il se propage par les basidiospores dans le vignoble (Fischer, 2002)

Les basidiospores sont globuleuses, hyalines, lisses et leur diamètre varie de 5 à 6 μ m. Les cultures de ce champignon sur malt gélosé sont blanches au début, deviennent très rapidement jaunes à ocre et présentent un aspect velouté. Le mycélium pousse de 4 à 5 cm de diamètre en deux semaines à 22°C (Fischer, 2002).

II.3.4.4. *Stereum hirsutum*

Ce champignon appartient à la division des Basidiomycètes, à l'ordre des Stéreales et à la famille des Stéreaées. Il se caractérise par des fructifications aux lames coriaces, à bords retournés avec une pilosité caractéristique de la face supérieure et un hyménium orange à brun clair. Leur taille varie de 0,5 à 1,5 cm. Les Basidiospores sont hyalines, ellipsoïdes à cylindriques (5 à 7,5 x 2,9 à 3 μ m). Ces fructifications n'apparaissent que rarement dans les vignobles. Les cultures de *Stereum hirsutum*, sur le milieu malt gélosé, présentent une croissance rapide, 5 à 6 cm par semaine à 22°C. Au fur et à mesure du vieillissement, la couleur varie du blanc vers le crème puis l'ocre. Les

hyphes présentent des anses d'anastomose, leur longueur varie de 1,9 à 8 μm . (Dubos, 2003).

II.3.4.5. *Botryosphaeria obtusa*, *B. stevensii* et *N. parvum*

Ces champignons sont présents dans la majorité des vignobles. Ils sont rencontrés sur différentes plantes : *Vitis* spp, arbres fruitiers, ... et peuvent provoquer un grand nombre de dépérissements. Ils appartiennent à la Classe des Ascomycètes et à la famille des Botryosphaeriaceés. Peu d'informations sont données sur le type de pourriture qu'ils provoquent dans le bois et sur leur équipement enzymatique. *B. obtusa* secrète du tyrosol, des mélléines, des dérivés de la mélléine. Aucune relation entre la pathogénie et le taux de toxines produites n'a été mise en évidence (Morat, 2009). Leur cycle biologique sur vigne est peu connu. Ils se conservent sous forme de pycnides qui sont localisées soit sur le cep (tronc, bras, plaies de taille), soit sur les bois de taille laissés au sol. Ils se disséminent plus particulièrement pendant la période végétative de la vigne. Ils peuvent également se propager par les bois de porte-greffes ou de greffons en pépinières (Larignon, 2007). Aucun élément n'est apporté au sujet des déterminants de leur pouvoir pathogène.

II.3.5. Facteurs de développement de la maladie du dépérissement

II.3.5.1. Conditions climatiques

Le climat semble jouer un rôle important sur l'expression des symptômes de l'Esca. On sait, par exemple, que l'apoplexie se manifeste en été, souvent lorsqu'un temps chaud suit une pluie, probablement parce que l'évapotranspiration n'est pas compensée par un apport en eau suffisant des vaisseaux du bois, qui ne sont que partiellement ou plus du tout fonctionnels. Il est à signaler à ce propos que l'Esca est plutôt une maladie des vignobles méditerranéens que des vignobles septentrionaux (Dubos, 2002).

II.3.5.2. Cépages

La plupart des variétés de *Vitis vinifera* sont susceptibles à l'esca. Cette sensibilité est mal définie, mais semble à peu près identique à celle établie pour l'eutrophie (Dubos,

1999). Sparapano et al(2001) ont comparé la sensibilité de deux cépages (Italia et Matilde) en inoculant *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phaeoconiella chlamydospora* et *Fomitiporia punctata*, individuellement et en combinaison, ils ont constaté que le cépage Italia est plus sensible aux différents champignons testés. Des symptômes au niveau des feuilles et sur les baies ont été visibles plus tôt, au bout de deux ans, sur le cépage Italia, aussi, la colonisation des tissus du bois est plus importante pour l'Italia que matilde.(Sparapano, 2001).

II.3.5.3. Age de la vigne

L'esca a toujours été considérée comme étant une maladie des vignes âgées, cela est en relation avec le nombre de plaies de taille qui augmente avec l'âge de la vigne (Dubos, 2002). Cependant, des vignes âgées de 4 à 5 ans, peuvent présenter des symptômes foliaires de l'esca. Sur les plants de 10 ans et plus que les symptômes et dommages deviennent plus apparents (Mugnai, 1999).

II.3.5.4. Mode de conduite

Le mode de conduite qui cause de grosses plaies de taille crée les conditions idéales pour le développement de l'esca. Il a été montré que l'incidence de la maladie étant de 0,1 % pour les vignobles taillés en Cordon bilatéral et de 15 à 20 % pour ceux taillés en Guyot double (Mugnai, 1999).

Selon Galet les dommages causés par les gelées d'hiver, l'excoriose et les coupes de taille sur les bras pour modifier le mode de conduite afin de s'adapter à la vendange mécanique, sont des facteurs favorables à l'extension de la maladie (Galet, 1995).

II.4. La lutte contre le dépérissement de la vigne

Les maladies de la souche, préoccupent depuis toujours les vignerons. C'est ainsi qu'à l'avènement de notre ère, les agronomes préconisaient afin d'empêcher "les pourritures" qui étaient une des causes de la mort des ceps, d'éviter ou de protéger les grandes blessures de taille (P. l'Ancien.1984).

Ils recommandaient également de guérir les souches en train de pourrir soit par curetage, soit par recépage. La constante préoccupation de protéger les plaies de taille ou encore de diminuer leur nombre et leur surface, ou de rechercher une période de taille idéale, se retrouve chez les agronomes d'hier et les phytopathologistes d'aujourd'hui. A

l'aube du XXème siècle, la lutte à l'égard de l'esca a trouvé son originalité dans la découverte tout à fait fortuite de l'efficacité de l'arsénite de sodium (Ravaz,1919).

II.4.1. Protection raisonnée contre l'eutypiose

Les maladies du bois ne se soignent pas encore. Les moyens d'intervention visent essentiellement à réduire les sources d'inoculum, à éviter les contaminations, à régénérer les plants malades au début de la manifestation des symptômes et, dans l'avenir, à limiter l'incidence des contaminations sur la pérennité de la souche. (Reynier, 2007).

Par prévention, En supprimant et en brûlant tous les bois morts (souches, bras, cornes), en éliminant les tas de souches exposées à la pluie, y compris les souches utilisées comme bois de chauffage. Le nettoyage des vignes doit être réalisé avant la taille pour éliminer l'inoculum et après la taille pour éliminer les bois de deux ans et les bras. Ces mesures doivent être prises par l'ensemble des viticulteurs pour tenir compte du transport des spores sur de longues distances.

II.4.1.1. Lutte chimique

En protégeant toutes les plaies de taille avec un fongicide. L'Escudo (association de flusilazole et de carbendazime), un fongicide qui a été homologué pour l'eutypiose par exemple (mais peu utilisé par les viticulteurs du fait de son fort coût de main d'œuvre car le produit est appliqué par badigeonnage) et retiré du fait de sa toxicité en 2007. (Dubos, 1991). Ce produit qui a une pénétration rapide et profonde dans le bois, assure une protection à la fois mécanique et chimique. Il est appliqué avant le stade B, au pinceau (2,5 l/ha pour 50 000 plaies de taille), au tampon (2 l/ha pour 50 000 plaies de taille) ou bien avec un petit pistolet fixé sur un sécateur pneumatique (4,5 l/ha pour 50 000 plaies) (Reynier, 2007).

II.4.1.2. Mesure curatives

Il n'existe, pratiquement aucune méthode de lutte curative. Cependant, nous pouvons envisager les mêmes techniques et conduites culturales, conseillées dans le cas de l'eutypiose, pour diminuer et ralentir la maladie (Fischer, 2002)

II.4.1.3.Lutte génétique

Des travaux de biotechnologie (régénération in vitro à partir des tissus ou des cellules) ont déjà donné naissance à des plants d'ugni blanc tolérants à l'eutypiose, pour le moment en cours du test au champ .un autre programme de recherche, lancé par la société Martell à Cognac, basé sur la génie génétique ; vise à obtenir des plants résistants par l'introduction des gène de résistance contre l'eutypiose dans le génome de la vigne.

II.4.1.4.Limiter l'inoculum

Les ceps présentant des symptômes sont repérés et marqués au niveau du tronc. Les bras et les ceps morts sont enlevés et brûler avant la taille d'hiver(Dubos, 1994).

II.4.1.5.Limiter le nombre des plaies de taille

Les blessures accidentelles (choc par un outil aratoire ou occasionnées par des gelées d'hiver) et les blessures provoquées par les instruments de taille mettent à nu les tissus qui se dessèchent en formant du bois mort. La taille annuelle et, surtout, les tailles de rajeunissement et le recépage sont des sources importantes de blessures pour la vigne et donc de contamination. La zone mortifiée est d'autant plus grande que la plaie est importante. Si les conditions climatiques sont favorables aux parasites, ces plaies de taille peuvent être contaminées, et elles le sont souvent par divers parasites (Sparapano, 2001).

La plante-hôte, la vigne, dispose de son côté de deux types de barrières de défense :

Les unes passives qui agissent de deux manières au niveau des surfaces tissulaires soit en développant des obstacles à la pénétration, soit en opposant des barrières biochimiques (exsudais, composés phénoliques, tanins) ; Mais dès qu'il y a une plaie, notamment par la taille, la vigne ne dispose plus momentanément de défense alors que le parasite dispose d'enzymes capables de traverser les parois cellulaires puis de digérer les tissus. La réceptivité de la vigne est alors maximale.(Reynier, 2007).

II.4.1.6 Conduire les souches

La façon de conduire les vignes et le comportement du tailleur sont des éléments déterminant de la pérennité des vignes. Pour prévenir ces dérives et maîtriser l'expression végétative des vignes, seule une gestion technique raisonnée, initiée dès la plantation, permet de se protéger, sans toutefois l'empêcher totalement, contre un dépérissement précoce de certaines parcelles de vignes d'une exploitation agricole. (Reynier, 2007).

II.4.1.7 Lutte biologique

Les recherches portent de plus en plus sur l'effet de micro-organismes utilisés en lutte biologique, notamment les *Trichoderma*. Ces champignons présentent une activité antagoniste et d'hyperparasitisme à l'égard d'un grand nombre de microorganismes, plus particulièrement ceux du sol et sont utilisés en lutte biologique à l'égard de diverses maladies sur différentes cultures. (Larignon, 2009.)

La lutte biologique est une méthode complémentaire à la lutte chimique qui se base sur l'utilisation de biopesticides d'origine microbienne permettant d'attaquer et de contrôler les agents phytopathogènes (champignons, bactéries, nématodes ou protozoaire) (Fravel, 2005). En plus des biopesticides microbiens, les pesticides biochimiques sont des substances qui sont synthétisées naturellement pour contrôler les organismes nuisibles par des mécanismes non toxiques. Ils comprennent des substances telles les extraits variés de plantes parfumées. Actuellement, on rapporte que 2121 espèces de plantes possèdent des propriétés de lutte antiparasitaire ; un total de 1005 espèces identifiées, présentent des propriétés insecticides, 384 avec des propriétés anti-appétissantes, 297 possédant des propriétés répulsives, 27 avec des propriétés attractives et 31 avec des propriétés de stimulateurs de croissance (Ranadingh, 2007) .

Les composés secondaires sont souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante productrice contre divers organismes comme les pathogènes et les ravageurs. Ces composés sont très nombreux et variés, appartiennent à des familles chimiques très diverses telles que les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les stéroïdes (Benayad, 2008) .

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

Fig : Figure

h : heure

H : humidité

% : pourcentage

mg : milligramme

µm :micromètre

T : témoin

ml : Millilitre

mm : Millimètre

nm : Nanomètre

Tab : tableau

Inhib : inhibition

CPG-SM : chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

D : Dose de traitement

PI : Pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons testés.

DC : le diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon non traité (mm).

DT : Le diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon traité

CPG : Conditions d'analyse chromatographique

PDA : Potato Dextrose Agar

HE : huile essentielle

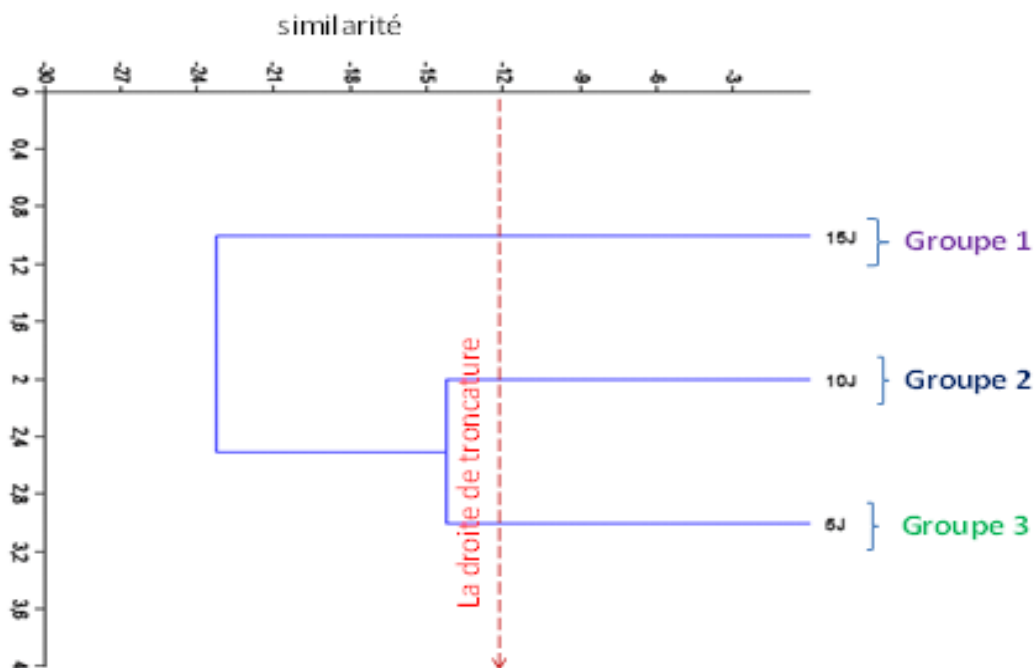
OIV : Organisation International de Vin et Vigne

PNDA :Plan National de Développement Agricole

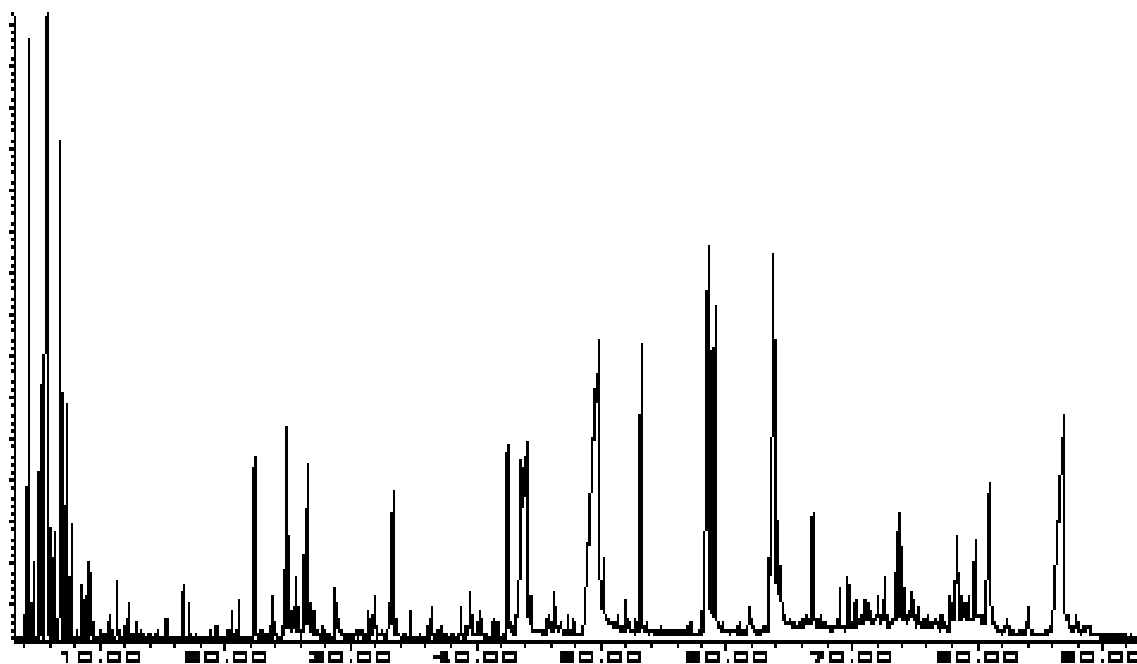
CPG : La chromatographie en phase gazeuse

G.L.M : Modèle Générale Linéaire.

C.H.A : Classification hiérarchique ascendant



Annexe 1 : Classification hiérarchique ascendant (C.H.A) sur le traitement par l'HE de Scirpe maritime à différentes doses par contact.



Annexe 1 : Chromatogramme de l'huile essentielle de Scirpe maritime obtenue par GC/SM

ANNEXE 2

Tableau 3. Composition chimique de l'huile essentielle de Scirpe maritime

Composé identifié	I _k	HD F	SFE F	HD Fr	SFE Fr
épi-bicyclosesquiphéllandrène	1485	tr	0.3	0.1	tr
bicyclogermacrène	1490	tr	0.3	-	tr
α-muuroène	1499	0.9	0.5	0.5	0.3
b-bisabolène	1502	0.2	0.3		-
γ-cadinène	1511	0.6	0.3	0.5	0.5
cubebol	1518	-	0.6		0.2
δ-cadinène	1522	1.9	0.7	1.3	1.1
cadina-1,4-diène	1529	0.5	tr	0.3	tr
α-cadinène	1532	-	tr	0.1	tr
α-calacorène	1537			0.2	-
élémol	1540	-	tr	0.1	-
germacrèneB	1548	0.3		-	
germacrène D-4-ol	1566	-	0.5	-	0.2
spathuléol	1568	1.0	0.2	0.2	-
oxide de caryophyllène	1573	1.5	0.7	0.3	tr
globulol	1576	0.8	tr	0.1	-
époxyde de humulène II	1597	0.4	tr	0.1	-
fonéol	1547	0.6	0.1	0.2	-
1-épi-cubéol	1607	0.7	1.2	0.3	-
τ-cadinol	1614	1.4	0.5	0.6	tr
τ-muuroolol	1627	2.7	0.4	0.8	tr
α-muuroolol	1630	1.0	tr	0.3	tr
α-cadinol	1636	4.9	1.2	1.8	tr
α-bisabolol**	1659	1.0	0.2	0.2	
épi-α-bisabolol**	1662	tr		tr	1.3
cembrène	1910	-	0.9	-	
C ₂₀ H ₃₀	1932	-	0.3	0.6	1.3
acide hédécanoïque	1960	tr	2.4		7.7
oxyde de manoyl	1965	tr	1.2	0.4	-
épi-13-oxyde de manoyl	1980	tr			tr
acide linoléique	2115	-	-		11.6
acide oléique	2122	-	-		5.1
C ₁₉ H ₂₈ O	2209	-	-		3.1
3-pentadécyl phénol (304)	2350	-	-		12.0
phénol -3-n-alkyl (330)	2479	-	-		8.3
squalène	2556	-	1.1		0.7
Total		99.6	68.2	98.7	83.6
Monoterpènes oléfiniques		52.2	38.1	77.4	25.1
Monoterpènes oxygénés		4.8	4	4.5	0.6
Sesquiterpènes oléfiniques		21.3	11.2	8	5.7
Sesquiterpènes oxygénés		16	5.6	4.9	1.5
Acides gras		-	2.4	-	24.4
Autres		5.3	6.9	3.8	26.3

CONCLUSION

Les produits naturels étaient et restent toujours une source inépuisable de structures complexes et diverses vu le rôle que peuvent jouer certains composés purs dans beaucoup d'applications, à savoir l'industrie pharmaceutique, l'industrie alimentaire, l'industrie cosmétique, la parfumerie, etc.

Dans ces dernières années, et face à une législation de plus en plus restrictive sur l'application des pesticides de synthèse, la recherche de phyto fongicides s'inscrit dans une stratégie particulièrement adapté aux exigences du consommateur tout en préservant l'environnement.

De ce fait, le travail entrepris dans ce mémoire avait pour objectifs d'analyser l'effet bio-fongicide de l'huile essentielle de Scirpe maritime (*Scirpus maritimus*) collecté pendant les stades végétatifs de la région Oumelbouaghi sur un champignon phytopathogène qui cause le dépérissement de la vigne ,agent causal de l'esca (*Fomitiporia mediterranea*)

A partir de la première partie de cette étude nous pouvons déduire les conclusions suivantes:

- La cinétique d'extraction d'HE de Scirpe maritime a montré un rendement de 0.30%
- Il apparaît ainsi une influence du cycle végétatif, non seulement sur le rendement en HE, mais aussi sur le profil chimique de celle-ci. L'analyse par CPG/SM de l'HE de scirpe nous à permis de constater que les HE analysée étaient caractérisées par une importante fraction monoterpénique et par la prédominance de composés oléfiniques.

La deuxième partie de notre travail consistait à évaluer l'effet fongicide *in vitro* de l'huile essentielle de scirpe maritime sur la souche fongique *F.méditerranæe*. Dans cette partie nous avons constaté une diminution sensible des taux de croissance mycélienne le laps de temps de 5 jours et 10jours, La persistance de l'efficacité de l'huile essentielle est meilleure vis-à-vis ce champignon pendant 15 jours au moins.

Donc, dans cette partie de notre étude nous pouvons déduire que les traitements à base du Scirpe présentent une meilleure activité fongicide. Cette prédominance de l'activité d'HE sur celle d'un composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourraient apporter les composants minoritaires à l'activité d'HE.

L'étude de l'activité insecticide de l'HE du *Scirpus maritimus* s'est avérée très intéressante, du fait que nous avons obtenu des résultats positifs sur la souche fongique *F.mediterranea*. Ces résultats prometteurs ouvriront la possibilité de trouver de nouveaux pesticides naturels à base de végétaux qui peuvent être source efficace dans la lutte contre les bio agresseurs des cultures.

Cette étude constitue une première étape dans la recherche de molécules biopesticides d'origine végétale, elle mérite d'être poursuivie par des *études in planta* pour confirmer leur activité.

Il serait aussi d'intérêt de :

- ✓ Rechercher et caractériser les matières actives existantes dans la plante spontanée
- ✓ Étudiée afin de les formuler et les utiliser comme produits stables.
- ✓ Ainsi, il va falloir réaliser une étude toxicologique avant l'application des extraits car des résultats de recherches ont montré que certains composés chimiques possèdent des toxicités chroniques.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A ma mère mon soleil de jour et astre de la nuit qui n'a pas cessé une seconde à m'encourager et qui m'a tant donné d'amour et d'affection.

A mon père Youcef affectueux qui n'a jamais omis de me soutenir.

A ma sage et seul frangine Amina et son petit-fils Wail

A mes très chères frères, Fares, Oussama et Haroune qui s'inquiètent autant ou même plus que moi pour que j'arrive victorieux au but.

A spécialement à mon frère Hamza d'avoir m'aider et me soutenir.

A surtout ma grande mère Jedda Fatima .

A mes oncles Dr.Makhlouf, Mbarek, Pharmacien Amar , l'Ingenieur Yahia ,et surtout Laborantin Aziz .Sans oublier Touhami et Khoutir.

A toute la famille.

A mes amis : Hamid ,Abdessalem, Khaled ,Sebri,Fouzi , Wail, et surtout rida qui m'ont beaucoup aidé.

A tout le groupe Dar jedda dont je garderai toujours un bon souvenir.

Enfin, je dédie ce modeste travail à ma très chère promotrice Mme. AMMAD F., La femme modeste et responsable.

CHAPITRE II

DONNÉES GÉNÉRALES SUR LES HUILES ESSENTIELLES ET LA PLANTE UTILISÉE

I.1. Les huiles essentielles

I.1.1. Définition

Ce sont des produits odorants de composition chimique complexes renfermant des principes actifs volatiles et contenus dans les végétaux. Toutes les parties de la plante peuvent contenir des huiles essentielles dans des vésicules spécialisées (Charpentier et *al.*, 2008).

I.1.2. Histoire de leur utilisation

Reconnues pour leurs puissantes propriétés thérapeutiques et utilisées depuis des millénaires en Chine, en Inde, au Moyen Orient, en Egypte, en Grèce, en Amérique Latine (Aztèques, Mayas, Incas) Il faudra attendre l'arrivée des Arabes pour assister à un nouvel essor de la médecine par les plantes qui retrouvent alors une place de choix dans l'arsenal thérapeutique de l'époque.

I.1.3. Localisation

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles se fait dans des structures histologiques sécrétrices spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante ou dans les tissus végétaux (Bruneton, 1999) :

- Des cellules sécrétrices isolées (Cas des *Lauraceae* ou *Zingiberaceae*)
- Poils sécréteurs des *Lamiaceae*.
- Les poches sécrétrices des *Myrtaceae* ou des *Rutaceae*.
- Les canaux sécréteurs des *Apiaceae* ou des *Asteraceae* (Price et *al.*, 1999).

I.1.4. Composition chimique des H.E

Selon Bakkali et *al.* (2008), Une huile essentielle peut contenir de 20 à 60 éléments biochimiques différents. On peut déterminer sa composition par la chromatographie en phase gazeuse. Les principales composantes sont : Les terpènes et terpénoïdes, constituants aromatiques.

I.1.5. Les facteurs de variabilité des huiles essentielles

Une huile essentielle est très fluctuante dans sa composition selon multiples paramètres, qu'ils soient d'ordre naturel, d'origine intrinsèque (localisation, maturité, origine botanique et chimiotype), soit d'origine extrinsèque liée aux conditions de croissance et de développement de la plante (Sol, climat), ou encore d'origine technologique c'est-à-dire liée au mode d'exploitation du matériel végétal (Bernard et *al.*, 1988).

I.1.6. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

I.1.6.1. En thérapeutique

Les huiles essentielles sont très riches en composés biologiquement actifs (Prabuseenivasan et *al.*, 2006). Ils possèdent des propriétés antibactériennes (Hammer et *al.*, 1999), antifongiques (Sokovic et van Griensven., 2006), antioxydante (Kordali et *al.*, 2005), et insecticides (Yang et *al.*, 2005).

I.1.6.2. En cosmétologie

Les huiles essentielles sont largement utilisées dans la fabrication des produits cosmétiques tel que les parfums, savons, lotions et pommade de soins....etc. (Baydar et *al.*, 2004).

I.1.6.3. En agroalimentaire

Les huiles essentielles peuvent être utilisées comme additifs alimentaires (Deba et *al.*, 2008). Elles sont actuellement employées comme arômes alimentaires, et peuvent servir en même temps comme agents de conservation des aliments grâce à leur effet antimicrobien, et ce d'autant plus qu'elles sont reconnues comme saines (Caillet et Lacroix, 2007).

I.1.7. Les méthodes d'extraction

I.1.7.1. L'extraction par l'entraînement à la vapeur

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal n'est pas en contact direct avec l'eau, il est soumis à l'action d'un courant de vapeur, les principes volatils, peu solubles dans l'eau sont entraînés et après condensation, séparés du distillat par décantation (Auclair, 2002).

L'injection de vapeur, au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées, se fait à la base de l'alambic (Bruneton, 1999).

I.1.7.2. Hydrodistillation

Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide (Bruneton, 1999).

Le condensat d'eau et d'huile essentielle est récupéré dans un erlen meyer puis transféré dans une ampoule à décanter pour la séparation des deux phases (Willem, 2004).

I.1.7.3. Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans ce cas, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau sur les cellules végétales. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » dispersé dans la matière végétal qui s'écouleront vers un collecteur (Caraffa, 1999).

I.1.7.4. Extraction par solvant volatil

Les plantes sont immergées totalement dans le solvant à froid sauf pour les graines, les lichens et les racines où l'extraction est réalisée à chaud dans les solvants classiques. Le temps du contact est d'environ 30 minutes, après quoi le solvant est soutiré et remplacé par une deuxième charge puis une troisième à leur tour soutirées. La plus grande partie du solvant est évaporée et recyclée. On recueille une solution concentrée distillée sous vide. L'évaporation des solvants laisse un résidu cireux très coloré et très aromatique appelé la

concrète. Les solvants les plus utilisés actuellement sont l'hexane, cyclohexane et le pentane (René Revuz, 2009).

I.1.7.5. L'expression

Elle est réservée aux agrumes par suite de la localisation superficielle de l'essence. Il s'agit d'un procédé mécanique dans lequel le fruit entier est placé dans des tambours rotatifs munis de pointes en acier qui déchiquètent le péricarpe. L'huile essentielle est entraînée par l'eau, le mélange est centrifugé et l'on recueille directement une huile essentielle extrêmement naturelle et pure (Willem, 2004).

I.1.7.6. Enfleurage

L'enfleurage convient aux fleurs fragiles, il peut s'effectuer à froid en imprégnant des fleurs fraîches dans de la graisse à froid, cette dernière absorbant ainsi les molécules odorantes. On obtient ainsi une pommade, qui, étant décantée et traitée à l'alcool, entraînera le parfum en le séparant des graisses. L'enfleurage s'effectue également à chaud (la digestion), technique qui consiste à faire fondre dans de grandes marmites au bain-marie de la graisse à laquelle on ajoute les parties de plantes. On peut utiliser cette pommade telle quelle ou la traiter à l'alcool (Duraffourd et Lapraz, 2002).

I.1.7.7. L'extraction au CO₂ supercritique

Le CO₂ sous pression et à température supérieure à 31°C se trouve dans un état "supercritique" intermédiaire entre le gaz et le liquide. Dans cet état, il présente la particularité de dissoudre de nombreux composés organiques et c'est cette même propriété dont les fabricants se servent pour extraire les huiles essentielles.

La matière végétale est chargée dans l'extracteur puis le CO₂ est introduit sous pression et réfrigéré. Le mélange est recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO₂ reprend sa forme gazeuse et est complètement éliminé, il ne reste plus que l'extract végétal. Les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine d'autant que le CO₂ est non toxique, incolore, inodore et ininflammable (Zekovid et al., 2000).

I.1.8. Les facteurs à considérer pour la mise en œuvre des procédés d'extraction.

I.1.8.1. La matière végétale

La composition de la matière végétale peut varier en fonction de plusieurs facteurs tel que le lieu, la période de récolte, et la durée du stockage (Socaci et *al.*, 2008).

I.1.8.2. La température

Le rendement en HE augmente avec l'élévation de la température, en effet, lorsque la température s'élève, la pression de vapeur entraînant les composantes des HE est augmentée. Cependant, lorsque la température d'extraction dépasse une certaine limite (supérieure à 230°C), elle peut conduire à une dégradation de l'HE extraite (Rouatbi et *al.*, 2008).

I.1.8.3. Hydromodule

L'hydromodule doit être en rapport avec la masse végétale car il influence le rendement en huile essentielle. La pharmacopée a établie pour chaque type végétal, les conditions opératoires qui lui conviennent ; ces dernières dépendent de la nature, de la texture et de la richesse en huile essentielle de la plante (Anonyme, 1997).

I.1.8.4. Durée d'extraction

La durée de l'extraction dépend de la qualité et de la quantité des extraits désirée (Zekovid et *al.*, 2000).

I.1.8.5. La nature du solvant

Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité (pouvoir solvant à l'égard des constituants odorants) ; stabilité ; inertie chimique ; température d'ébullition (pas trop élevée pour permettre son élimination totale, pas trop faible pour éviter les pertes et donc une élévation des coûts) ; sécurité de manipulation (si possible non toxique et ininflammable) (Bruneton, 1999).

II. PRESENTATION DES MACROPHYTES

Introduction

La végétation macrophytique est un descripteur intéressant permettant de suivre la qualité de la zone littorale. Ces végétaux intègrent dans leur développement les modifications du milieu et ils sont pour la plus part vivaces fixés au substrat selon Demierre et Durand (1999).

II.1. Définition

Le terme de macrophytes couvre les plantes aquatiques supérieures visibles à l'œil nu par opposition aux microphytes qui comprennent les algues microscopiques (phytoplancton). (Demierre et *al* (1999), in Bounoura, 2008).

II.2. Classification

Différentes classifications des macrophytes sont proposées dans la littérature:

☆ Les macrophytes peuvent être classées par leur appartenance à différents groupes taxinomiques :

- Des Phanérogames (*Ranunculus*, *Potamogeton*)
- Bryophytes (*Fontinalis*, *Cinclidotus*),
- Ptéridophytes (*Azolla*)
- Des algues filamenteuses (*Cladophora*),
- le cas des colonies de cyanobactéries (*Oscillatoria sp.*) étant controversé.

II.3. Importance écologique :

- Organisation des peuplements
- Interactions biotiques
- Les macrophytes, des espèces-ingénieurs
- Les macrophytes espèces bio-indicatrices

II.4. Présentation de la plante : Scirpe maritime (*Scirpus maritimus L.*)

Introduction

Le scirpe maritime (*Scirpus maritimus L.*, famille Cypéacée) est une des héliophytes dominantes dans les zones humides méditerranéennes. Elle contribue à la structuration de la végétation et constitue une ressource alimentaire importante pour la faune sauvage (canards granivores, oies cendrées ou sangliers pour les tubercules) et les herbivores domestiques. Les individus de scirpe maritime présentent une forte capacité de croissance clonale par la production de rhizomes et tubercules.

II.4.1. Systématique ; d'après (Palla, 1905)

Embranchement	Phanérogames
S/Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	<i>Cyperales</i>
Famille	<i>Cyperaceae</i>
Genre	<i>Scirpus</i>
Espèce	<i>Scirpus maritimus L.</i>
Nom commun	Scirpe maritime

II.4.2. Répartition :

Actuellement, sa répartition est mal connue, morcelée et très localisée. On la trouve de l'Ouest de l'Europe jusque dans l'Ouest de la Russie suivant une répartition largement méridionale. Elle est citée jusqu'à l'intérieur des terres en Espagne, dans les Balkans (Croatie, Slovénie), en Turquie et en Arménie, ainsi qu'en Russie méridionale (Askew, 1988). En revanche, il semble que l'espèce ait disparu du Maroc (Jacquemin et Boudot, 1999).

En France, l'espèce est très localisée et sa population est fluctuante. Les citations pour les secteurs de Lyon, du Piémont et de Romagne seraient erronées (Selys-Longchamps, 1850 *in* Gelin, 1920). Les observations en Poitou (actuel canton de Pouzauges en Vendée) ont également été contestées (Gelin, 1920). Pour le Sud de la France, elle est entre autres signalée en Camargue sur le domaine de la Tour du Valat, dans le Vaucluse (Coffin, 1989) et les Bouches-du-Rhône (Bence, 1989).

II.4.3. Caractéristiques botaniques

Le Scirpe maritime est une macrophyte de la famille des Cypéracées formant de denses regroupements monospécifiques dans les marais saumâtres peu profonds (Liefers et *al.* 2000). Cette plante pérenne produit des inflorescences (i.e. reproduction sexuée) produisant des akènes pouvant rester en dormance plusieurs années (Clevering, 1995), permettant ainsi le développement de plantules dans un nouvel environnement.

Pourtant la grande particularité du Scirpe maritime est de pouvoir se multiplier de manière végétative (i.e. propagation clonale) via un réseau très complexe de rhizomes et de tubercules (Fig. 8) (Charpentier, 1998), permettant une rapide colonisation des plants nouvellement établis (concept de "foraging strategy", voire de Kroon et Hutchings 1995).

Les rhizomes et les tubercules assurent principalement l'ancrage de la plante dans le substrat, la protection face aux perturbations, la mise en réserve de produits issus de la photo assimilation et dans une moindre mesure, la multiplication et la propagation (Grace 1993).

Ces différentes fonctions font de ces organes des composantes d'une importance capitale dans ce mode de propagation. Les ramets formés au cours d'une saison de croissance sont interconnectés par des rhizomes qui persistent plusieurs années dans le sol. Cependant, il semblerait que ces rhizomes ne soient plus physiologiquement fonctionnels après la saison de croissance pendant laquelle ils ont été formés (Zakravsky et I-Iroudova 1994).

La partie photosynthétique des ramets est active pour une saison de croissance seulement et commence à entrer en sénescence à la fin juillet (Whigham et Simpson 1978, Podlejski 1981).

Seules les parties souterraines (i.e. les tubercules et les rhizomes) persistent l'hiver sur plusieurs années. Si le milieu n'est pas perturbé et est exclu d'herbivores, après quelques

années, le genet est donc majoritairement constitué de tubercules connectés entre eux par des rhizomes (Hroudova et Zakravsky 1995). Les parties épigées visibles lors de la période de croissance ne sont alors que la "partie émergée de l'iceberg".

Les premiers ramets issus directement du démarrage végétatif des tubercules hivernants portent généralement une inflorescence (Liefers et Shay 1981). Ces ramets émettent de 1 à 3 rhizomes le long desquels plusieurs ramets végétatifs (i.e. sans inflorescence) peuvent être successivement formés, produisant à leur tour 1 à 3 rhizomes (Fig. 8).

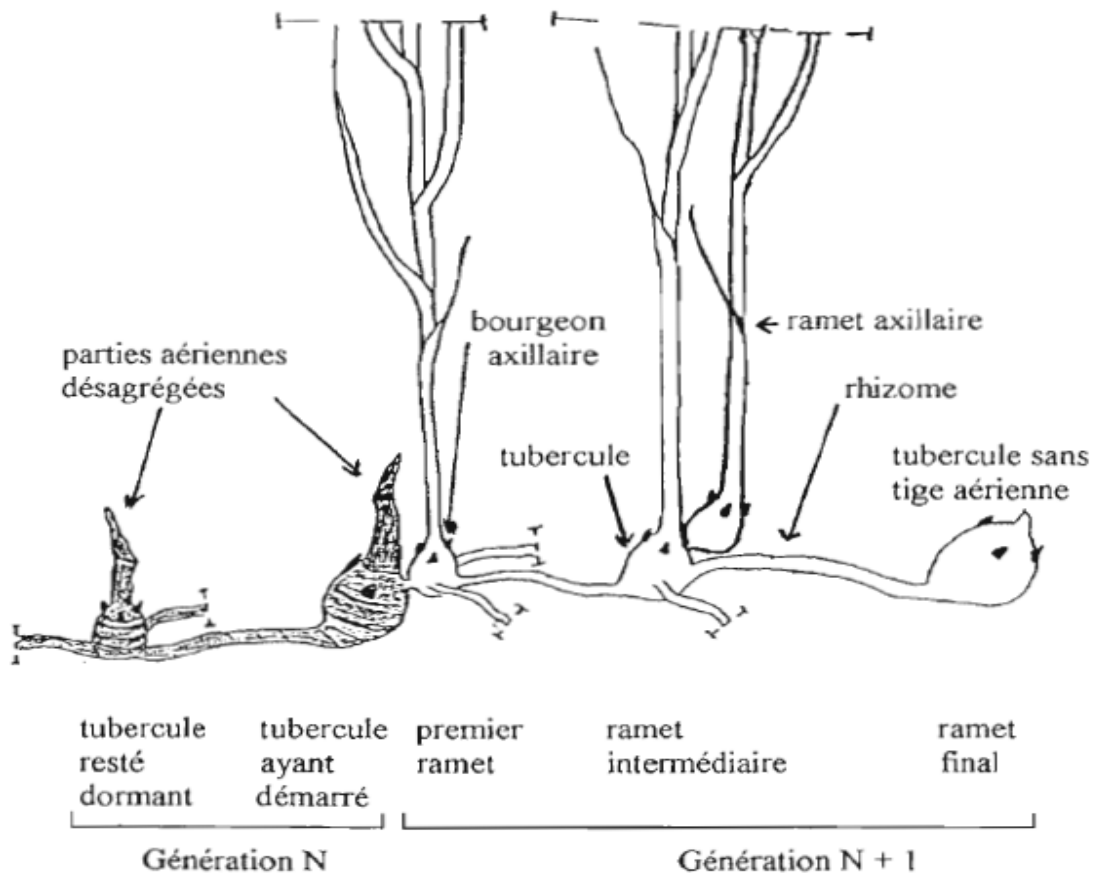


Figure.8 : Représentation schématique de la croissance clonale chez *Scirpus maritimus* L., témoignant de l'importante variabilité morphologique des ramets (Charpentier, 1998).

Les rhizomes se terminent généralement par un tubercule dépourvu de partie aérienne (Zakravsky et Hroudova 1994). Ces observations impliquent l'existence d'une importante

variabilité fonctionnelle entre les ramets (Fig. 9) qui semble être programmée dans le développement du genet.

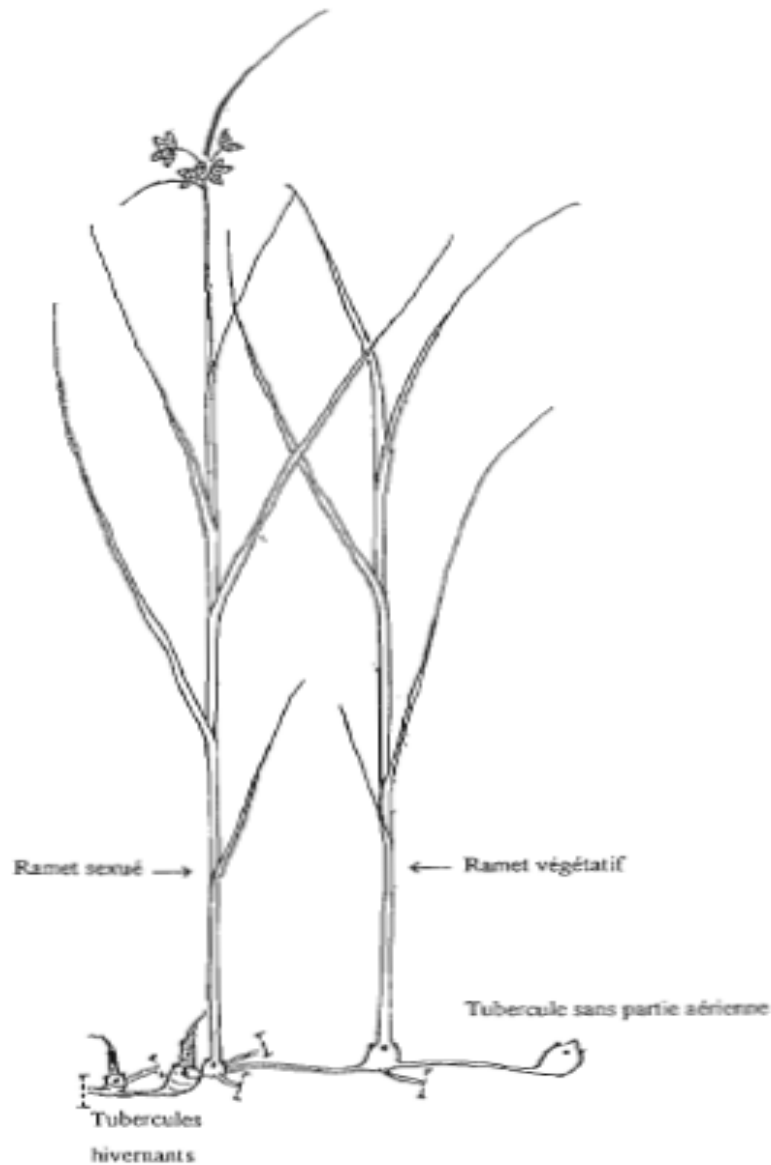


Figure. 9 :Représentation d'un fragment de clone de *Scirpus maritimus* L. (Charpentier 1998).

En outre, Clevering (1995) a mis en évidence une grande variabilité morphologique des 4 tubercules. En effet, les tubercules placés à l'extrémité apicale des ribosomes sont plus gros que ceux placés en position basale (Fig. 8).

Le fonctionnement clonal de *Scirpus maritimus* L. se caractérise donc à la fois par l'existence de connexions physiologiques entre les ramets mais aussi par une importante variabilité morphologique et fonctionnelle de ceux-ci.

Le Scirpe maritime est une espèce tolérante à la salinité et aux eaux assez profondes (Dodd et Coupland 1966, Ungar 1970, Walker et Coupland 1970, Stewall et Kantrud 1972, Ungar 1974, Millar 1976).

Ceci ne veut pas dire pour autant que ces facteurs abiotiques n'aient aucun impact sur la dynamique et la production de *Scirpus maritimus* L. dont l'optimum semble être atteint pour une hauteur d'eau de 5-20 cm (Liefers et Shay 1981) et pour une salinité comprise entre 0-10 ‰ (Lillebø et al. 2003). Liefers et Shay (1981, 1982b) ont montré que dans des conditions trop peu salines, *Scirpus maritimus* L. pouvait être éliminé par des espèces compétitrices d'eau douce telle que *Scirpus lacustris*. Au contraire, dans des milieux secs et très salés, les tubercules développent de courtes tiges qui ne fleurissent généralement pas.

Dans des eaux peu profondes et de salinité moins élevée, les tiges sont plus grosses et leur densité ainsi que les biomasses aérienne et souterraine atteignent leur maximum. Les bourgeons floraux apparaissent aussi plus rapidement. Lorsque la profondeur de l'eau dépasse 30-40 cm et que la salinité est faible, la biomasse souterraine diminue, attestant la pelée de réserves contenues dans les tubercules et nécessaires à la croissance des tiges pour se maintenir hors de l'eau.



Figure.10 : *Scirpus maritimus* L. (Cyperacées) (Palla, 1905)

Introduction générale

La viticulture occupe une place importante dans l'économie mondiale, en créant un dynamisme de la production et de la commercialisation .Elle joue un rôle environnemental dans la préservation des paysages ainsi qu'un rôle culturel, puisqu'elle contribue au rayonnement et à la promotion de la gastronomie à travers le monde.

L'Algérie compte parmi les nombreux pays qui réservent à cette culture un intérêt particulier par la mise en place depuis l'indépendance d'un certain nombre de programme de développement agricole. L'évaluation de la mise en œuvre du PNDA (Programme National de développement Agricole) entrepris entre 2000-2009 a montré l'importance accordée à ce secteur.(COMMUNICATION PERSONNELLE).

Toute fois le problème des maladies affectant la vigne peuvent être d'origine fongique, virale ou bactérienne. Ces organismes attaquent toutes les parties de la plante et génèrent des symptômes très variés causant des dégâts sur les cultures et par conséquent des pertes agricoles. Parmi les maladies fongiques les plus redoutables de cette plante, nous citons le Mildiou, l'Oïdium et la pourriture grise , néanmoins les maladies de dépérissement s'avèrent encore plus dommageables, puisqu'elles s'attaquent à la charpente de la souche dont elles provoquent la mort à plus ou moins court terme (Larignon ,2004). Parmi les maladies causant le dépérissement du bois sont essentiellement: l'Eutypiose.Esca.Black dead arm ou BDA

Le contrôle de ces maladies des plantes se doit d'être efficace en utilisant des méthodes de lutte conventionnelles représentées par les méthodes physiques, chimiques, génétiques et biologiques. Toutefois le problème des maladies reste un facteur limitant des objectifs tracés à travers tous les programmes de développement.

La difficulté à proposer des méthodes de lutte à court terme, est liée à une mauvaise connaissance de maladies du bois vu leurs complexités, mettant en jeu plusieurs champignons, et à la durée des expérimentations trop longues pour révéler leurs efficacités (Larignon ,2009).

Toutefois, les connaissances de ces maladies du bois et de leurs épidémiologie ont énormément progressés, ce qui va nous rappeler l'étendue du chemin qu'il reste à parcourir à

la recherche, pour trouver les moyens de luttés efficaces contre ces maladies, notre travail s'inscrit dans ce cadre et a pour objectif :

L'étude de l'effet fongicide de l'huile essentielle issue d'une espèce appartenant aux Macrophytes, l'huile essentielle est obtenue (feuilles et fruits) par hydro distillation avec les différentes concentrations sont testés *in vitro* à l'égard d'une souche fongique incriminée dans le dépérissement de la vigne *Fomitiporia mediterranea*.

A travers notre démarche scientifique, nous cherchons à répondre aux hypothèses suivantes :

- ✓ Quelle est le profil chimique de l'huile essentielle de Scirpe maritime ?
- ✓ L'huile essentielle étudiée présente-t-elle une activité fongicide *in vitro* sur le champignon phytopathogène étudié ?

Liste des figures

Figure 1.	Surface de vignobles dans le monde entier	4
Figure 2.	Principales localisations des champignons associés aux maladies du bois	8
Figure 3.	Nécrose centrale ponctuations noires	9
Figure 4.	symptôme sur Cépage blanc	10
Figure 5.	symptômes sur cépages noir	10
Figure 6.	Symptômes sur les bais	11
Figure 7.	Forme foudroyante de l'esca	12
Figure 8.	Représentation schématique de la croissance clonale chez <i>Scirpus maritimus</i> L, témoignant de l'importante variabilité morphologique des ramets (d'après Charpentier J998)	29
Figure 9.	Représentation d'un fragment de clone de <i>Scirpus maritimus</i> L composé de deux tubercules hivernants et d'une chaîne de ramets produite au cours d'une saison de croissance, témoignant de l'importante variabilité fonctionnelle des ramets	30
Figure10.	<i>Scirpus maritimus</i> L. (Cyperacées)	31
Figure 11.	Culture de <i>Fomitoporia mediterranea</i>	33
Figure 12.	Situation géographique du Lac de Timerganine dans les zones humides des hautes plaines de l'Est l'Algérie	34
Figure 13.	Température moyenne mensuelle (1988-2008)	35
Figure 14.	Variation mensuelle de la hauteur des pluies au niveau de la station d'OEB	36
Figure 15.	Chromatographe de type « Hewlett Packard 6890 »	39
Figure 16.	Pouvoir antifongique de l'huile essentielle à base de Scirpe Maritime représenté par des zones d'inhibition après 5 et 10jours de traitement [originale]	44

Figure 17.	Evaluation temporelle du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de Scirpe maritime sur <i>Fomitoporia mediterranea</i>	45
Figure 18.	La croissance mycélienne de la souche fongique après traitement.	45
Figure 19.	Analyse en composantes principales (A.C.P.) du traitement de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne de la souche fongique en fonction de la durée d'incubation	47
Figure 20.	Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche fongique <i>F.mediterranea</i> sous l'effet de l'huile essentielle (a : périodes après traitement, b : doses)	48
Figure 21.	Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche phytopathogène sous l'effet doses	49

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.	Situation de la viticulture en Algérie	5
Tableau 2.	les principaux bio-agresseurs de la vigne	6
Tableau 4.	Composition chimique de l'huile essentielle de Scirpe maritime	43
Tableau 5.	Résultats des tests du pouvoir antifongique de l'huile essentielle	43
Tableau 6.	Tableau d'analyse de la variance des différents paramètres étudiés	47

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Objectif :

La présente étude a pour objet d'évaluer l'effet de bio contrôle des molécules végétales sur un champignon lignivore, elle comprend trois parties essentielles :

- Extraction de l'huile essentielle à partir d'une espèce végétale Scirpe maritime (*Scirpus maritimus L.*) par hydrodistillation
- Etude de la composition chimique de l'huile essentielle obtenue par chromatographie phase gazeuse (CPG et CG /SM)
- Une étude du pouvoir fongicide de huile essentielle de scirpe maritime vis-à-vis une souche fongique responsable de dépérissement de la vigne *Fomitiporia mediterranea*.

I. Matériel d'étude

I.1. Matériel biologique

I. 1.1. Présentation de la souche fongique

La souche fongique utilisée dans cette étude a été fournie par Mme Ammad de sa collection des organismes phytopathogènes du Laboratoire de Phytopathologie, Département d'Agronomie université de Blida

I.1.2. Maintien de la souche fongique

La souche fongique (Figure11) a été entretenue par repiquage sur le milieu nutritif PDA (Potato Dextrose Agar) à pH=6,5-7 [(Johnston, et Booth C. 1983) (Annexe)], favorable à leur croissance. Les milieux de culture sont stérilisés à l'autoclave (20 min à 115°C) et refroidis au bain Marie à 45°C puis coulés sous forme d'une couche plus ou moins épaisse en boîte de pétri de 9 cm de diamètre. La culture et croissance se fait à l'incubateur à une température de 27°C à l'obscurité. La période de croissance varie de 3 à 7 jours au maximum pour le champignon.



Figure11: Culture de *Fomitiporia mediterranea*

I.1.3. L'espèce végétale

Le Scirpe maritime est une macrophyte de la famille des Cypéracées formant de denses regroupements monospécifiques dans les marais saumâtres peu profonds (Charpentier *et al.* 2000).

Nous avons testé l'efficacité fongicide d'une huile essentielle d'une plante choisie, par sélection, une plante appartenant à une famille des Cypéracées, récolté de la région de Oum el Bouaghi (Le Lac de Timerganine)

II. Présentation générale de la région d'étude :

II.1. Situation géographique et administrative

II.1.1. Localisation générale :

Selon Houhamdi *et al.* (2009) le complexe des zones humides des hautes plaines de l'Est algérien (Figure12) et s'étend sur près de 300 km de l'Est à l'Ouest et compte quinze plans d'eau (chotts, sebkhas et garaets) dont la plupart ont un statut de site Ramsar. Le Lac de Timerganine (c'est une série de petite smares d'eau interconnectées) qui fait partie de ce complexe représente l'unique plan d'eau douce de la région.

Le site est situé à 4 kilomètres au sud de la commune de Aïn Zitoune et à 33 Km de la ville de Oum El Bouaghi, chef -lieu de wilaya. On y accède par la route menant d'Oum El Bouaghi vers Khenchela. Sur le plan administratif, il fait partie du territoire de la commune Aïn Zitoune, de la daïra et de la wilaya d'Oum El Bouaghi.

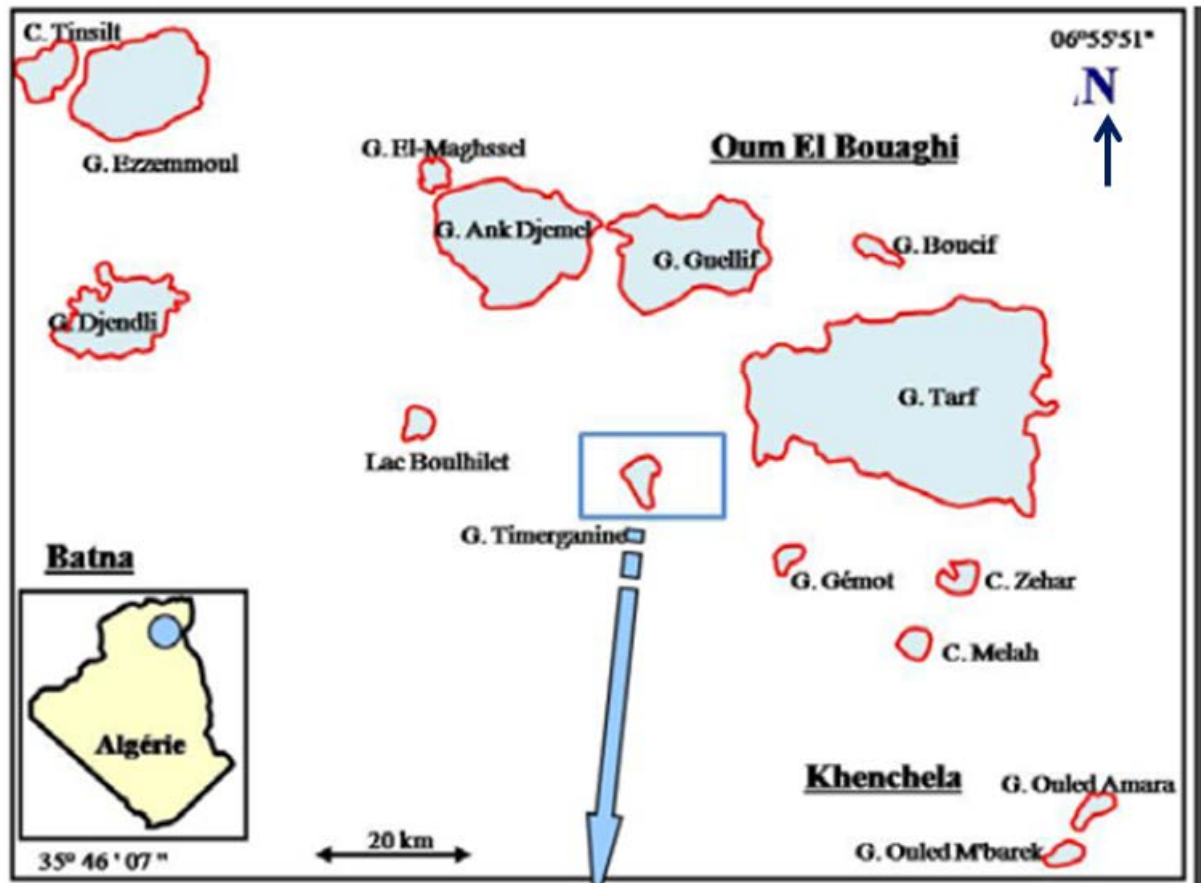


Figure12: Situation géographique du Lac de Timerganine

dans les zones humides des hautes plaines de l'Est l'Algérie Houhamdi *et al.* (2009)

II.1.2. Etude du climat de la région d'étude

Les zones humides, dépendantes du bilan d'eau, reflètent, en première approche, l'évolution des paramètres du climat.

II.1.2.1. La température

Selon (Ramade ;2003) la température représente un facteur limitant de toute première importance car elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionne de ce fait la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'être vivants dans la biosphère.

- le mois le plus chaud est le mois de juillet, avec une valeur de température maximale moyenne de (30.8 °c)

- le mois le plus froid est le mois de janvier, avec une température minimale de (11.4 °c). Le Scirpe est adapté avec la température de la zone étudiée.

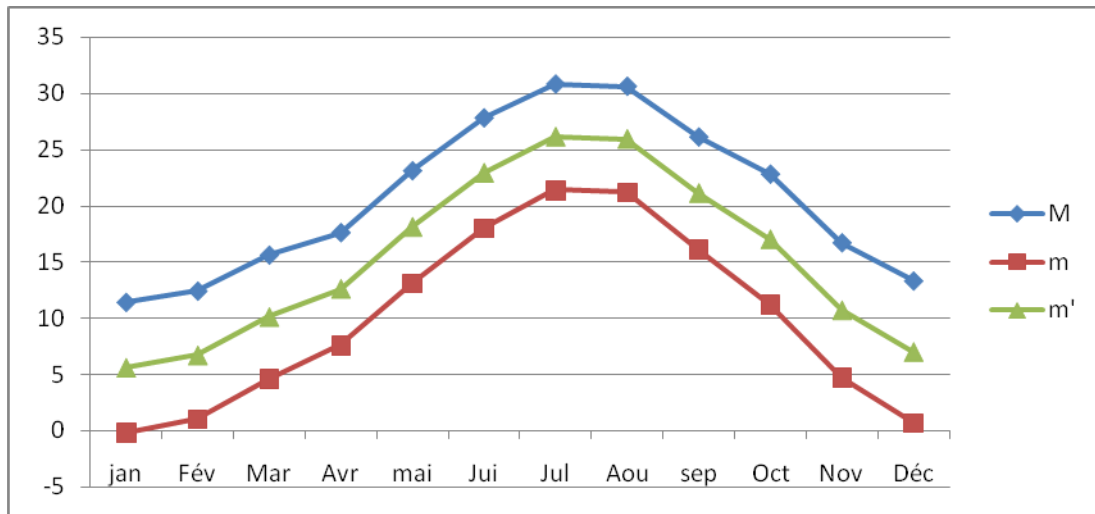


Figure13 : Température moyenne mensuelle (1988-2008) Source (station météorologique d'Oum El Bouaghi)

M : température maximale

m : température minimale

m' : température moyenne

II.1.2.2. Les précipitations

La pluviométrie augmente au fur et à mesure qu'on s'élève en altitude, les versants nord sont plus pluvieux que les versants sud (SELTZER; 1946) in (BENISSAAD; 1992).

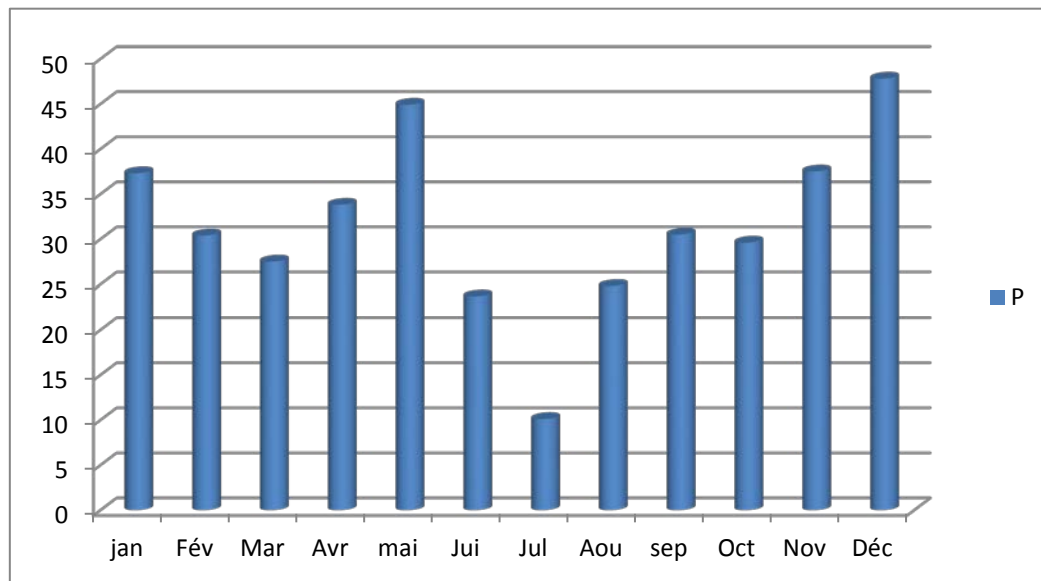


Figure14 : Variation mensuelle de la hauteur des pluies au niveau de la station d'OEB

(Source station météorologique Oum el Bouaghi,2012)

La zone d'étude est située dans l'étage bioclimatique semi-aride, sous-étage inférieur, variante à hiver froid. La température moyenne annuelle est de 15,3°C, et une période sèche de cinq mois.

La pluviométrie est très irrégulière. En Automne les pluies sont orageuses et parfois catastrophiques et donnent naissance à des crues dévastatrices alors qu'en hiver elles sont, en général, persistantes et favorisent l'infiltration. Durant les saisons pluvieuses, le sol acquiert suffisamment de réserves en eau pour permettre la germination de quelques espèces annuelles.

III.1. Récolte du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude, comprend; Scirpe maritime (*Scirpus maritimus L.*) récoltée la matinée, d'une façon aléatoire au stade floraison durant la période mi Avril et mi Mai 2013.

Les échantillons collectés (les plantes entières) sont mis dans des sachets en plastique stériles et traités le jour même de leur arrachage. Un prélavage du matériel végétal est effectué à l'eau courante du robinet pour le débarrasser des débris. Par la suite, une opération de séparation des parties aériennes (feuilles et fruit) est effectuée.

Les échantillons ont été étalés sur du papier blanc et mis à sécher à l'air libre, à l'abri de lumière et d'humidité et à la température ambiante du laboratoire. Devenus secs, les

échantillons sont pilés dans un mortier en porcelaine désinfecté, puis réduits en poudre fine à l'aide d'un mixeur électrique. La poudre obtenue est récupérée et conservée dans des bouteilles stériles hermétiquement fermées, à température ambiante et à l'abri de la lumière jusqu'à son extraction.

III.2. Extraction de l'huile essentielle :

Cette expérimentation a déroulé au niveau de département de chimie industrielle de Batna

III.2.1.Hydrodistillation

Ce mode a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les huiles essentielles et pouvoir les séparer à l'état pur.

Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'huile essentielle sera alors séparée par différence de densité (Bruneton, 1993) .

III.2.1.1.Détermination de rendement en huile essentielle :

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le volume de l'huile essentielle et le poids de matière végétale à l'état sec.

Elles sont exprimées en pourcentage par rapport à 100g de matière sèche selon la formule suivante:

$$R = (V/M) \times 100$$

R : production (ou rendement) d'huile essentielle en ml/100g de MS ;

V : volume d'huile essentielle en ml ;

M : poids de la matière végétal exprimé par rapport à la matière sèche.

III.2.1.2. Méthode d'analyse chromatographique :

III.2.1.3. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) : +CPG /SM

Depuis plus trentaine d'années la CPG .s'est développée irrésistiblement .Elle est devenue une méthode de choix pour la séparation d'un mélange complexe de produit volatils. A l'aide de la C.P.G, les mélanges très complexes de substances volatiles peuvent être séparés, identifiés et quantifiés dans un temps relativement bref. (Tranchant, 1983).

III.2.1.3.1. Principe :

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode de séparation des composés gazeux susceptible d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. (Tranchant, 1983). Elle est assez récente et permis de séparer des mélanges de gaz vaporisable à haute température. Le mélange à analyser est injecté dans une colonne métallique de quelques millimètres de diamètre enroulée sur elle-même et contenant la phase stationnaire. Les composés sont véhiculés sous pression par un gaz inerte Il s'agit du gaz vecteur (l'hélium ou l'azote), le temps que met un constituant gazeux pour parcourir la colonne est le temps de rétention, les constituants sont aussi séparés par la différence entre les temps de rétention respectif.

III.2.1.3.2. Conditions d'analyse chromatographique CPG et CPG/SM :

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles en phase gazeuse ont été effectuées au niveau de département de chimie industrielle Blida.

L'identification des composées d'huile essentielle de Scirpe maritime a été faite par un chromatographe de type « Hewlett Packard 6890 »(Figure,16).

Les Conditions de chromatographie sont les suivantes :

- Injection de 1µl en mode Splitless (1/50) ;
- Température de l'injecteur : 250°C ;
- Colonne capillaire HP5MS (30 cm × 0.25 mm × 0.25µm) ;
- Programmation de température : 60°C pendant 4 min ; 4°C/min jusqu'à 230°C pendant 10 min ;
- Débit du gaz vecteur : Hélium (1ml/min).



Figure15: Chromatographe de type « Hewlett Packard 6890 »

IV. Préparation des doses des huiles essentielles

A partir de l'huile essentielle obtenue, nous préparons les doses à tester après dilution dans le tween 80(diluée 3%).

Nous avons utilisé le tween 80 comme témoin à cause de l'absence de l'activité fongicide et comme diluant pour former des microémulsions et donc l'homogénéisation de la solution d'huiles essentielles

Pour ces substances nous avons utilisé les doses suivantes :

- 1^{ère} dose ; 5mg de H E + 95 de Tween (3% diluée).
- 2^{ième} dose ; 10mg de H E + 90 de Tween (3% diluée).
- 3^{ième} dose ; 15mg de H E + 85 de Tween (3% diluée).

Témoin : 100 mg de tween (3% diluée). Pour chaque dose nous avons effectués trois répétitions même pour le témoin.

V. Application des traitements biologiques :

L'activité antifongique de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime vis-à-vis la souche fongique *Fomitiporia mediterranea* a été déterminée par le test d'activité volatile (**Sharma et al ,2006 ;Bajpal et al, 2007 ; Al-Reza et al, 2010**).

Cette méthode consiste à déposer au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu de culture, un disque mycélien issu d'une culture fongique jeune découpé à l'aide d'un emporte-pièces de 8 mm de diamètre. Les disques mycéliens sont récupérés d'une culture âgée d'une semaine pour les souches des différents champignons.

Des disques de papier Wattman de 8 mm de diamètre, préalablement stérilisés à l'autoclave (115°C. pendant 20 min), sont d'abord imprégnés et saturés avec 30 µl de chaque dilution de l'huile essentielle, puis déposés sur le couvercle de la boîte de Pétri retourné, à raison d'un disque imprégné par couvercle (**Inouye et al, 2006 ; Chutia et al, 2009**). Le témoin consiste en des disques imprégnés avec le même volume de tween (3%). Toutes les boîtes de pétri ont été recouvertes par un parafilm afin d'éviter l'évaporation de l'huile essentielle.

La lecture de l'activité antifongique de l'huile essentielle vis-à-vis une souche de champignon a été enregistrée à travers la croissance radiale exprimée en pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne en utilisant la formule décrite par PANDEY et coll. Cette lecture a été effectuée après 5 jours, 10 jours et 15 jours.

Selon (**Pandy et al, 1982**) : $PI = DC - DT / DC * 100$

PI : Pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons testés.

DC : le diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon non traité (mm).

DT : Le diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon traité. L'évaluation in vitro du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de Scipre maritime sur une souche fongique *a* provenant de la collection du laboratoire de phytopathologie de l'institut d'agronomie de Blida par un mode de traitement à activité volatile. Ce pouvoir est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm)

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Mutai et al., (2009). Ils ont classé les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne en 5 classes :

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30\text{mm}$
- Fortement inhibitrice : $21\text{mm} \leq D \leq 29\text{mm}$
- Modérément inhibitrice : $16\text{mm} \leq D \leq 20\text{mm}$
- Légèrement inhibitrice : $11\text{mm} \leq D \leq 16\text{mm}$

Non inhibitrice : $D < 10\text{mm}$

VI. Analyse statistique

Tous les essais ont été répétés au moins trois fois et trois doses différentes pour chaque champignon, par la suite un calcul des moyennes a été réalisé.

Les résultats recueillis sur les tests du pouvoir antifongique de l'huile essentielle à base de *Scirpus maritimus* L. ont fait l'objet d'analyses statistiques.

Afin de vérifier une éventuelle efficacité de l'huile essentielle vis-à-vis une souche fongique testée, des analyses ont été faites en utilisant la procédure décrite par le SYSTAT vers. 12, SPSS 2009.

Dans les conditions paramétriques et afin de tester les interactions entre les facteurs (dose, compartiment), nous avons alors utilisé le modèle linéaire global (G.L.M.).

Afin de vérifier une éventuelle efficacité de l'huile essentielle vis-à-vis la souche fongique testées, nous avons utilisé la procédure décrite dans PAST vers 1.81 [290]. Les analyses de covariance ont été conduites en considérant les diamètres des zones d'inhibition comme moyennes et les souches à testées comme les variances.

Les corrélations existantes entre l'huile essentielle à base de Scirpe maritime et ses dilutions et la souche fongique sont mises en évidence par une analyse en composantes principales (ACP). Dans ce type de test, Scirpe maritime et ses dilutions ont des coordonnées comprises entre -1 et $+1$ et appartiennent à un cercle de corrélation. L'interprétation de l'ACP se fait à partir de l'examen du cercle des corrélations et de la position du statut des variables sur les axes factoriels [291].

L'hypothèse de l'efficacité antifongique du Scirpe maritime est testée par le modèle de la distance euclidienne à un facteur contrôlé, par utilisation du logiciel PAST – Palaeontological STatistics, ver. 1.8.

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

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA
FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Thème

**Effet fongicide de l'huile essentielle de scirpe maritime (*Scirpus maritimus L.*)
à l'égard d'un champignon lignivore (*Fomitiporia mediterranea*) des maladies
de la vigne**

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 : phytopharmacie appliquée

Présenté par : Mr. **BOUFAR ABDELWAHAB**

Devant les membres de jury composé de :

Mme. DJENAS K.	M.A.A.	U.S.D.B.	Présidente
Mme. AMMAD F.	M.A.A.	U.S.D.B.	Promotrice
Mme. BENSALID F.	M.A.A.	U.S.D.B.	Examinatrice
Mme. SABRI K.	M.A.B.	U.S.D.B.	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2012/2013

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AL-REZA S.M., RAHMAN A., AHMED Y. et KANG S.G., 2010-** Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. Pesticide Biochemistry and Physiology 96, pp: 86-92
2. **AMMAD F. , 2006 .** Dépistage et diagnostic des maladies de dépérissement de la vigne (Eutypiose et virose) dans quelques vignoble algériens. Mém. Mag. Blida. Algérie. 105p.
3. **AOUICHE A.(2011)** l'effet fongicide de *Romarin sp* sur quelques champignons de dépérissement de l vigne. Mémoire master en sciences de la nature et de la vie. Université de Blida, 90 P. 2011
4. **AUCLAIR. J., Côté. I.,** “ Extraction d’huiles essentielles de conifères.”, Expo-journal, rapport interne, (2002), 11 p, 3,4.
5. **AUGER J., CADOUX F. ET THIBOUT E., 1999 -** *Allium spp* thiosulfinates as substitute fumigants for methylbromide. Pestic. Sci., pp: 200-202.
6. **BAJPAL ET al., 2007**
7. **BAKKALIF., AVERBECK. S., AVERBECK.D., IDAOMAR.M. 2008** “ Biological effects of Essential oils “, Food chemistry and toxicology, V.46, Issue 2, (February 2008), 446 - 475
8. **BAYDAR. H.,SAGDIÇ. O., ÖZKAN. G., KARADOGAN. T.** “ Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thymbra and Satureja species with commercial importance in Turkey. “, Food control, V.15, n° 3, (April 2004), 169-172
9. **BERNARD. T., PERINEAU. F., BRAVO. R., DELMAS. M.,GASETA. A.,** “ Extraction of Essential oils : Chemistry and technology “, Journal of chemistry informations, n° 298, (1988), 179-184
10. **BOUHIDE N (2012),** l'effet fongicide de *ruta montana* sur quelques champignons de dépérissement de l vigne. Mémoire master en sciences de la nature et de la vie. Université de Blida, 102P 2012
11. **BOUNOUARA A.,2008-**Contribution à l'étude de l'impact des modifications écologiques sur la production de biomasse des macrophytes de la zone humide

12. BOUQUET, 1982)

13. BRUNETON J. “Pharmacognosie: Phytochimie des plantes médicinales”, Lavoisier Tec et Doc, 2^{ème} édition, Paris et New York , (1999), p 286- 426.

14. CAILLET S., LACROIX M., “ Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobienne et leur application potentielles en alimentaire. ”, (2007), 1-8. Caraffa, 1999).

15. CHANSELLE S. “ Guide du préparateur en pharmacie. ”, Elsevier masson, troisième édition, Paris , (2008), 1343p, 774,1173.

16. CHARPENTIER, A. (1998) Biologie des populations d'une espèce clonale: Architecture et fonctionnement clonal chez *Scùpus Illaritiillus* dans les marais temporaires méditerranéens du sud de la France. Ph. D. thesis, Université Montpellier II, Montpellier, France.

17. CHIASSON H., BOSTANIAN N. ET VINCENT C., 2001 – acaricidal properties of a *chenopodium*-based biopesticide. J. Econ. Entomol. 97, pp: 1373-1377

18. CHUTIA M., DEKA BHUYAN P., PATHAK M.G., SARMA T.C. et BORUAH P., 2009- Antifungal ion of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. LWT- Food Science and Technology, 42, pp: 777-780.

19. CROUS ET GAMS, *Phaeomoniella chlamydospora* gen. Et comb. nov., a causal organism of Petri grapevine decline and esca, Phytopath. Medit. 39 (1) (2000) 112–118.

20. DINAN L., SAVCHENKO T., WHITING P., 2001 - On the distribution of phytoecdysteroids in plants. Cellular and Molecular Life Sciences 58(8), pp: 1121-1132.

21. DUBOS B.; BURARET Y. ; BULIT J. et ROUDET J., 1983 : Vigne, Maladies du bois : symptômes et méthodes de lutte. Phytoma – défense des cultures. 16-19.

22. DUBOS, E. PAILLASSA, Une nouvelle arme contre l'eutypiose, Viti 151 (1991) 49–52.

23. DUBOS B., 1994 : Incidences économiques de l'eutypiose dans un vignoble de grand cru de Bordeaux. Phytoma, la défense des végétaux n°467 : 15-18.

24. DUBOS B., 1996 : L'eutypiose de la vigne, *Eutypa lata* (Pers : Fr.) Tur ; C.R. Acad. Agric. France, 82 (1): 21-30.

- 25.DUBOS, B.**, « Les maladies cryptogamiques de la vigne champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne». Edition Ferret (1999),175p.
- 26.DUBOS, B.**, 2002 : Les maladies cryptogamiques de la vigne champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne, Edition ferret (2ème Edition).
- 27.DURAFFOURD. C., LAPRAZ. J-C.**, “ Traité de phytothérapie clinique : endobiogénie et médecine.”, Masson, Paris, (2002), 827 p, p : 6, 7
- 28.ERKAN, M.;** 2000: A general approach for esca disease in the vineyards of Turkey. *Phytopath. Medit.*, N°39, N°1, 35-37.
- 29.FISCHER, M.;** 2002: A new wood-decaying basidiomycete species associated with esca of grapevine: *Fomitiporia mediterranea* (Hymenochaetales). *Mycological Progress* 315-324.
- 30.GALET P.,** 1993 *précis de viticulture*. 6^{ème} Edition DEHAN. Montpellier : 582p.
- 31.GALET, P.,** 1999 : *Précis de pathologie viticole*. 3^{ème} édition. 81-86. Crous, P.W. and Gams, W.; 2000: *Phaeomoniella chlamydospora* gen. ET com. Nov., a causal organism of Petri grapevine decline and esca. *Phytopath. Médit.* N°39, 112-118.
- 32.GALET, P.,** 1991 : *Précis de pathologie viticole*. Imp.JF. Impression, Montpellier : 256p.
- 33.GALET.P.,** 1995 : *Précis de pathologie viticole*. Imp.JF.Impression. Montpellier : 248p.
- 34.GRACE, LB. (L 993)** The adaptative significance of clonal reproduction in angiosperms: an aquatic perspective. *Aquatic Botany*, **44**, 159-180.
- 35.HAMMER K.A., CARSON C.F. ET RILEY T.V., 1999** - Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.*, **1**(86), pp: 985-990
- 36.INOUE S., UCHIDA K., MARUYAMA N., YAMAGUCHI H. ET ABE S., 2006-** A novel method to estimate the contribution of the vapour activity of the essential oil in agar diffusion assay. *Jpn. J. Med. Mycol*, **4**, pp: 91-98.
- 37.JONHSTON,A., AND BOOTH,C.,** "plant pathologist pocket book", 2nd Ed .Commnwealth Mycological Institute,Kew,Surey,England,(1983), 439p.
- 38.KORDALIS., KOTAN. R., MAVI. A., CAKIR. A., ALA. A., YILDIRIM.A.,** “ Determination of the chemical composition and antioxydant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *A. santonicum* and *A. spicigera* essential oils. ”, *Journal of agriculture and food chemistry*, V.53, (2005), 9452-9458

- 39.LARIGNON , 2009 L. MUGNAI. A. GRANITI. G. SURICO.** ESCA (Black Measles) and Brown Wood-Streaking: Two Old and Elusive Diseases of Grapevines, Plant Disease/Vol. 83 No. 5.
- 40.LARIGNON ,** C. R. Biologies 332 (2009) 765–783
- 41.LARIGNON P.,** 2007 : Bilan de travaux et des recherches sur les maladies du bois par l'ITV. Rodhan : 40p.
- 42.LARIGNON P.,** 2008 : Rôle de matériel végétal dans la propagation des champignons associés aux maladies du bois. IFV. NIMES : 53p
- 43.LARIGNON, P et al,** C. R. Biologies 332 (2009) 765–783.
- 44.LARIGNON, P., 2008.** First observations on the role of rain in the penetration of *Eutypa lata* into pruning wounds.
- 45.LE GALL, D.; LE GAT, Y.; 1994 :** Evaluations de la nuisibilité de l'eutypiose au vignoble. Ann. A.N.P.P., 3, 1271-1285.
- 46.LIEFFERS, V.J. & SHAY, LM. (1981)** The effects of water level on the growth and reproduction of *Scirpus maritimus* var. *paludosus*. *Canadian Journal of Botany*, 59,) 18-) 21.
- 47.LUCINI E.I., ZUNINO M.P., LOPEZ M.L., ZYGADLO J.A., 2006-** Effect of monoterpenes on liquid composition and and sclerotial development. J. Phytopat, 154, pp: 441-446.
- 48.MOALI A, 2009** Fiche descriptive sur les zones humides Ramsar (FDR)- version 2006-2008 site Ramsar : Garaet Timerganine
- 49.MUGNAI L, GRANITI A, SURICO G. 1999.** Esca (black measles) and brown wood-streaking: two old and elusive diseasesof grapevines. Pl Dis 83:404–416
- 50.MUGNAI, L.; GRANITI, A. AND SURICO, G.; 1999:** Esca (Black measles) and brown wood sreaking: two old and elusive diseases of grapevine. Plant Disease/ Vol. 83, 404-418.
- 51.MUGNAI, L.; SURICO, G. AND ESPOSITO, A.; 1996:** Microflora associata al mal dell'esca della vite in Toscana. Inform. Fitopatol. N°46, 49-55 Mostert.,2003)
- 52.O.I.V.** Organisation International de Vin et Vigne ;2008
- 53.O.I.V.** Organisation International de Vin et Vigne ;2009

- 54.PANDY ET al., 1982) PANDEY D.K., TRIPATHI N.N., TRIPATHI R.D., DIXIT S.N., 1982-**Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Caesulia axillaris* Roxb.(Compositae). Angerwandte Botanik, 56 : 256-257.
- 55.PICKETTS S.T.A., WHITE P.S. (EDS.), 1985-** The ecology of natural disturbance and patch dynamics. New York, Academic Press 472 P.
- 56.PRABUSEENIVASAN. S., JAYAKUMAR. M., IGNACIMUTHU. S.,** “ In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. ”, BMC Complementary and Alternative Medicine, V.6, n°39, (November 2006), 1-8
- 57.PRICE. S., PRICE. L., PÉNOËL. D.** “ Aromatherapy for health professionals.”, Elsevier Health Sciences, Second édition, London, (1999), 391 p, 10, 11, 12.
- 58.P. L’ANCIEN, HISTOIRE NATURELLE, LES BELLES LETTRES, XVII PARIS, 1964** (traduction J. André)
- 59.PEROS J-P., 1995 :** Sensibilité des cépages a l’eutypiose : le problème du comportement de défense au vignoble. Prog. Agric. Vitic. 112: 61-67.
- 60.PEROS, J.P.** "Influence du porte greffe et du cépage sur l'expression des symptômes D'EUTYPIOSE", .PRO. AGRIC. VITI. , N° 116, (1999), PP 407-414.
- 61.RAVAZ,** Encore l’apoplexie de la vigne, Progrès Agr. et Vit. 52(1991) 601–603.
- 62.RENE REVUZ. J.E.,** “ Traité EMC : Cosmétologie et dermatologie esthétique.”, elsevier masson, section E, paris, (2009), 500 p, 2,3.
- 63.REYNIER,** Manuel de viticulture, 10^e édition, 2007,pp.413-417.
- 64.ROBINSON J., 1988:** Le livre des cépages. Edition Hachette. Paris : 280 p.
- 65.ROZIER,** Cours complet de l’agriculture ou dictionnaire universel d’agriculture, Paris, 1815.
- 66.SPAPANO, L.; BRUNO, G. AND CAMPANELLA, A.;** 2001. Interactions between three fungi associated with esca of grapevine, and their secondary metabolites. Phytopath. Médit. N°40, Supp. 417-422.
- 67.SHARMA O.P., 1989 -** textbook of fungi. tata mcgraw-hill, 24 p.
- 68. SHARMA P.D., 2006 –** Plant pathology. Alpha Sciences international, pp: 3-5.

- 69.SMID E.J., 1999** - Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, pp: 4606-4610
- 70. SOKOVIC. M., VAN Griensven. L.J.L.D.**, “ Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. ”, *European Journal of Plant Pathology*, V.116, n° 3, (November 2006), 211–224
- 71.VIRET ET GINDRO**, 2006, l’esca en suisse 15^{ème} Colloque Viticole et Œnologique 30 novembre et jeudi 1er décembre 2005 Parc des Expositions de Montpellier,82-83.
- 72.WHITING, A. KHAN, W.D. GUBLER**, Effect of temperature and water potential on survival and mycelial growth of *Phaeoconiella chlamydospora* and *Phaeoacremonium* spp., *Plant Dis.* 85 (2001) 195–201.
- 73.WILLEM. J. P.**, “ Les huiles essentielles, médecine d’avenir.”, Dauphin, Troisième édition, Paris, (2004), 318 P.
- 74.ZEKOVID. Z, LEPOJEVID. Z., VUJID. D.**, “ Supercritical Extraction of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) ”, *Chromatographia Journal*, V. 51, n° : 3-4, (February 2000), 175-180.

Remerciements

Par le présent manuel ; je tiens à remercier Dieu tout puissant de m'avoir aidé à exécuter ce modeste travail.

Je remercie tout particulièrement ma promotrice Mme. AMMAD F .d'avoir dirigé mon mémoire de fin d'étude avec beaucoup d'efforts et de patience, ses qualités pédagogiques remarquables m'a permis de profiter de ses connaissances et ont contribué à l'avancement de mon travail en ne négligeant ni ses conseils avisés et ni ses critiques constructives. qui ont accepté de consacrer leurs temps en examinant le manuscrit.

Mes vifs remerciements et mes respects vont à Mme. DJENAS K., qui me fait l'honneur de présider le jury.

Je voulais remercier Mme. BENSALD F., d'avoir bien voulu accepter d'être membre de jury et d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier Mme. SABRI K., d'avoir bien voulu accepter d'être membre de jury et d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier aussi Mr Ramdhane S .et Mr Djazouli qui par ses conseils, son encouragement et sa disponibilité ont eu une influence décisive sur la réalisation de ce travail.

Je remercie également Melle Naima l'administratrice d'avoir m'aider et me soutenir.

Je suis honoré et je leurs exprime toute mes profondes reconnaissances.

Que Dieu nous épargne de tout malheur et exhausse nos vœux.

Abdelwahab. ⚡

CHAPITRE IV : RESULTAT ET DISCUSSION

I. Résultats et interprétations

I. Résultats d'extraction de l'huile essentielle.

I.1. Le rendement en huile essentielle de *Scirpus maritimus* L.

L'huile essentielle a été obtenue par hydro distillation de la plante de *Scirpus maritimus* (L) Récoltée en Lac de Timerganine Le rendement calculé en fonction de la masse de végétal préparé est de 0.31%. Une analyse préliminaire réalisée par CPG et par CPG/SM, cette huile essentielles a mis en évidence l'existence du profil chromatographique (PC1).

I.2. La composition chimique de l'Huile essentielle de *Scirpus maritimus* L.

L'identification des composants de l'essence obtenue par hydrodistillation a été réalisée à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (CPG-SM) et par CPG. Les résultats de notre étude sur la composition chimique de l'huile essentielle apparaissent au tableau 4 (voir chromatogrammes ANNEXE 1).

Au total 80 constituants ont été identifiés et ils représentent 98.7% de l'huile essentielle (HE).

I.3. Profil Chromatographique (PC1)

L'analyse par CPG(Ir) de l'huile essentielle nous a permis d'identifier des monoterpènes représentant 56,7% de la composition chimique globale. L'huile essentielle est caractérisée par une forte teneur en monoterpènes oléfiniques majoritairement 52.5% Alors que les monoterpènes oxygénés ne représentent que 4,2 % (Tableau 5).

Les monoterpènes oléfiniques sont représentés par la L' α -pinène (11.6 %) et le limonène (9.5 %). Nous avons ainsi identifié dix oléfines supplémentaires par rapport à celles déjà mises en évidence dans l'huile essentielle. Il s'agit de : trois monoterpènes : le β -caryophyllène et le p-cymène sont respectivement identifiés à 9.5% et 8.1% , - Le sabinène a une teneur de 0.9% , faiblement présent dans l'huile essentielle (0.9%) et des composés ses qui terpéniques (5.0%). L'analyse par CPG(Ir) des fractions oxygénées a conduit à l'identification par consultation de la bibliothèque de spectres « Terpènes » de dix sept composés. La plupart de ces composés sont des monoterpènes de type oxydes. Il s'agit :

□ des oxydes : 1-épi-cubénol, τ -cadinol, τ -muurolool, α -cadinol, α -bisabolol, épi- α -bisabolol

□ **Tableau 5. Composition chimique de l'huile essentielle de Scirpe maritime**

Composé identifié	HDF
Total	99.6
Monoterpènes oléfiniques	52.2
Monoterpènes oxygénés	4.8
Sesquiterpènes oléfiniques	21.3
Sesquiterpènes oxygénés	16
Acides gras	-
Autres	5.3

Les monoterpènes (52.2%) est toujours le composé majoritaire, Donc, il faut noter que l'huile essentielle de notre espèce est de type chémotype oléfinique

I.4. Évaluation de l'activité fongicide de l'huile essentielle de Scirpe maritime :

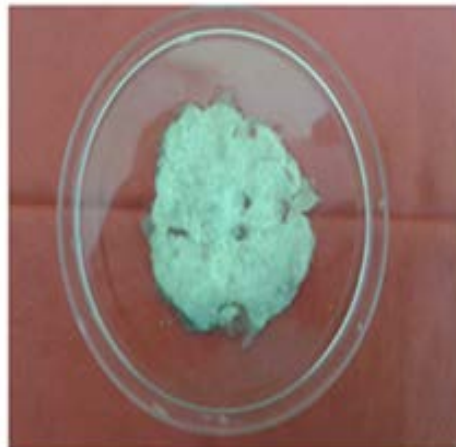
L'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime a été évaluée *in vitro* sur la souche fongique *Fomitiporia mediterranea*, en utilisant le mode d'action, activité volatile.

Il apparaît d'après le tableau 6 que l'huile essentielle utilisée s'est révélée active sur le champignon testé. La réaction s'est manifestée d'une manière observable très claire par l'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène fongique, dès les premiers jours d'incubation. Après 5 jours d'incubation, une action inhibitrice nette exercée par l'antagoniste sur la croissance mycélienne de pathogène a été observée par l'apparition d'une zone d'inhibition.

Tableau 6. Résultats des tests du pouvoir antifongique de l'huile essentielle

de *Scirpus maritimus L.* sur la souche fongique *Fomitiporia mediterranea*.

CH \ JOURS		5 jrs				10 jrs				12 – 15 jrs			
		D1	D2	D3	TM	D1	D2	D3	TM	D1	D2	D3	TM
Souche	D(mm)	22,5	27,5	23,75	45	37,5	52,5	31,25	75	41,75	55	44,25	90
	PI %	50	38,89	47,22	0	50	30	58,33	0	58,25	45	55,75	0

Témoin : *Fomitiporia mediterranea*

lecture après 5 jours après de traitement



Lecture après 10 jours de traitement

Figure 16. Pouvoir antifongique de l'huile essentielle à base de Scirpe Maritime représenté par des zones d'inhibition après 5 et 10 jours de traitement de D3 [originale].

D'après la Figure 16 ci-dessous, on note que l'huile essentielle appliquée avec les doses D1 (0,25%) et D3 (0,75%) montrent un effet fongique choc au début de leur applications qui s'affichent avec les taux d'inhibitions suivant respectivement (50% et 48%) pour atteindre une forte toxicité la fin de l'essai uniquement pour la dose (D3). Tandis qu'à la dose D2 (0,50%) a montré une toxicité moyenne de 38,89%, évolue au début de l'application des traitements (5 jours) vers une forte toxicité à la fin du suivi (10 jours).

Le Témoin (D0) présente une croissance mycélienne proche de 100% ($95 < PI < 100\%$) (Effet neutre).

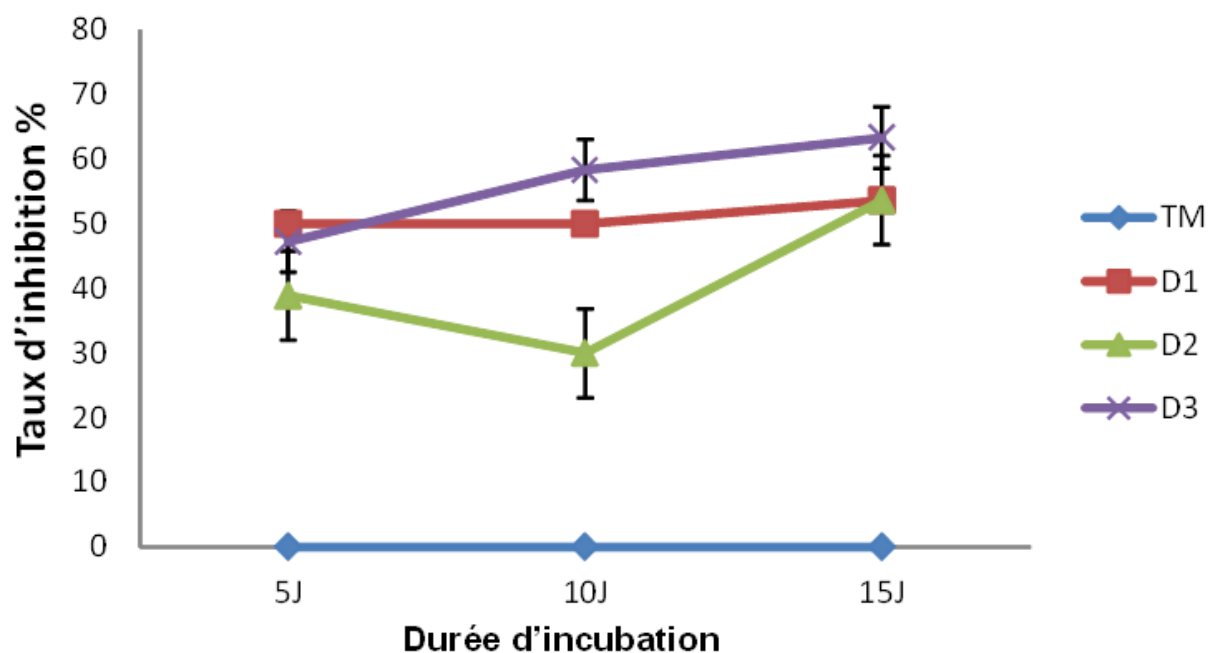


Figure 17 . Evaluation temporelle du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de Scirpe maritime sur *Fomitiporia mediterranea*

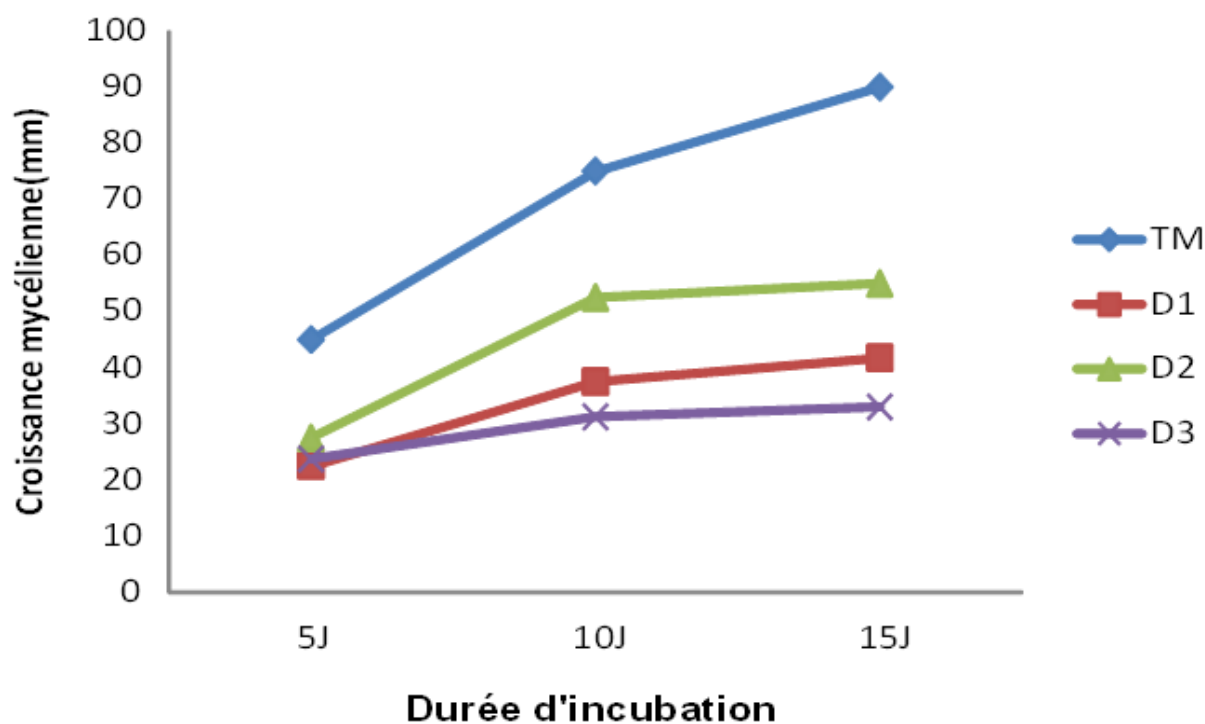


Figure18. La croissance mycélienne de la souche fongique après traitement

La croissance mycélienne de la souche étudiée traité par des différentes doses de l'huile essentielle a montré un démarrage similaire à 5 jours ce taux s'accroît dans le temps pour

atteindre son maximum de croissance après 10 jours, ce dernier demeura stable jusqu' la fin du suivie.

L'analyse en composantes principales, effectuée avec le logiciel PAST est satisfaisante pour l'ensemble des paramètres étudiés dans la mesure où plus de 90% de la variance sont exprimés sur les 2 premiers axes.

Ce test traduit l'effet de traitement l'huile essentielle avec Scirpe est exprimé sur les deux axes de l'ACP, que les doses ont un effet comparable sur la souche testée. C.H.A. (classification hiérarchique ascendant) prise à une similarité de (- 12), montre l'existence de trois groupes (voir annexe 1).

L'analyse multi variée sur l'axe 2 (22,64%) indique que l'effet temporel des doses D1, D3 se distingue clairement de la dose D2

L'effet de dose joue un rôle important. Pour la dose D2 enregistre un effet comparable.

La projection sur le premier axe1 (77,36%) montre que D1 et D3 ont un effet semblable sur le champignon par rapport au D2. (figure19)

La projection des vecteurs à travers le deuxième axe montre que les deux doses D1 et D3 sont corrèlent positivement et se corrèlent négativement par rapport au D2. (Figure19)

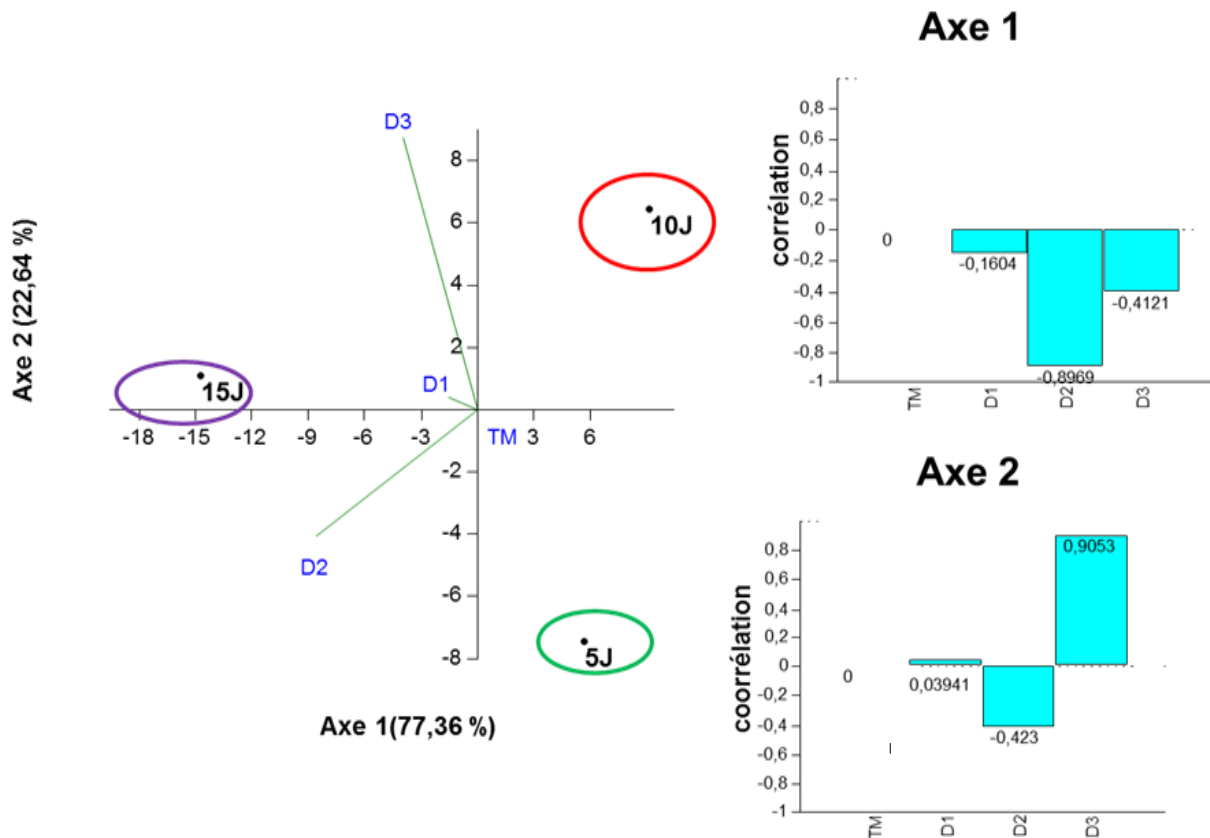


Figure19 : Analyse en composantes principales (A.C.P.) du traitement de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne de la souche fongique en fonction de la durée d'incubation.

I.5 . Effets comparés de l'efficacité de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime sur le champignon :

Nous avons utilisé le modèle général linéaire (G.L.M.) de manière à évaluer le taux d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche *Fomitiporia mediterranea* en fonction des doses de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime . Ce modèle permet d'étudier l'effet strict et individuel des différents facteurs sans faire intervenir les interactions entre les facteurs. La fiabilité des résultats a été démontrée. L'ensemble des résultats d'analyses est consigné dans le tableau 7 et la Figure 20

Tableau 7 : Tableau d'analyse de la variance des différents paramètres étudiés

Facteur	Somme des carrés	ddl	Carrés moyens	F-ratio	P
Durée	284,667	2	142,333	0,768	0,472
Dose	8882,603	3	2960,868	15,975	0,000

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

Le tableau ci-dessus révèle que le facteur doses après traitements révèlent un effet hautement significatif sur la variabilité des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche fongique étudiée avec les valeurs respectives (F-ratio=15.974; $p=0,000$; $p<0,01$), tandis que le facteur les différentes périodes montre un effet non significatif de traitement; F-ratio=0.768; $p=0,472$; $p>0,001$).

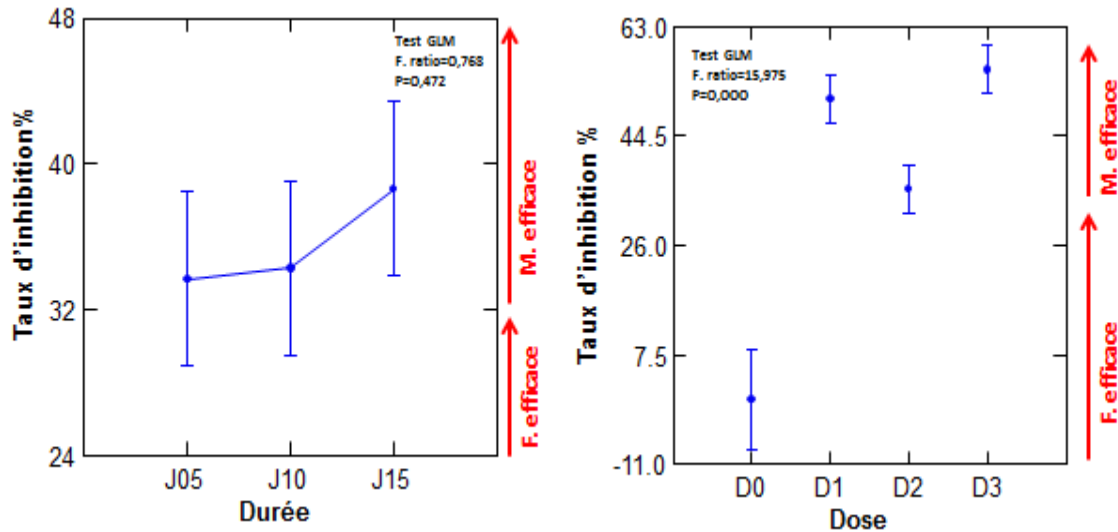


Figure 20. Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche fongique *F. mediterranea* sous l'effet de l'huile essentielle (a : périodes après traitement, b : doses).

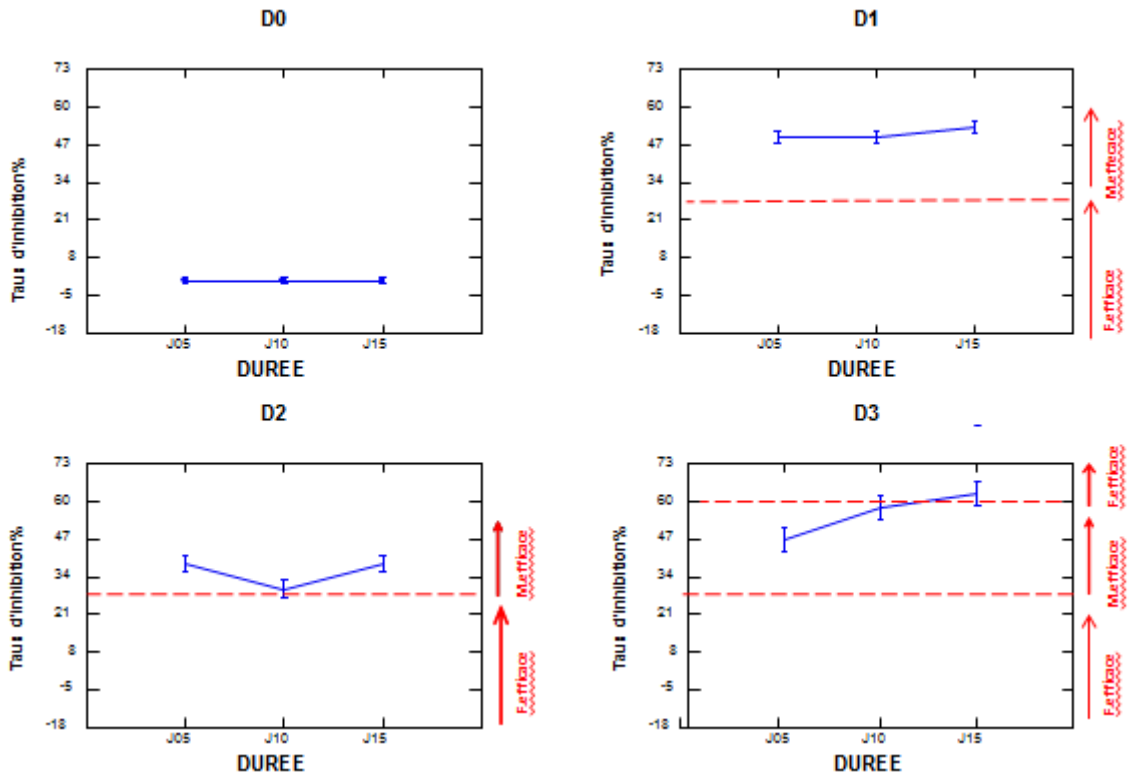


Figure 21. Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche phytopathogène sous l'effet doses

En se basant sur le test de Dunnett, Les résultats de l'effet comparé des différentes doses appliquées lors des traitements (Figure 21) montrent que l'huile essentielle appliquée à la dose D3 (0.75%) , la dose D1 et la dose D3 se révèlent très fortement toxique ($PI > 30\%$) . Le Témoin (D0) présente un taux de croissance mycélienne proche de 100% ($PI = 0\%$) (Effet neutre) (Figure 21).

Les résultats mettent nettement en évidence l'importance du facteur temps sur l'efficacité des différents traitements utilisés. Par suite, ces derniers présentent à 5 jours toxicité moyenne sur la croissance de la souche , deviennent fortement toxiques à 15jours (Figure 21).

DISCUSSION

II. Discussion:

Les plantes sont capables de produire des substances naturelles très variées, en effet, en plus des métabolites primaires classiques (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques), elles synthétisent et accumulent perpétuellement des métabolites secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source immense de molécules pouvant être exploitées dans différents domaines entre autres la phytoprotection (Auger et Thibout, 2002).

Le parcours vers des substances naturelles (extrait des végétaux, huile essentielle..) comme des alternatives aux agents chimiques reste une solution prometteuse. Ces produits font l'objet de plusieurs études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour les traitements insecticides, bactéricides, nématocides et fongicides (Yakhlef, 2010). Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation de certains métabolites issus des plantes afin de mettre au point des méthodes de lutte intégrée, peu onéreuses, efficaces et aisément utilisables par les agriculteurs

Dans cette étude, deux objectifs ont été retenus, le premier concerne l'extraction de l'huile essentielle de Scirpe maritime (*Scirpus maritimus L.*) par hydro distillation suivi par une analyse chromatographique simple et couple (CGP et CGP/SM), le second est d'évaluer de l'efficacité fongicide cette l'huile essentielle vis à vis une souche de champignon incriminé dans le dépérissement de la vigne dite *Fomitiporia mediterranea*

II.1.Evaluation de rendement des huiles essentielles

La technique d'extraction par l'Hydrodistillation est largement utilisée pour produire des huiles essentielles de grande qualité par rapport aux autres méthodes d'extraction (Chiasson, Belauges et al., 2001).

Les rendements obtenus au cours de cette à travers l'extraction par hydro distillation est de l'ordre de (0.30%). Ces résultats sont proches de la bibliographie, généralement les rendements obtenus en huiles essentielles, les différences sont probablement dues à la date de prélèvement, conditions climatiques et géologiques.

Selon (Bousbia, 2004), la grande variabilité de rendement en huile essentielle pourrait s'expliquer par divers facteurs, les conditions climatiques, la période de récolte, la nature de

l'espèce qui peut varier d'une région à une autre, l'emplacement des sites D'HE et les conditions opératoires.

La caractérisation des huiles essentielles et d'ailleurs de tout mélange naturel peut prendre plusieurs aspects en fonction du besoin et de l'objectif assigné. Ainsi, dans la très grande majorité des huiles essentielles, les 15-25 composés majoritaires représentent 80-95% de la composition globale et sont donc suffisants pour caractériser cette huile essentielle. Il faut toutefois signaler que la connaissance des composés minoritaires est parfois un paramètre important de la qualité biologique ou organoleptique du produit et qu'en conséquence une analyse fine est nécessaire. Il faut également signaler qu'une analyse peut être totalement faussée par la mauvaise identification.

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) a montré que cette huile essentielle renferme 80 composés chimiques dont la fraction majoritaire est dominée par des mono terpènes oléfiniques suivis par une fraction minoritaire des mono terpènes oxygénés.

La présence des fractions de terpènes dans nos résultats explique l'efficacité importante de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime. Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont autant de facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques. Chez la *Mentha piperita* par exemple, les nuits froides favorisent la formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celle du menthofuranne (Bruneton, 1999).

II.2. Evaluation de l'activité fongicide de l'huile essentielle à base de scirpe maritime:

Les résultats de cette étude semblent être intéressants et l'huile essentielle étudiée a montré un pouvoir antifongique très important à l'égard de la souche fongique *Fomitiporia mediterranea*.

L'huile essentielle étudiée s'est révélée très toxique dès les premiers 5 jours d'incubation, une toxicité temporelle progressive tout le long du suivi a été enregistrée, le taux d'inhibition s'est accentué au bout de 10 jours pour atteindre son maximum la fin du suivi (à 15 jours). Un effet choc de toxicité a été enregistré avec la première dose (D1), la dose (D3) s'est montrée fortement toxique, tandis que la dose (D2) a aussi montré un effet fongicide qui a chuté à 10 jours, suivi par une nette reprise à 15 jours.

Nous pouvons donc suggérer les hypothèses suivantes :

1-La composition chimique de l'huile essentielle de scirpe maritime assez diversifiée ces substances ont pu atteindre des différentes cibles de la souche fongique.

2- La seconde hypothèse repose sur l'effet toxique des doses .

A travers l'analyse quantitative et qualitative de l'huile essentielle par CPG et par CPG/SM nous pouvons avancer que l'activité fongicide de huile essentielle étudiée est due à la présence des composées chimiques majoritaires (principe actif) et surtout les mono terpènes, ainsi la rapidité de leur effet volatile.

Lucini *et al.* (2006), ont indiqué que l'inhibition de la croissance mycélienne est causée par les monoterpènes présents dans des extraits de plantes. Ces composants vont augmenter la concentration des peroxydes lipidiques tels que les radicaux hydroxyles, l'alcoxy et alkoperoxyl et provoquer ainsi la mort cellulaire. Les composants des extraits agiraient sur les hyphes du mycélium, provoquant la sortie des composants du cytoplasme, la perte de la rigidité et l'intégrité de la paroi cellulaire des hyphes, ce qui entraîne sa désintégration et la mort du mycélium (Sharma et Tripathi,2006).

Les huiles essentielles de ces plantes ont toutes une particularité commune: elles sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous. Reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol est l'ingrédient actif des rince-bouches et l'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires, et dentaires. Ces trois composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries: *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* , *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Clostridium jejuni*, *Lactobacillus sake*, *Staphylococcus aureus* et *Helicobacterpyroli* (Pauli, 2001; Fabian *et al.*, 2006). D'autres familles de composés présentent aussi des propriétés antibactériennes intéressantes: certains alcools, aldéhydes et cétones monoterpéniques (géraniol, linalol, menthol, terpinéol, thujanol, myrcénol, citronellaï, néral,thujone, camphre, carvone, etc.), des phénylpropanes (cinnamaldéhyde) et des monoterpènes (y erpinène, p-cymène). Les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques sont très intéressées par les propriétés de ces composés d'autant plus qu'il s'agit d'aromatisants naturels.

De ce fait, beaucoup de chercheurs à travers le monde étudient leur potentiel en tant qu'agent de conservation (Burt, 2004). La plupart de ces composés sont également de très bons agents antifongiques. Le thymol, le carvacrol, et l'eugénol sont encore ici les composés les plus actifs. Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme

de champignons: *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum*, et bien d'autres (Kalemba et al., 2003)

Les activités antifongiques des hydrolats de cinq épices (romarin, cumin, sarriette, échinophore et basilic) ont été évalués in vitro sur des espèces de champignons phytopathogènes (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum f.sp tulipae*, *Botrytis cinerea* et *Alternaria citri*) par des chercheurs de l'Université de Selcuk en Turquie (Boyras et al., 2005). L'hydrolat de sarriette a montré l'activité antifongique la plus intéressante sur l'ensemble des champignons testés suivi de l'hydrolat d'échinophore (*Echinophora tenuifolia*) puis de cumin (*Cuminum cyminum*).

Dans une seconde étude, ces chercheurs se sont penchés plus précisément sur l'inhibition de la croissance mycélienne des champignons pathogènes (*Alternaria mali* Roberts et *Botrytis cinerea*) en présence de l'huile essentielle et de l'hydrolat de sarriette (Boyras et al., 2006). Étonnamment, l'hydrolat inhibait beaucoup plus fortement la prolifération comparativement à l'huile essentielle. Cela montre bien l'originalité des hydrolats par rapport aux huiles essentielles. Comme précédemment, cette étude suggère que ces hydrolats pourraient être exploités dans certains secteurs comme l'agro-alimentaire ou la cosmétique comme agents antifongiques naturels.

Les composés secondaires des plantes, entre autres, les huiles essentielles, possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches fongiques mais d'une manière générale, leur action se déroule en trois phases : l'attaque de la paroi par l'extrait végétal, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires, l'acidification de l'intérieur de la cellule bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants structuraux et enfin, la destruction du matériel génétique conduisant à la mort du champignon (Dinan et al., 2001).

Les terpènes phénoliques agissent aussi en se fixant sur les groupes amine et hydroxylamine des protéines membranaires microbiennes provoquant l'altération de la perméabilité et la fuite des constituants intracellulaires (Ultee et al., 1999 et Lopez-malo et al., 2005).

D'après nos résultats, nous constatons que l'huile essentielle testée s'est montrée fortement toxique vis-à-vis la souche de champignon étudié. Cette toxicité varie en fonction des doses utilisées, du temps d'exposition et de l'origine de la plante (région).

Toutes les concentrations testées ont montrés une activité fongicides , les D1et D3 ont montre l'effet inibiteur le plus elevé par rapport aux D2.Compareé aux témoin teewin 80 (3%) aucune inhbition n'a été enregistree meme après 10 et 15 jours.

Les résultats obtenus de cette étude indiquent que la concentration la plus élevée de l'huile essentielle à base de Scirpe (D3) inhibe plus efficacement que lorsqu'elles sont diluées. Cette efficacité se traduisant par une sensibilité accrue de la souche testée à l'augmentation des doses. Nos résultats concordent avec ceux de Aouiche(2011) et Bouhidel(2012), qui ont montré que la concentration pure présente le pourcentage d'inhibition le plus important alors que les autres concentrations ont montré une activité modérée.

De ce que nous avons pu avancer comme résultats, la souche fongique a montré une forte sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime.

RÉSUMÉ

Effet fongicide de l'huile essentielle de scirpe maritime (*Scirpus maritimus L.*) à l'égard d'un champignon lignivore (*Fomitiporia mediterranea*) des maladies de la vigne

L'étude a porté en premier lieu sur l'extraction de l'huile essentielle de scirpe maritime collecté de la région d'oum Elbouaghi (Lac de Timerganine) suivie par une étude analytique par CPG et par CPG/SM. En second lieu sur l'estimation du pouvoir antifongique *in vitro*, de l'huile essentielle obtenue sur une souche de champignons phytopathogène (*Fomitiporia mediterranea*) agent causal de dépérissement de la vigne.

L'huile essentielle produite par le scirpe maritime a été extraite par hydrodistillation. La composition chimique de cette huile essentielle a montré la présence au total, 80 composés ont été identifiés. Les mono terpènes oléfiniques (52.5%) a été identifié comme étant les composés majoritaires.

Les analyses liées au pouvoir antifongique ont révélé que l'huile essentielle présente un effet fongicide sur la souche de champignon testée.

Les résultats ont montré que la toxicité du traitement évolue avec l'augmentation de la concentration des doses appliquées d'une part ,avec une progression de pourcentage d'inhibition pour les trois dilutions 50% pour (D1),38,89%pour la dilution (D2) et de 47,22% pour la dilution(D3). Ce taux s'est accentue pendant tout le suivi, une efficacité relativement progressive par rapport au temps (durée après traitement) qui se traduit par une meilleure efficacité d'autre part.

Mots clés : Effet fongicide, Huile essentielle, Scirpe maritime, *Fomitiporia mediterranea* CPG et CPG/SM.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

DÉDICACES

RÉSUMÉ

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
CHAPITRE I : GENERALITE SUR LA VIGNE.....	3
II. .Données générales sur les maladies du bois de la vigne.....	7
CHAPITRE II : DONNÉES GÉNÉRALES SUR LES HUILES ESSENTIELLES ET LA PLANTE UTILISÉE.....	21
II. Présentation des macrophytes.....	26
Introduction.....	26
CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	32
Objectif	32
I. Matériel d'étude.....	32
II. Présentation générale de la région d'étude	33
III.1. Récolte du matériel végétal.....	36
IV. Préparation des doses des huiles essentielles.....	39
V. Application des traitements biologiques	39
VI. Analyse statistique.....	41
CHAPITRE IV : RESULTAT ET DISCUSSION	

I. Résultats et interprétations.....	42
I. Résultats d'extraction de l'huile essentielle.....	42
II. Discussion.....	50
CONCLUSION.....	55
ANNEXES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
TABLES DES MATIERES	

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS

DÉDICACES

RÉSUMÉ

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

REMERCIEMENTS

DÉDICACES

RÉSUMÉ

Summary

الملخص

SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
CHAPITRE I : GENERALITE SUR LA VIGNE.....	3
I.1.origine et historique.....	3
I.2. La viticulture dans le monde.....	3
I.3.La viticulture en algerie.....	4
I.4.Les principaux bio-agresseur de la vigne.....	6
II.1.Donnees generales sur les maladies du bois de la vigne.....	7
II.2.Localisation des champignons de deperissement dans la souche.....	7
II.3L'esca.....	8

II.3.1.Historique de la maladie.....	8
II.3.2.Symptomatologie.....	9
II.3.2.1.Forme lente.....	9
II.3.2.2.Forme foudroyante ou apoplexie.....	11
II.3.3.processus de dégradation du bois.....	12
II.3.4.Champignons associés	13
II.3.4.1. <i>phaeomoniellachlamydospora</i>	13
II.3.4.2. <i>phaeoacremonium aleophilum</i>	14
II.3.4.3. <i>Fomitiporia mediterranea</i>	15
II.3.4.4. <i>Stereumhirsutum</i>	15
II.3.4.5. <i>Botryosphaeriaobtusa, b. Stevensii et n. Parvum</i>	16
II.3.5. Facteurs de développement de la maladie du dépérissement.....	16
II.3.5.1 Conditions climatiques.....	16
II.3.5.2 Cépages.....	16
II.3.5.3 Age de la vigne.....	17
II.3.5.4 Mode de conduite.....	17
II.4. La lutte contre le dépérissement de la vigne.....	17
II.4.1.protection raisonnée contre l'eutypiose.....	18
II.4.1.1.Lutte chimique.....	18
II.4.1.2.Mesure curatives.....	18
II.4.1.3.Lutte génétique.....	19
II.4.1.4.Limiter l'inoculum.....	19

II.4.1.5.Limiter le nombre des plaies de taille.....	19
II.4.1.6. Conduire les souches.....	19
II.4.1.7.Lutte biologique.....	20

CHAPITRE II : DONNÉES GÉNÉRALES SUR LES HUILES ESSENTIELLES ET LA PLANTE UTILISÉE

I.1. Les huiles essentielles.....	21
I.1.1. Définition.....	21
I.1.2. Histoire de leur utilisation.....	21
I.1.3. Localisation.....	21
I.1.4. Composition chimique des H.E.....	22
I.1.5. Les facteurs de variabilité des huiles essentielles.....	22
I.1.6. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	22
I.1.6.1. En thérapeutique.....	22
I.1.6.2. En cosmétologie.....	22
I.1.6.3. En agroalimentaire.....	22
I.1.7. Les méthodes d'extraction.....	23
I.1.7.1. L'extraction par l'entraînement à la vapeur.....	23
I.1.7.2. Hydrodistillation	23
I.1.7.3. Hydrodiffusion	23
I.1.7.4. Extraction par solvant volatil.....	23
I.1.7.5. L'expression.....	24

I.1.7.6. Enfleurage.....	24
I.1.7.7. L'extraction au CO2 supercritique.....	24
I.1.8. Les facteurs à considérer pour la mise en œuvre des procédés d'extraction.....	25
I.1.8.1. La matière végétale.....	25
I.1.8.2. La température.....	25
I.1.8.3. Hydromodule	25
I.1.8.4. Durée d'extraction.....	25
I.1.8.5. La nature du solvant.....	25
II. PRESENTATION DES MACROPHYTES.....	26
Introduction.....	26
II.1. Définition.....	26
II.2. Classification.....	26
II.3. Importance écologique.....	26
II.4. Présentation de la plante : Scirpe maritime (<i>Scirpus maritimus L.</i>).....	27
Introduction.....	27
II.4.1. Systématique.....	27
II.4.2. Répartition.....	27
II.4.3. Caractéristiques botaniques.....	28
CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES	
Objectif	32
I. Matériel d'étude.....	32
I.1. Matériel biologique.....	32

I. 1.1. Présentation de la souche fongique.....	32
I.1.2. Maintien de la souche fongique.....	32
I.1.3. L'espèce végétale.....	33
II. Présentation générale de la région d'étude	33
II.1. Situation géographique et administrative.....	33
II.1.1. Localisation générale.....	33
II.1.2. Etude du climat de la région d'étude.....	34
II.1.2.1. La température	34
II.1.2.2. Les précipitations.....	35
III.1. Récolte du matériel végétal.....	36
III.2. Extraction de l'huile essentielle.....	37
III.2.1. Hydrodistillation.....	37
III.2.1.1. Détermination de rendement en huile essentielle.....	37
III.2.1.2. Méthode d'analyse chromatographique	38
III.2.1.3. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) : +CPG /SM.....	38
III.2.1.3.1. Principe	38
III.2.1.3.2. Conditions d'analyse chromatographique CPG et CPG/SM.....	38
IV. Préparation des doses des huiles essentielles.....	39
V. Application des traitements biologiques	39
VI. Analyse statistique.....	41
 CHAPITRE IV : RESULTAT ET DISCUSSION	
I. RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS.....	42
I. Résultats d'extraction de l'huile essentielle.....	42
I.1. Le rendement en huile essentielle de <i>Scirpus maritimus</i> L.....	42

I.2.La composition chimique de l'Huile essentielle de <i>Scirpus maritimus</i> L.....	42
I.3.Profil Chromatographique (PC1).....	42
I.4. Évaluation de l'activité fongicide de l'huile essentielle de Scirpe maritime.....	43
I.5 . Effets comparés de l'efficacité de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime sur le champignon.....	47
II. Discussion.....	50
II.1.Evaluation de rendement des huiles essentielles.....	50
II.2.Evaluation de l'activité fongicide de l'huile essentielle à base de scirpe maritime.....	51
CONCLUSION.....	55
ANNEXES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

Fig : Figure

h : heure

H : humidité

% : pourcentage

mg : milligramme

µm :micromètre

T : témoin

ml : Millilitre

mm : Millimètre

nm : Nanomètre

Tab : tableau

Inhib : inhibition

CPG-SM : chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

D : Dose de traitement

PI : Pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons testés.

DC : le diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon non traité (mm).

DT : Le diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon traité

CPG : Conditions d'analyse chromatographique

PDA : Potato Dextrose Agar

HE : huile essentielle

OIV : Organisation International de Vin et Vigne

PNDA :Plan National de Développement Agricole

CPG : La chromatographie en phase gazeuse

G.L.M : Modèle Générale Linéaire.

C.H.A : Classification hiérarchique ascendant

CHAPITRE I :

GENERALITE SUR LA
VIGNE

CHAPITRE II
DONNÉES GÉNÉRALES
SUR LES HUILES
ESSENTIELLES ET LA
PLANTE UTILISÉE

CHAPITRE III :
MATÉRIEL ET
MÉTHODES

CHAPITRE IV :
RESULTATS ET
DISCUSSION

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE

EXPERIMENTALE

INTRODUCTION

GENERALE

CONCLUSION
GENERALE

CHAPITRE II

DONNÉES GÉNÉRALES SUR LES HUILES ESSENTIELLES ET LA PLANTE UTILISÉE

I.1. Les huiles essentielles

I.1.1. Définition

Ce sont des produits odorants de composition chimique complexes renfermant des principes actifs volatiles et contenus dans les végétaux. Toutes les parties de la plante peuvent contenir des huiles essentielles dans des vésicules spécialisées (Charpentier et *al.*, 2008).

I.1.2. Histoire de leur utilisation

Reconnues pour leurs puissantes propriétés thérapeutiques et utilisées depuis des millénaires en Chine, en Inde, au Moyen Orient, en Egypte, en Grèce, en Amérique Latine (Aztèques, Mayas, Incas) Il faudra attendre l'arrivée des Arabes pour assister à un nouvel essor de la médecine par les plantes qui retrouvent alors une place de choix dans l'arsenal thérapeutique de l'époque.

I.1.3. Localisation

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles se fait dans des structures histologiques sécrétrices spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante ou dans les tissus végétaux (Bruneton, 1999) :

- Des cellules sécrétrices isolées (Cas des *Lauraceae* ou *Zingiberaceae*)
- Poils sécréteurs des *Lamiaceae*.
- Les poches sécrétrices des *Myrtaceae* ou des *Rutaceae*.
- Les canaux sécréteurs des *Apiaceae* ou des *Asteraceae* (Price et *al.*, 1999).

I.1.4. Composition chimique des H.E

Selon Bakkali et *al.* (2008), Une huile essentielle peut contenir de 20 à 60 éléments biochimiques différents. On peut déterminer sa composition par la chromatographie en phase gazeuse. Les principales composantes sont : Les terpènes et terpénoïdes, constituants aromatiques.

I.1.5. Les facteurs de variabilité des huiles essentielles

Une huile essentielle est très fluctuante dans sa composition selon multiples paramètres, qu'ils soient d'ordre naturel, d'origine intrinsèque (localisation, maturité, origine botanique et chimiotype), soit d'origine extrinsèque liée aux conditions de croissance et de développement de la plante (Sol, climat), ou encore d'origine technologique c'est-à-dire liée au mode d'exploitation du matériel végétal (Bernard et *al.*, 1988).

I.1.6. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

I.1.6.1. En thérapeutique

Les huiles essentielles sont très riches en composés biologiquement actifs (Prabuseenivasan et *al.*, 2006). Ils possèdent des propriétés antibactériennes (Hammer et *al.*, 1999), antifongiques (Sokovic et van Griensven., 2006), antioxydante (Kordali et *al.*, 2005), et insecticides (Yang et *al.*, 2005).

I.1.6.2. En cosmétologie

Les huiles essentielles sont largement utilisées dans la fabrication des produits cosmétiques tel que les parfums, savons, lotions et pommade de soins....etc. (Baydar et *al.*, 2004).

I.1.6.3. En agroalimentaire

Les huiles essentielles peuvent être utilisées comme additifs alimentaires (Deba et *al.*, 2008). Elles sont actuellement employées comme arômes alimentaires, et peuvent servir en même temps comme agents de conservation des aliments grâce à leur effet antimicrobien, et ce d'autant plus qu'elles sont reconnues comme saines (Caillet et Lacroix, 2007).

I.1.7. Les méthodes d'extraction

I.1.7.1. L'extraction par l'entraînement à la vapeur

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal n'est pas en contact direct avec l'eau, il est soumis à l'action d'un courant de vapeur, les principes volatils, peu solubles dans l'eau sont entraînés et après condensation, séparés du distillat par décantation (Auclair, 2002).

L'injection de vapeur, au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées, se fait à la base de l'alambic (Bruneton, 1999).

I.1.7.2. Hydrodistillation

Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide (Bruneton, 1999).

Le condensat d'eau et d'huile essentielle est récupéré dans un erlen meyer puis transféré dans une ampoule à décanter pour la séparation des deux phases (Willem, 2004).

I.1.7.3. Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans ce cas, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau sur les cellules végétales. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » dispersé dans la matière végétal qui s'écouleront vers un collecteur (Caraffa, 1999).

I.1.7.4. Extraction par solvant volatil

Les plantes sont immergées totalement dans le solvant à froid sauf pour les graines, les lichens et les racines où l'extraction est réalisée à chaud dans les solvants classiques. Le temps du contact est d'environ 30 minutes, après quoi le solvant est soutiré et remplacé par une deuxième charge puis une troisième à leur tour soutirées. La plus grande partie du solvant est évaporée et recyclée. On recueille une solution concentrée distillée sous vide. L'évaporation des solvants laisse un résidu cireux très coloré et très aromatique appelé la

concrète. Les solvants les plus utilisés actuellement sont l'hexane, cyclohexane et le pentane (René Revuz, 2009).

I.1.7.5. L'expression

Elle est réservée aux agrumes par suite de la localisation superficielle de l'essence. Il s'agit d'un procédé mécanique dans lequel le fruit entier est placé dans des tambours rotatifs munis de pointes en acier qui déchiquètent le péricarpe. L'huile essentielle est entraînée par l'eau, le mélange est centrifugé et l'on recueille directement une huile essentielle extrêmement naturelle et pure (Willem, 2004).

I.1.7.6. Enfleurage

L'enfleurage convient aux fleurs fragiles, il peut s'effectuer à froid en imprégnant des fleurs fraîches dans de la graisse à froid, cette dernière absorbant ainsi les molécules odorantes. On obtient ainsi une pommade, qui, étant décantée et traitée à l'alcool, entraînera le parfum en le séparant des graisses. L'enfleurage s'effectue également à chaud (la digestion), technique qui consiste à faire fondre dans de grandes marmites au bain-marie de la graisse à laquelle on ajoute les parties de plantes. On peut utiliser cette pommade telle quelle ou la traiter à l'alcool (Duraffourd et Lapraz, 2002).

I.1.7.7. L'extraction au CO₂ supercritique

Le CO₂ sous pression et à température supérieure à 31°C se trouve dans un état "supercritique" intermédiaire entre le gaz et le liquide. Dans cet état, il présente la particularité de dissoudre de nombreux composés organiques et c'est cette même propriété dont les fabricants se servent pour extraire les huiles essentielles.

La matière végétale est chargée dans l'extracteur puis le CO₂ est introduit sous pression et réfrigéré. Le mélange est recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO₂ reprend sa forme gazeuse et est complètement éliminé, il ne reste plus que l'extract végétal. Les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine d'autant que le CO₂ est non toxique, incolore, inodore et ininflammable (Zekovid et al., 2000).

I.1.8. Les facteurs à considérer pour la mise en œuvre des procédés d'extraction.

I.1.8.1. La matière végétale

La composition de la matière végétale peut varier en fonction de plusieurs facteurs tel que le lieu, la période de récolte, et la durée du stockage (Socaci et *al.*, 2008).

I.1.8.2. La température

Le rendement en HE augmente avec l'élévation de la température, en effet, lorsque la température s'élève, la pression de vapeur entraînant les composantes des HE est augmentée. Cependant, lorsque la température d'extraction dépasse une certaine limite (supérieure à 230°C), elle peut conduire à une dégradation de l'HE extraite (Rouatbi et *al.*, 2008).

I.1.8.3. Hydromodule

L'hydromodule doit être en rapport avec la masse végétale car il influence le rendement en huile essentielle. La pharmacopée a établie pour chaque type végétal, les conditions opératoires qui lui conviennent ; ces dernières dépendent de la nature, de la texture et de la richesse en huile essentielle de la plante (Anonyme, 1997).

I.1.8.4. Durée d'extraction

La durée de l'extraction dépend de la qualité et de la quantité des extraits désirée (Zekovid et *al.*, 2000).

I.1.8.5. La nature du solvant

Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité (pouvoir solvant à l'égard des constituants odorants) ; stabilité ; inertie chimique ; température d'ébullition (pas trop élevée pour permettre son élimination totale, pas trop faible pour éviter les pertes et donc une élévation des coûts) ; sécurité de manipulation (si possible non toxique et ininflammable) (Bruneton, 1999).

II. PRESENTATION DES MACROPHYTES

Introduction

La végétation macrophytique est un descripteur intéressant permettant de suivre la qualité de la zone littorale. Ces végétaux intègrent dans leur développement les modifications du milieu et ils sont pour la plus part vivaces fixés au substrat selon Demierre et Durand (1999).

II.1. Définition

Le terme de macrophytes couvre les plantes aquatiques supérieures visibles à l'œil nu par opposition aux microphytes qui comprennent les algues microscopiques (phytoplancton). (Demierre et *al* (1999), in Bounoura, 2008).

II.2. Classification

Différentes classifications des macrophytes sont proposées dans la littérature:

☆ Les macrophytes peuvent être classées par leur appartenance à différents groupes taxinomiques :

- Des Phanérogames (*Ranunculus*, *Potamogeton*)
- Bryophytes (*Fontinalis*, *Cinclidotus*),
- Ptéridophytes (*Azolla*)
- Des algues filamenteuses (*Cladophora*),
- le cas des colonies de cyanobactéries (*Oscillatoria sp.*) étant controversé.

II.3. Importance écologique :

- Organisation des peuplements
- Interactions biotiques
- Les macrophytes, des espèces-ingénieurs
- Les macrophytes espèces bio-indicatrices

II.4. Présentation de la plante : Scirpe maritime (*Scirpus maritimus* L.)

Introduction

Le scirpe maritime (*Scirpus maritimus* L., famille Cypéacée) est une des héliophytes dominantes dans les zones humides méditerranéennes. Elle contribue à la structuration de la végétation et constitue une ressource alimentaire importante pour la faune sauvage (canards granivores, oies cendrées ou sangliers pour les tubercules) et les herbivores domestiques. Les individus de scirpe maritime présentent une forte capacité de croissance clonale par la production de rhizomes et tubercules.

II.4.1. Systématique ; d'après (Palla, 1905)

Embranchement	Phanérogames
S/Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	<i>Cyperales</i>
Famille	<i>Cyperaceae</i>
Genre	<i>Scirpus</i>
Espèce	<i>Scirpus maritimus</i> L.
Nom commun	Scirpe maritime

II.4.2. Répartition :

Actuellement, sa répartition est mal connue, morcelée et très localisée. On la trouve de l'Ouest de l'Europe jusque dans l'Ouest de la Russie suivant une répartition largement méridionale. Elle est citée jusqu'à l'intérieur des terres en Espagne, dans les Balkans (Croatie, Slovénie), en Turquie et en Arménie, ainsi qu'en Russie méridionale (Askew, 1988). En revanche, il semble que l'espèce ait disparu du Maroc (Jacquemin et Boudot, 1999).

En France, l'espèce est très localisée et sa population est fluctuante. Les citations pour les secteurs de Lyon, du Piémont et de Romagne seraient erronées (Selys-Longchamps, 1850 *in* Gelin, 1920). Les observations en Poitou (actuel canton de Pouzauges en Vendée) ont également été contestées (Gelin, 1920). Pour le Sud de la France, elle est entre autres signalée en Camargue sur le domaine de la Tour du Valat, dans le Vaucluse (Coffin, 1989) et les Bouches-du-Rhône (Bence, 1989).

II.4.3. Caractéristiques botaniques

Le Scirpe maritime est une macrophyte de la famille des Cypéracées formant de denses regroupements monospécifiques dans les marais saumâtres peu profonds (Liefers et *al.* 2000). Cette plante pérenne produit des inflorescences (i.e. reproduction sexuée) produisant des akènes pouvant rester en dormance plusieurs années (Clevering, 1995), permettant ainsi le développement de plantules dans un nouvel environnement.

Pourtant la grande particularité du Scirpe maritime est de pouvoir se multiplier de manière végétative (i.e. propagation clonale) via un réseau très complexe de rhizomes et de tubercules (Fig. 8) (Charpentier, 1998), permettant une rapide colonisation des plants nouvellement établis (concept de "foraging strategy", voire de Kroon et Hutchings 1995).

Les rhizomes et les tubercules assurent principalement l'ancrage de la plante dans le substrat, la protection face aux perturbations, la mise en réserve de produits issus de la photo assimilation et dans une moindre mesure, la multiplication et la propagation (Grace 1993).

Ces différentes fonctions font de ces organes des composantes d'une importance capitale dans ce mode de propagation. Les ramets formés au cours d'une saison de croissance sont interconnectés par des rhizomes qui persistent plusieurs années dans le sol. Cependant, il semblerait que ces rhizomes ne soient plus physiologiquement fonctionnels après la saison de croissance pendant laquelle ils ont été formés (Zakravsky et I-Iroudova 1994).

La partie photosynthétique des ramets est active pour une saison de croissance seulement et commence à entrer en sénescence à la fin juillet (Whigham et Simpson 1978, Podlejski 1981).

Seules les parties souterraines (i.e. les tubercules et les rhizomes) persistent l'hiver sur plusieurs années. Si le milieu n'est pas perturbé et est exclu d'herbivores, après quelques

années, le genet est donc majoritairement constitué de tubercules connectés entre eux par des rhizomes (Hroudova et Zakravsky 1995). Les parties épigées visibles lors de la période de croissance ne sont alors que la "partie émergée de l'iceberg".

Les premiers ramets issus directement du démarrage végétatif des tubercules hivernants portent généralement une inflorescence (Liefers et Shay 1981). Ces ramets émettent de 1 à 3 rhizomes le long desquels plusieurs ramets végétatifs (i.e. sans inflorescence) peuvent être successivement formés, produisant à leur tour 1 à 3 rhizomes (Fig. 8).

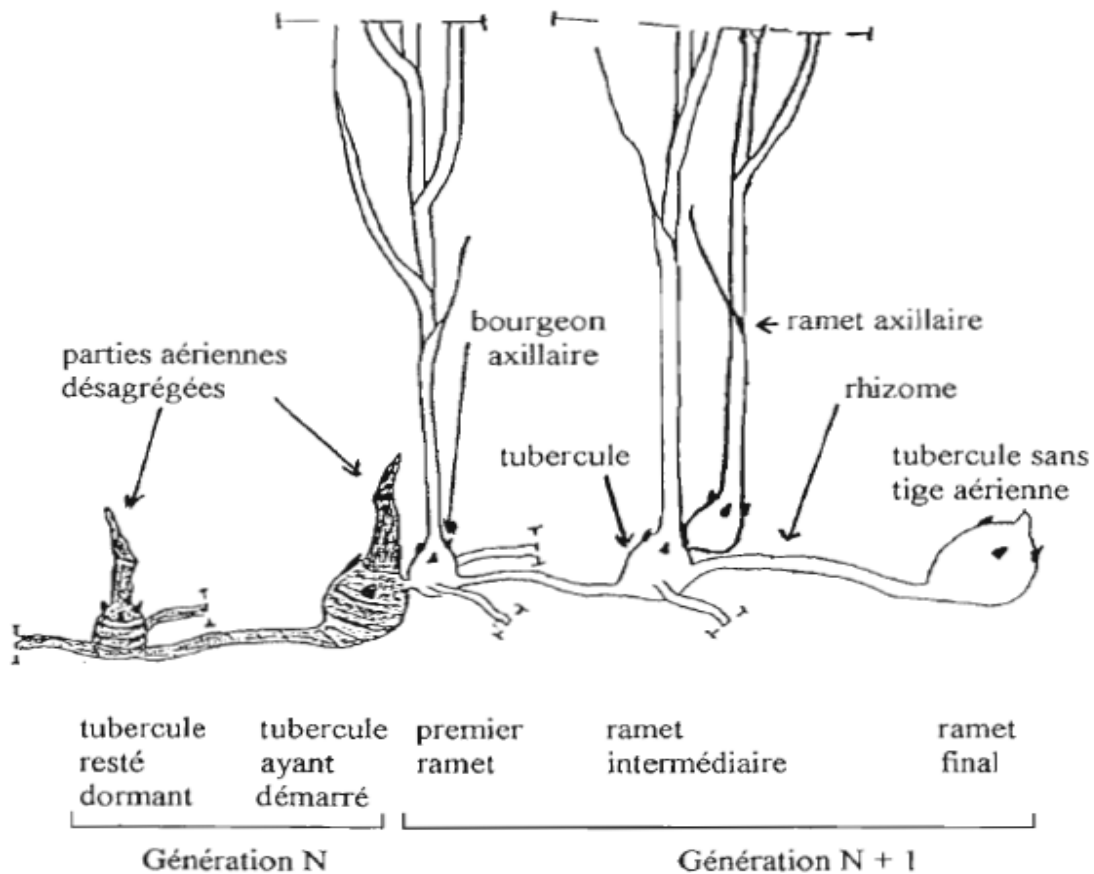


Figure.8 : Représentation schématique de la croissance clonale chez *Scirpus maritimus* L., témoignant de l'importante variabilité morphologique des ramets (Charpentier, 1998).

Les rhizomes se terminent généralement par un tubercule dépourvu de partie aérienne (Zakravsky et Hroudova 1994). Ces observations impliquent l'existence d'une importante

variabilité fonctionnelle entre les ramets (Fig. 9) qui semble être programmée dans le développement du genet.

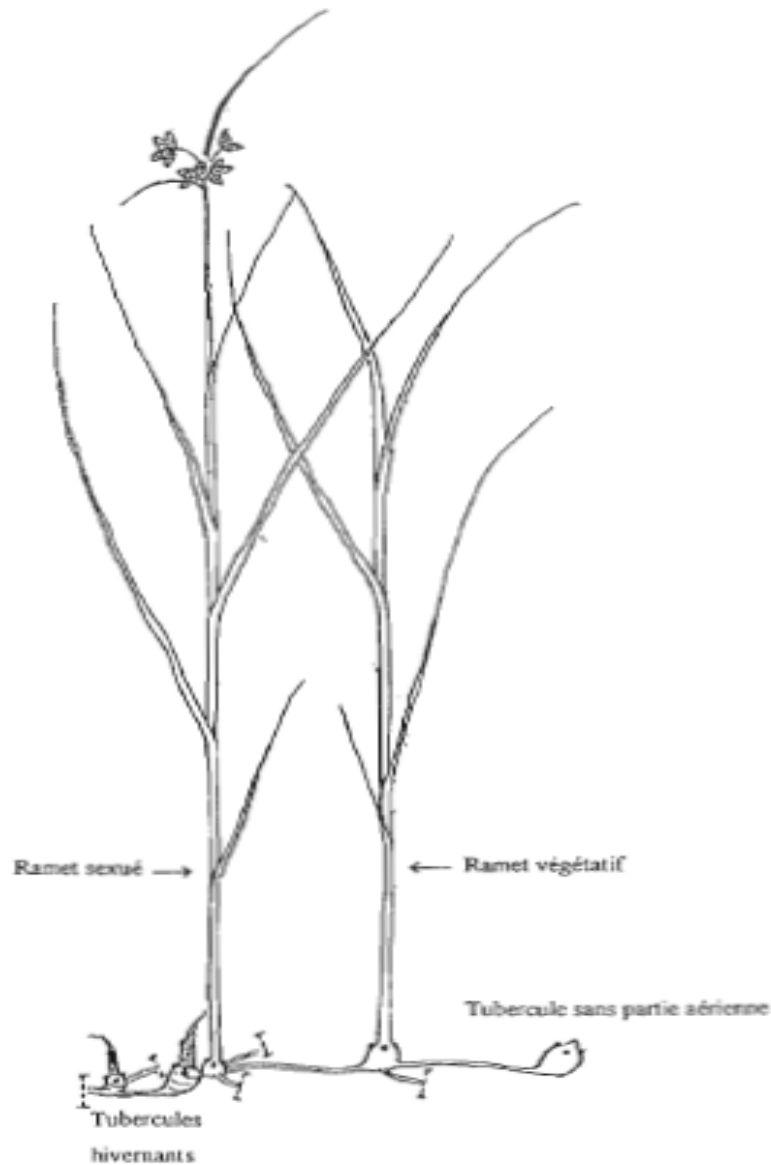


Figure. 9 :Représentation d'un fragment de clone de *Scirpus maritimus* L. (Charpentier 1998).

En outre, Clevering (1995) a mis en évidence une grande variabilité morphologique des 4 tubercules. En effet, les tubercules placés à l'extrémité apicale des ribosomes sont plus gros que ceux placés en position basale (Fig. 8).

Le fonctionnement clonal de *Scirpus maritimus* L. se caractérise donc à la fois par l'existence de connexions physiologiques entre les ramets mais aussi par une importante variabilité morphologique et fonctionnelle de ceux-ci.

Le Scirpe maritime est une espèce tolérante à la salinité et aux eaux assez profondes (Dodd et Coupland 1966, Ungar 1970, Walker et Coupland 1970, Stewall et Kantrud 1972, Ungar 1974, Millar 1976).

Ceci ne veut pas dire pour autant que ces facteurs abiotiques n'aient aucun impact sur la dynamique et la production de *Scirpus maritimus* L. dont l'optimum semble être atteint pour une hauteur d'eau de 5-20 cm (Liefers et Shay 1981) et pour une salinité comprise entre 0-10 ‰ (Lillebø et al. 2003). Liefers et Shay (1981, 1982b) ont montré que dans des conditions trop peu salines, *Scirpus maritimus* L. pouvait être éliminé par des espèces compétitrices d'eau douce telle que *Scirpus lacustris*. Au contraire, dans des milieux secs et très salés, les tubercules développent de courtes tiges qui ne fleurissent généralement pas.

Dans des eaux peu profondes et de salinité moins élevée, les tiges sont plus grosses et leur densité ainsi que les biomasses aérienne et souterraine atteignent leur maximum. Les bourgeons floraux apparaissent aussi plus rapidement. Lorsque la profondeur de l'eau dépasse 30-40 cm et que la salinité est faible, la biomasse souterraine diminue, attestant la pelée de réserves contenues dans les tubercules et nécessaires à la croissance des tiges pour se maintenir hors de l'eau.



Figure.10 : *Scirpus maritimus* L. (Cyperacées) (Palla, 1905)

Introduction générale

La viticulture occupe une place importante dans l'économie mondiale, en créant un dynamisme de la production et de la commercialisation .Elle joue un rôle environnemental dans la préservation des paysages ainsi qu'un rôle culturel, puisqu'elle contribue au rayonnement et à la promotion de la gastronomie à travers le monde.

L'Algérie compte parmi les nombreux pays qui réservent à cette culture un intérêt particulier par la mise en place depuis l'indépendance d'un certain nombre de programme de développement agricole. L'évaluation de la mise en œuvre du PNDA (Programme National de développement Agricole) entrepris entre 2000-2009 a montré l'importance accordée à ce secteur.(COMMUNICATION PERSONNELLE).

Toute fois le problème des maladies affectant la vigne peuvent être d'origine fongique, virale ou bactérienne. Ces organismes attaquent toutes les parties de la plante et génèrent des symptômes très variés causant des dégâts sur les cultures et par conséquent des pertes agricoles. Parmi les maladies fongiques les plus redoutables de cette plante, nous citons le Mildiou, l'Oïdium et la pourriture grise , néanmoins les maladies de dépérissement s'avèrent encore plus dommageables, puisqu'elles s'attaquent à la charpente de la souche dont elles provoquent la mort à plus ou moins court terme (Larignon ,2004). Parmi les maladies causant le dépérissement du bois sont essentiellement: l'Eutypiose.Esca.Black dead arm ou BDA

Le contrôle de ces maladies des plantes se doit d'être efficace en utilisant des méthodes de lutte conventionnelles représentées par les méthodes physiques, chimiques, génétiques et biologiques. Toutefois le problème des maladies reste un facteur limitant des objectifs tracés à travers tous les programmes de développement.

La difficulté à proposer des méthodes de lutte à court terme, est liée à une mauvaise connaissance de maladies du bois vu leurs complexités, mettant en jeu plusieurs champignons, et à la durée des expérimentations trop longues pour révéler leurs efficacités (Larignon ,2009).

Toutefois, les connaissances de ces maladies du bois et de leurs épidémiologie ont énormément progressés, ce qui va nous rappeler l'étendue du chemin qu'il reste à parcourir à

la recherche, pour trouver les moyens de luttés efficaces contre ces maladies, notre travail s'inscrit dans ce cadre et a pour objectif :

L'étude de l'effet fongicide de l'huile essentielle issue d'une espèce appartenant aux Macrophytes, l'huile essentielle est obtenue (feuilles et fruits) par hydro distillation avec les différentes concentrations sont testés *in vitro* à l'égard d'une souche fongique incriminée dans le dépérissement de la vigne *Fomitiporia mediterranea*.

A travers notre démarche scientifique, nous cherchons à répondre aux hypothèses suivantes :

- ✓ Quelle est le profil chimique de l'huile essentielle de Scirpe maritime ?
- ✓ L'huile essentielle étudiée présente-t-elle une activité fongicide *in vitro* sur le champignon phytopathogène étudié ?

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Objectif :

La présente étude a pour objet d'évaluer l'effet de bio contrôle des molécules végétales sur un champignon lignivore, elle comprend trois parties essentielles :

- Extraction de l'huile essentielle à partir d'une espèce végétale Scirpe maritime (*Scirpus maritimus L.*) par hydrodistillation
- Etude de la composition chimique de l'huile essentielle obtenue par chromatographie phase gazeuse (CPG et CG /SM)
- Une étude du pouvoir fongicide de huile essentielle de scirpe maritime vis-à-vis une souche fongique responsable de dépérissement de la vigne *Fomitiporia mediterranea*.

I. Matériel d'étude

I.1. Matériel biologique

I. 1.1. Présentation de la souche fongique

La souche fongique utilisée dans cette étude a été fournie par Mme Ammad de sa collection des organismes phytopathogènes du Laboratoire de Phytopathologie, Département d'Agronomie université de Blida

I.1.2. Maintien de la souche fongique

La souche fongique (Figure11) a été entretenue par repiquage sur le milieu nutritif PDA (Potato Dextrose Agar) à pH=6,5-7 [(Johnston, et Booth C. 1983) (Annexe)], favorable à leur croissance. Les milieux de culture sont stérilisés à l'autoclave (20 min à 115°C) et refroidis au bain Marie à 45°C puis coulés sous forme d'une couche plus ou moins épaisse en boîte de pétri de 9 cm de diamètre. La culture et croissance se fait à l'incubateur à une température de 27°C à l'obscurité. La période de croissance varie de 3 à 7 jours au maximum pour le champignon.



Figure11: Culture de *Fomitiporia mediterranea*

I.1.3. L'espèce végétale

Le Scirpe maritime est une macrophyte de la famille des Cypéracées formant de denses regroupements monospécifiques dans les marais saumâtres peu profonds (Charpentier *et al.* 2000).

Nous avons testé l'efficacité fongicide d'une huile essentielle d'une plante choisie, par sélection, une plante appartenant à une famille des Cypéracées, récolté de la région de Oum el Bouaghi (Le Lac de Timerganine)

II. Présentation générale de la région d'étude :

II.1. Situation géographique et administrative

II.1.1. Localisation générale :

Selon Houhamdi *et al.* (2009) le complexe des zones humides des hautes plaines de l'Est algérien (Figure12) et s'étend sur près de 300 km de l'Est à l'Ouest et compte quinze plans d'eau (chotts, sebkhas et garaets) dont la plupart ont un statut de site Ramsar. Le Lac de Timerganine (c'est une série de petite smares d'eau interconnectées) qui fait partie de ce complexe représente l'unique plan d'eau douce de la région.

Le site est situé à 4 kilomètres au sud de la commune de Aïn Zitoune et à 33 Km de la ville de Oum El Bouaghi, chef -lieu de wilaya. On y accède par la route menant d'Oum El Bouaghi vers Khenchela. Sur le plan administratif, il fait partie du territoire de la commune Aïn Zitoune, de la daïra et de la wilaya d'Oum El Bouaghi.

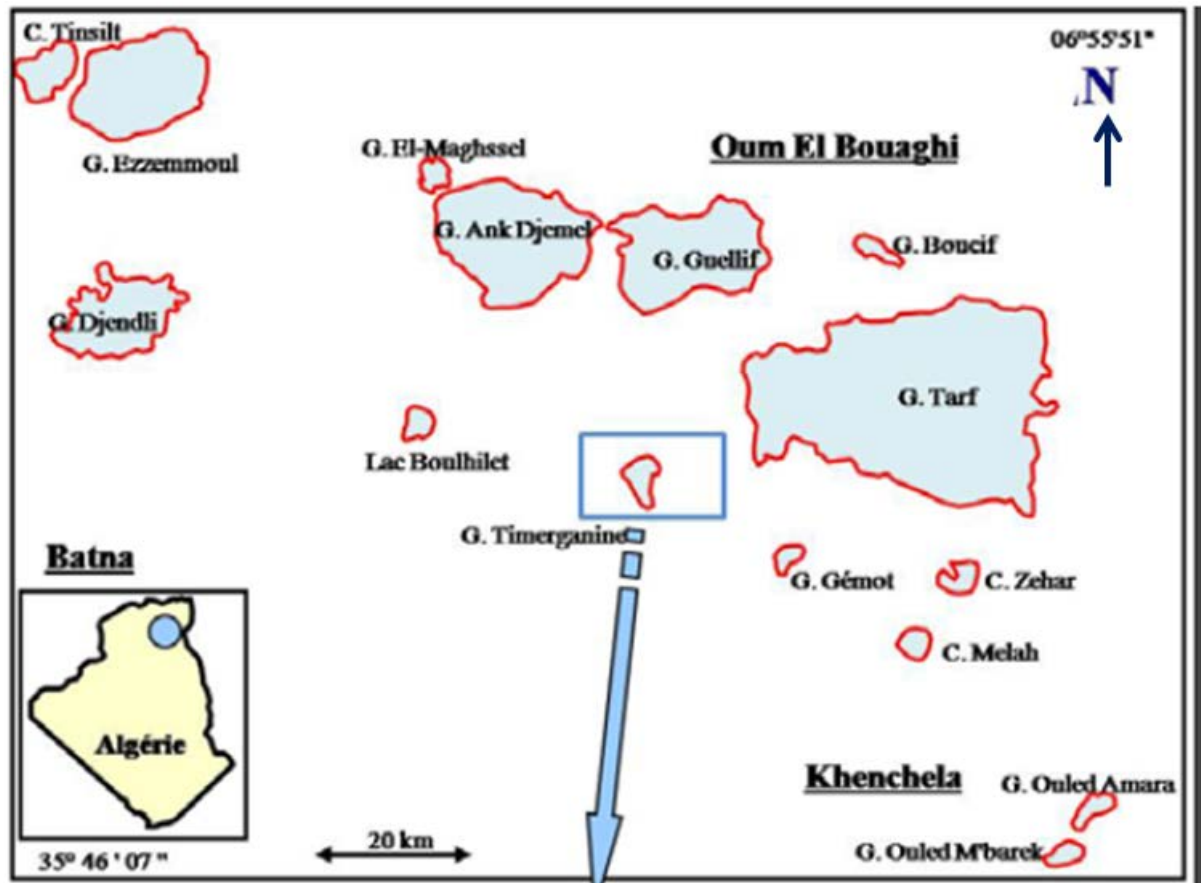


Figure12: Situation géographique du Lac de Timerganine

dans les zones humides des hautes plaines de l'Est l'Algérie Houhamdi *et al.* (2009)

II.1.2. Etude du climat de la région d'étude

Les zones humides, dépendantes du bilan d'eau, reflètent, en première approche, l'évolution des paramètres du climat.

II.1.2.1. La température

Selon (Ramade ;2003) la température représente un facteur limitant de toute première importance car elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionne de ce fait la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'être vivants dans la biosphère.

- le mois le plus chaud est le mois de juillet, avec une valeur de température maximale moyenne de (30.8 °c)

- le mois le plus froid est le mois de janvier, avec une température minimale de (11.4 °c).Le Scirpe est adapté avec la température de la zone étudiée.

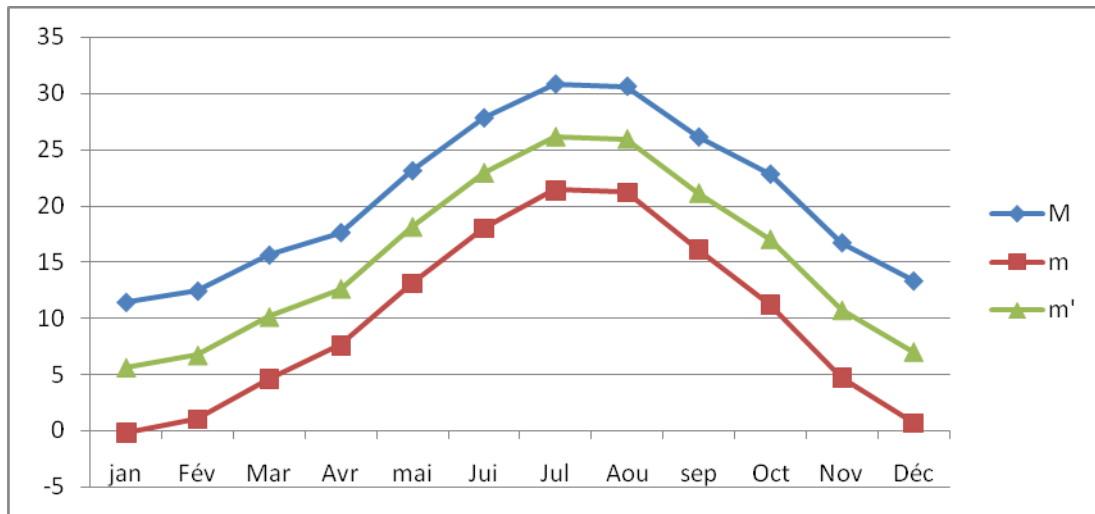


Figure13 : Température moyenne mensuelle (1988-2008) Source (station météorologique d'Oum El Bouaghi)

M : température maximale

m : température minimale

m' : température moyenne

II.1.2.2. Les précipitations

La pluviométrie augmente au fur et à mesure qu'on s'élève en altitude, les versants nord sont plus pluvieux que les versants sud (SELTZER; 1946) in (BENISSAAD; 1992).

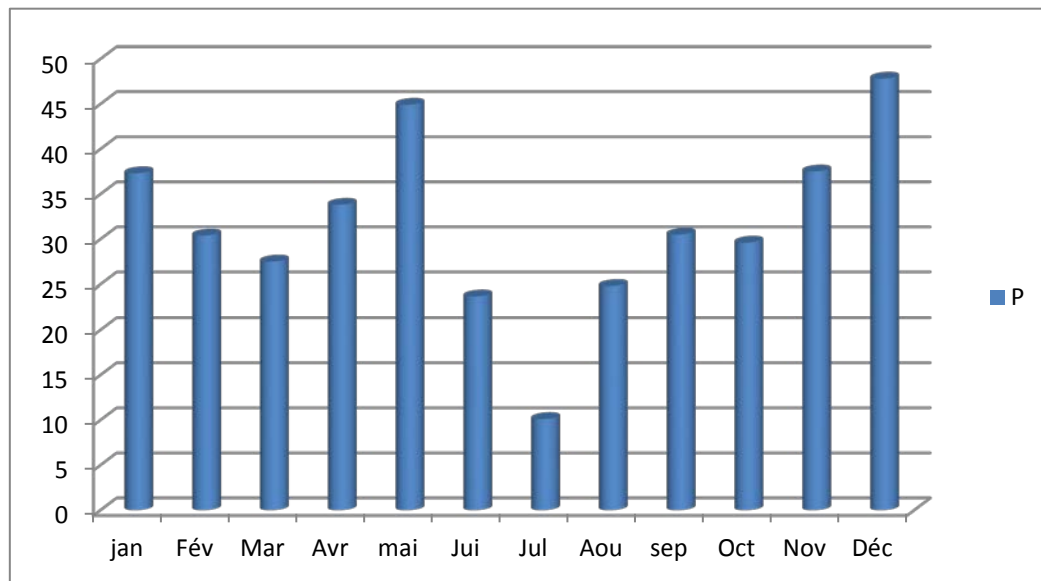


Figure14 : Variation mensuelle de la hauteur des pluies au niveau de la station d'OEB

(Source station météorologique Oum el Bouaghi,2012)

La zone d'étude est située dans l'étage bioclimatique semi-aride, sous-étage inférieur, variante à hiver froid. La température moyenne annuelle est de 15,3°C, et une période sèche de cinq mois.

La pluviométrie est très irrégulière. En Automne les pluies sont orageuses et parfois catastrophiques et donnent naissance à des crues dévastatrices alors qu'en hiver elles sont, en général, persistantes et favorisent l'infiltration. Durant les saisons pluvieuses, le sol acquiert suffisamment de réserves en eau pour permettre la germination de quelques espèces annuelles.

III.1. Récolte du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude, comprend; Scirpe maritime (*Scirpus maritimus L.*) récoltée la matinée, d'une façon aléatoire au stade floraison durant la période mi Avril et mi Mai 2013.

Les échantillons collectés (les plantes entières) sont mis dans des sachets en plastique stériles et traités le jour même de leur arrachage. Un prélavage du matériel végétal est effectué à l'eau courante du robinet pour le débarrasser des débris. Par la suite, une opération de séparation des parties aériennes (feuilles et fruit) est effectuée.

Les échantillons ont été étalés sur du papier blanc et mis à sécher à l'air libre, à l'abri de lumière et d'humidité et à la température ambiante du laboratoire. Devenus secs, les

échantillons sont pilés dans un mortier en porcelaine désinfecté, puis réduits en poudre fine à l'aide d'un mixeur électrique. La poudre obtenue est récupérée et conservée dans des bouteilles stériles hermétiquement fermées, à température ambiante et à l'abri de la lumière jusqu'à son extraction.

III.2. Extraction de l'huile essentielle :

Cette expérimentation a déroulé au niveau de département de chimie industrielle de Batna

III.2.1.Hydrodistillation

Ce mode a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les huiles essentielles et pouvoir les séparer à l'état pur.

Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'huile essentielle sera alors séparée par différence de densité (Bruneton, 1993) .

III.2.1.1.Détermination de rendement en huile essentielle :

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le volume de l'huile essentielle et le poids de matière végétale à l'état sec.

Elles sont exprimées en pourcentage par rapport à 100g de matière sèche selon la formule suivante:

$$R = (V/M) \times 100$$

R : production (ou rendement) d'huile essentielle en ml/100g de MS ;

V : volume d'huile essentielle en ml ;

M : poids de la matière végétal exprimé par rapport à la matière sèche.

III.2.1.2. Méthode d'analyse chromatographique :

III.2.1.3. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) : +CPG /SM

Depuis plus trentaine d'années la CPG .s'est développée irrésistiblement .Elle est devenue une méthode de choix pour la séparation d'un mélange complexe de produit volatils. A l'aide de la C.P.G, les mélanges très complexes de substances volatiles peuvent être séparés, identifiés et quantifiés dans un temps relativement bref. (Tranchant, 1983).

III.2.1.3.1. Principe :

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode de séparation des composés gazeux susceptible d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. (Tranchant, 1983). Elle est assez récente et permis de séparer des mélanges de gaz vaporisable à haute température. Le mélange à analyser est injecté dans une colonne métallique de quelques millimètres de diamètre enroulée sur elle-même et contenant la phase stationnaire. Les composés sont véhiculés sous pression par un gaz inerte Il s'agit du gaz vecteur (l'hélium ou l'azote), le temps que met un constituant gazeux pour parcourir la colonne est le temps de rétention, les constituants sont aussi séparés par la différence entre les temps de rétention respectif.

III.2.1.3.2. Conditions d'analyse chromatographique CPG et CPG/SM :

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles en phase gazeuse ont été effectuées au niveau de département de chimie industrielle Blida.

L'identification des composées d'huile essentielle de Scirpe maritime a été faite par un chromatographe de type « Hewlett Packard 6890 »(Figure,16).

Les Conditions de chromatographie sont les suivantes :

- Injection de 1µl en mode Splitess (1/50) ;
- Température de l'injecteur : 250°C ;
- Colonne capillaire HP5MS (30 cm × 0.25 mm × 0.25µm) ;
- Programmation de température : 60°C pendant 4 min ; 4°C/min jusqu'à 230°C pendant 10 min ;
- Débit du gaz vecteur : Hélium (1ml/min).



Figure15: Chromatographe de type « Hewlett Packard 6890 »

IV. Préparation des doses des huiles essentielles

A partir de l'huile essentielle obtenue, nous préparons les doses à tester après dilution dans le tween 80(diluée 3%).

Nous avons utilisé le tween 80 comme témoin à cause de l'absence de l'activité fongicide et comme diluant pour former des microémulsions et donc l'homogénéisation de la solution d'huiles essentielles

Pour ces substances nous avons utilisé les doses suivantes :

- 1^{ère} dose ; 5mg de H E + 95 de Tween (3% diluée).
- 2^{ième} dose ; 10mg de H E + 90 de Tween (3% diluée).
- 3^{ième} dose ; 15mg de H E + 85 de Tween (3% diluée).

Témoin : 100 mg de tween (3% diluée). Pour chaque dose nous avons effectués trois répétitions même pour le témoin.

V. Application des traitements biologiques :

L'activité antifongique de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime vis-à-vis la souche fongique *Fomitiporia mediterranea* a été déterminée par le test d'activité volatile (**Sharma et al ,2006 ;Bajpal et al, 2007 ; Al-Reza et al, 2010**).

Cette méthode consiste à déposer au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu de culture, un disque mycélien issu d'une culture fongique jeune découpé à l'aide d'un emporte-pièces de 8 mm de diamètre. Les disques mycéliens sont récupérés d'une culture âgée d'une semaine pour les souches des différents champignons.

Des disques de papier Wattman de 8 mm de diamètre, préalablement stérilisés à l'autoclave (115°C. pendant 20 min), sont d'abord imprégnés et saturés avec 30 µl de chaque dilution de l'huile essentielle, puis déposés sur le couvercle de la boîte de Pétri retourné, à raison d'un disque imprégné par couvercle (**Inouye et al, 2006 ; Chutia et al, 2009**). Le témoin consiste en des disques imprégnés avec le même volume de tween (3%). Toute les boîtes de pétri ont été recouvert par un parafilm afin d'évité l'évaporation de l'huile essentielle.

La lecture de l'activité antifongique de huile essentielle vis-à-vis une souche de champignon a été enregistrée à travers La croissance radiale exprimée en pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne en utilisant la formule décrite par PANDEY et coll. cette lecture a été effectuée après 5 jours, 10jours et 15 jours.

Selon (**Pandy et al, 1982**) : $PI = DC - DT / DC * 100$

PI : Pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons testés.

DC : le diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon non traité (mm).

DT : Le diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon traité. L'évaluation in vitro du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de Scipre maritime sur une souche fongique *a* provenant de la collection du laboratoire de phytopathologie de l'institut d'agronomie de Blida par un mode de traitement activité volatile. Ce pouvoir est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm)

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Mutai et al., (2009). Ils ont classé les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne en 5 classes :

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30\text{mm}$
- Fortement inhibitrice : $21\text{mm} \leq D \leq 29\text{mm}$
- Modérément inhibitrice : $16\text{mm} \leq D \leq 20\text{mm}$
- Légèrement inhibitrice : $11\text{mm} \leq D \leq 16\text{mm}$

Non inhibitrice : $D < 10\text{mm}$

VI. Analyse statistique

Tous les essais ont été répétés au moins trois fois et trois doses différentes pour chaque champignon, par la suite un calcul des moyennes a été réalisé.

Les résultats recueillis sur les tests du pouvoir antifongique de l'huile essentielle à base de *Scirpus maritimus* L. ont fait l'objet d'analyses statistiques.

Afin de vérifier une éventuelle efficacité de l'huile essentielle vis-à-vis une souche fongique testée, des analyses ont été faites en utilisant la procédure décrite par le SYSTAT vers. 12, SPSS 2009.

Dans les conditions paramétriques et afin de tester les interactions entre les facteurs (dose, compartiment), nous avons alors utilisé le modèle linéaire global (G.L.M.).

Afin de vérifier une éventuelle efficacité de l'huile essentielle vis-à-vis la souche fongique testées, nous avons utilisé la procédure décrite dans PAST vers 1.81 [290]. Les analyses de covariance ont été conduites en considérant les diamètres des zones d'inhibition comme moyennes et les souches à testées comme les variances.

Les corrélations existantes entre l'huile essentielle à base de Scirpe maritime et ses dilutions et la souche fongique sont mises en évidence par une analyse en composantes principales (ACP). Dans ce type de test, Scirpe maritime et ses dilutions ont des coordonnées comprises entre -1 et $+1$ et appartiennent à un cercle de corrélation. L'interprétation de l'ACP se fait à partir de l'examen du cercle des corrélations et de la position du statut des variables sur les axes factoriels [291].

L'hypothèse de l'efficacité antifongique du Scirpe maritime est testée par le modèle de la distance euclidienne à un facteur contrôlé, par utilisation du logiciel PAST – Palaeontological STatistics, ver. 1.8.

CHAPITRE IV : RESULTAT ET DISCUSSION

I. Résultats et interprétations

I. Résultats d'extraction de l'huile essentielle.

I.1. Le rendement en huile essentielle de *Scirpus maritimus* L.

L'huile essentielle a été obtenue par hydro distillation de la plante de *Scirpus maritimus* (L) Récoltée en Lac de Timerganine Le rendement calculé en fonction de la masse de végétal préparé est de 0.31%. Une analyse préliminaire réalisée par CPG et par CPG/SM, cette huile essentielles a mis en évidence l'existence du profil chromatographique (PC1).

I.2. La composition chimique de l'Huile essentielle de *Scirpus maritimus* L.

L'identification des composants de l'essence obtenue par hydrodistillation a été réalisée à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (CPG-SM) et par CPG. Les résultats de notre étude sur la composition chimique de l'huile essentielle apparaissent au tableau 4 (voir chromatogrammes ANNEXE 1).

Au total 80 constituants ont été identifiés et ils représentent 98.7% de l'huile essentielle (HE).

I.3. Profil Chromatographique (PC1)

L'analyse par CPG(Ir) de l'huile essentielle nous a permis d'identifier des monoterpènes représentant 56,7% de la composition chimique globale. L'huile essentielle est caractérisée par une forte teneur en monoterpènes oléfiniques majoritairement 52.5% Alors que les monoterpènes oxygénés ne représentent que 4,2 % (Tableau 5).

Les monoterpènes oléfiniques sont représentés par la L' α -pinène (11.6 %) et le limonène (9.5 %). Nous avons ainsi identifié dix oléfines supplémentaires par rapport à celles déjà mises en évidence dans l'huile essentielle. Il s'agit de : trois monoterpènes : le β -caryophyllène et le p-cymène sont respectivement identifiés à 9.5% et 8.1% , - Le sabinène a une teneur de 0.9% , faiblement présent dans l'huile essentielle (0.9%) et des composés ses qui terpéniques (5.0%). L'analyse par CPG(Ir) des fractions oxygénées a conduit à l'identification par consultation de la bibliothèque de spectres « Terpènes » de dix sept composés. La plupart de ces composés sont des monoterpènes de type oxydes. Il s'agit :

□ des oxydes : 1-épi-cubénol, τ -cadinol, τ -muurolool α -cadinol, α -bisabolol épi- α -bisabolol

□ **Tableau 5. Composition chimique de l'huile essentielle de Scirpe maritime**

Composé identifié	HDF
Total	99.6
Monoterpènes oléfiniques	52.2
Monoterpènes oxygénés	4.8
Sesquiterpènes oléfiniques	21.3
Sesquiterpènes oxygénés	16
Acides gras	-
Autres	5.3

Les monoterpènes (52.2%) est toujours le composé majoritaire, Donc, il faut noter que l'huile essentielle de notre espèce est de type chémotype oléfinique

I.4. Évaluation de l'activité fongicide de l'huile essentielle de Scirpe maritime :

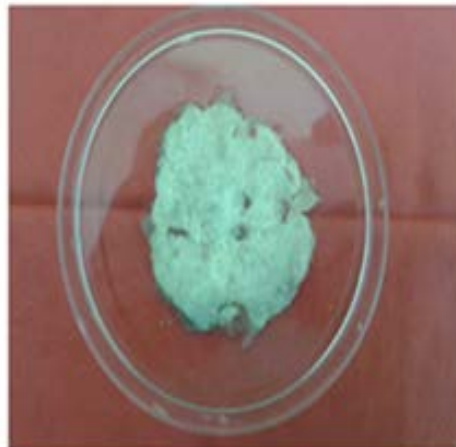
L'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime a été évaluée *in vitro* sur la souche fongique *Fomitiporia mediterranea*, en utilisant le mode d'action, activité volatile.

Il apparaît d'après le tableau 6 que l'huile essentielle utilisée s'est révélée active sur le champignon testé. La réaction s'est manifestée d'une manière observable très claire par l'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène fongique, dès les premiers jours d'incubation. Après 5 jours d'incubation, une action inhibitrice nette exercée par l'antagoniste sur la croissance mycélienne de pathogène a été observée par l'apparition d'une zone d'inhibition.

Tableau 6. Résultats des tests du pouvoir antifongique de l'huile essentielle

de *Scirpus maritimus L.* sur la souche fongique *Fomitiporia mediterranea*.

CH \ JOURS		5 jrs				10 jrs				12 – 15 jrs			
		D1	D2	D3	TM	D1	D2	D3	TM	D1	D2	D3	TM
Souche	D(mm)	22,5	27,5	23,75	45	37,5	52,5	31,25	75	41,75	55	44,25	90
	PI %	50	38,89	47,22	0	50	30	58,33	0	58,25	45	55,75	0

Témoin : *Fomitiporia mediterranea*

lecture après 5 jours après de traitement



Lecture après 10 jours de traitement

Figure 16. Pouvoir antifongique de l'huile essentielle à base de Scirpe Maritime représenté par des zones d'inhibition après 5 et 10 jours de traitement de D3 [originale].

D'après la Figure16 si dessous, on note que l'huile essentielle appliquée avec les doses D1 (0,25%) et D3 (0.75%) montrent un effet fongique choc au début de leur applications qui s'affichent avec les taux d'inhibitions suivant respectivement (50% et 48%) pour atteindre une forte toxicité la fin de l'essai uniquement pour la dose (D3). Tandis qu'à la dose D2 (0,50%) a montré une toxicité moyenne de 38.89% , évolue au début de l'application des traitements (5 jours) vers une forte toxicité à la fin du suivi (10jours).

Le Témoin (D0) présente une croissance mycélienne proche de 100% ($95 < PI < 100\%$) (Effet neutre).

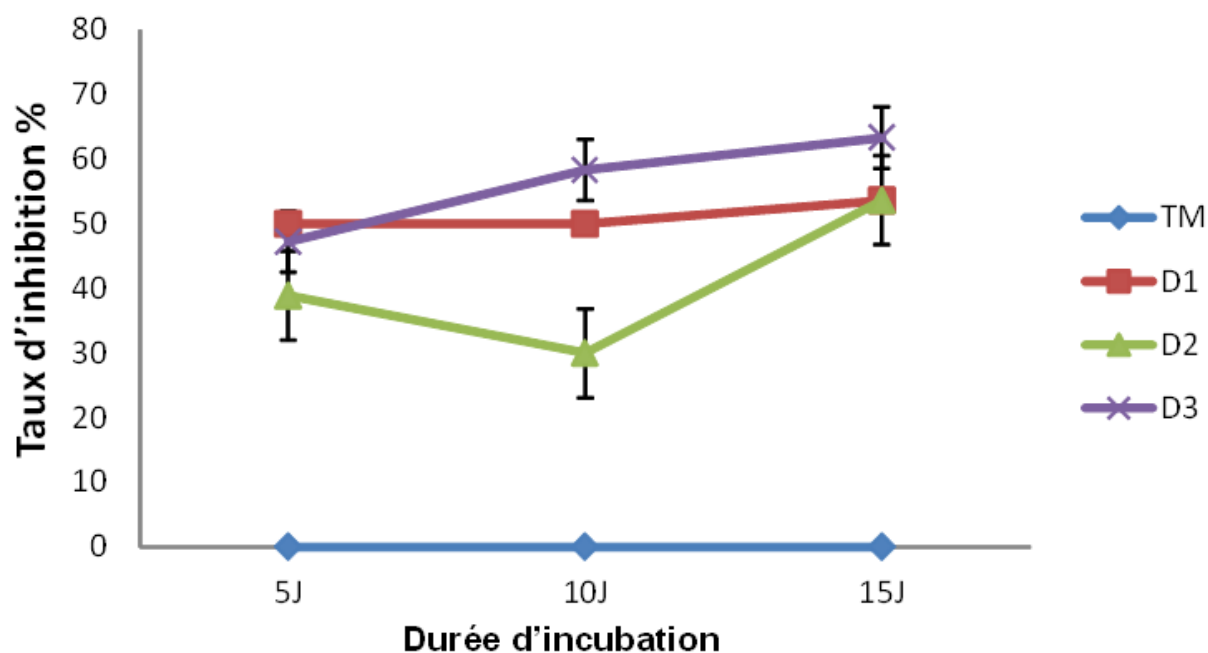


Figure 17 . Evaluation temporelle du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de Scirpe maritime sur *Fomitiporia mediterranea*

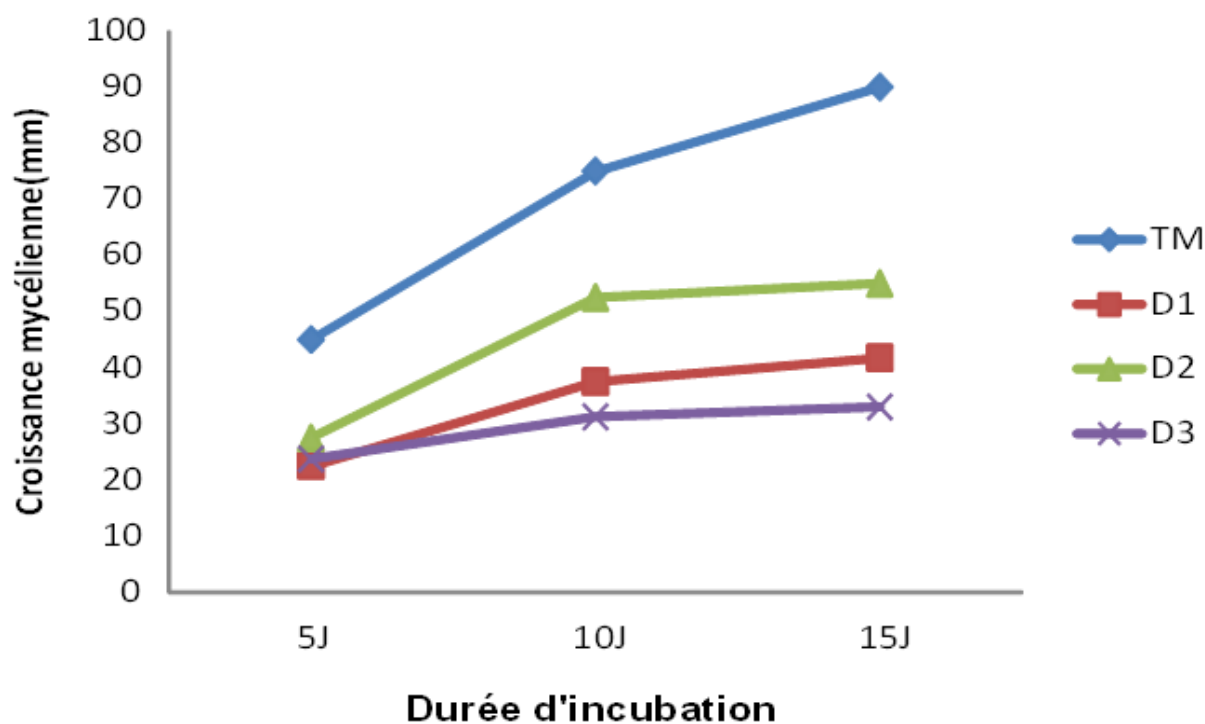


Figure18. La croissance mycélienne de la souche fongique après traitement

La croissance mycélienne de la souche étudiée traité par des différentes doses de l'huile essentielle a montré un démarrage similaire à 5 jours ce taux s'accroît dans le temps pour

atteindre son maximum de croissance après 10 jours, ce dernier demeura stable jusqu' la fin du suivie.

L'analyse en composantes principales, effectuée avec le logiciel PAST est satisfaisante pour l'ensemble des paramètres étudiés dans la mesure où plus de 90% de la variance sont exprimés sur les 2 premiers axes.

Ce test traduit l'effet de traitement l'huile essentielle avec Scirpe est exprimé sur les deux axes de l'ACP, que les doses ont un effet comparable sur la souche testée. C.H.A. (classification hiérarchique ascendant) prise à une similarité de (- 12), montre l'existence de trois groupes (voir annexe 1).

L'analyse multi variée sur l'axe 2 (22,64%) indique que l'effet temporel des doses D1, D3 se distingue clairement de la dose D2

L'effet de dose joue un rôle important. Pour la dose D2 enregistre un effet comparable.

La projection sur le premier axe1 (77,36%) montre que D1 et D3 ont un effet semblable sur le champignon par rapport au D2. (figure19)

La projection des vecteurs à travers le deuxième axe montre que les deux doses D1 et D3 sont corrèlent positivement et se corrèlent négativement par rapport au D2. (Figure19)

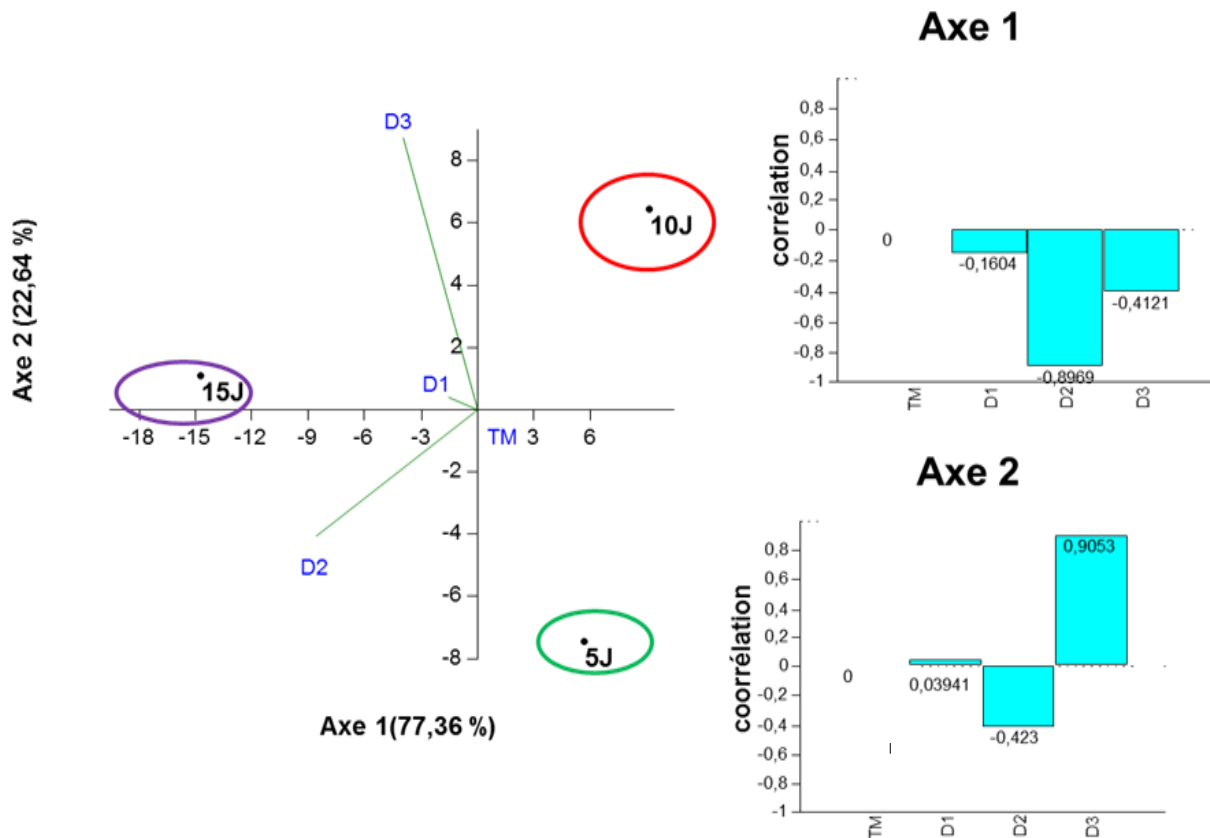


Figure19 : Analyse en composantes principales (A.C.P.) du traitement de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne de la souche fongique en fonction de la durée d'incubation.

I.5 . Effets comparés de l'efficacité de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime sur le champignon :

Nous avons utilisé le modèle général linéaire (G.L.M.) de manière à évaluer le taux d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche *Fomitiporia mediterranea* en fonction des doses de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime . Ce modèle permet d'étudier l'effet strict et individuel des différents facteurs sans faire intervenir les interactions entre les facteurs. La fiabilité des résultats a été démontrée. L'ensemble des résultats d'analyses est consigné dans le tableau 7 et la Figure 20

Tableau 7 : Tableau d'analyse de la variance des différents paramètres étudiés

Facteur	Somme des carrés	ddl	Carrés moyens	F-ratio	P
Durée	284,667	2	142,333	0,768	0,472
Dose	8882,603	3	2960,868	15,975	0,000

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

Le tableau ci-dessus révèle que le facteur doses après traitements révèlent un effet hautement significatif sur la variabilité des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche fongique étudiée avec les valeurs respectives (F-ratio=15.974; $p=0,000$; $p<0,01$), tandis que le facteur les différentes périodes montre un effet non significatif de traitement; F-ratio=0.768; $p=0,472$; $p>0,001$).

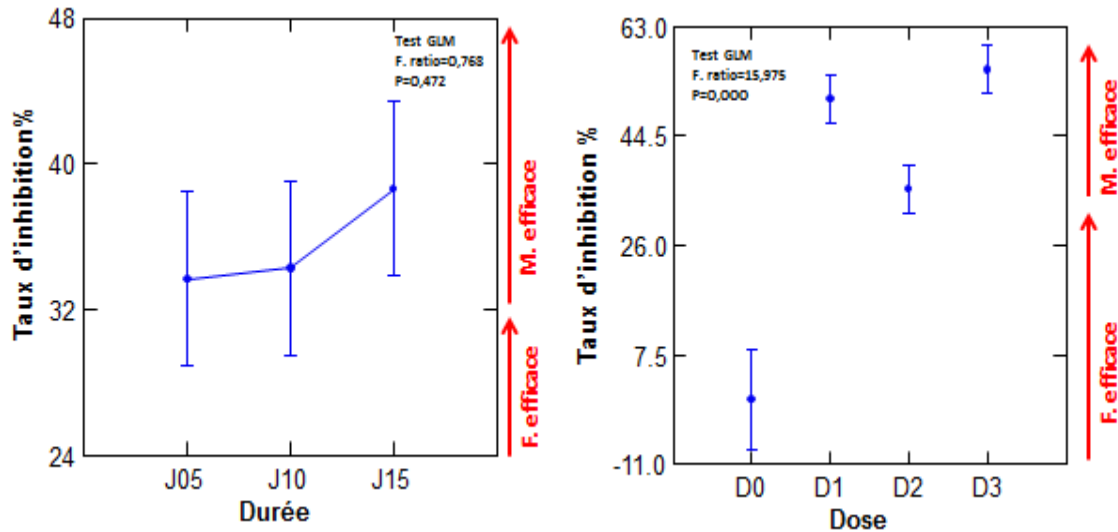


Figure 20. Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche fongique *F.mediterranea* sous l'effet de l'huile essentielle (a : périodes après traitement, b : doses) .

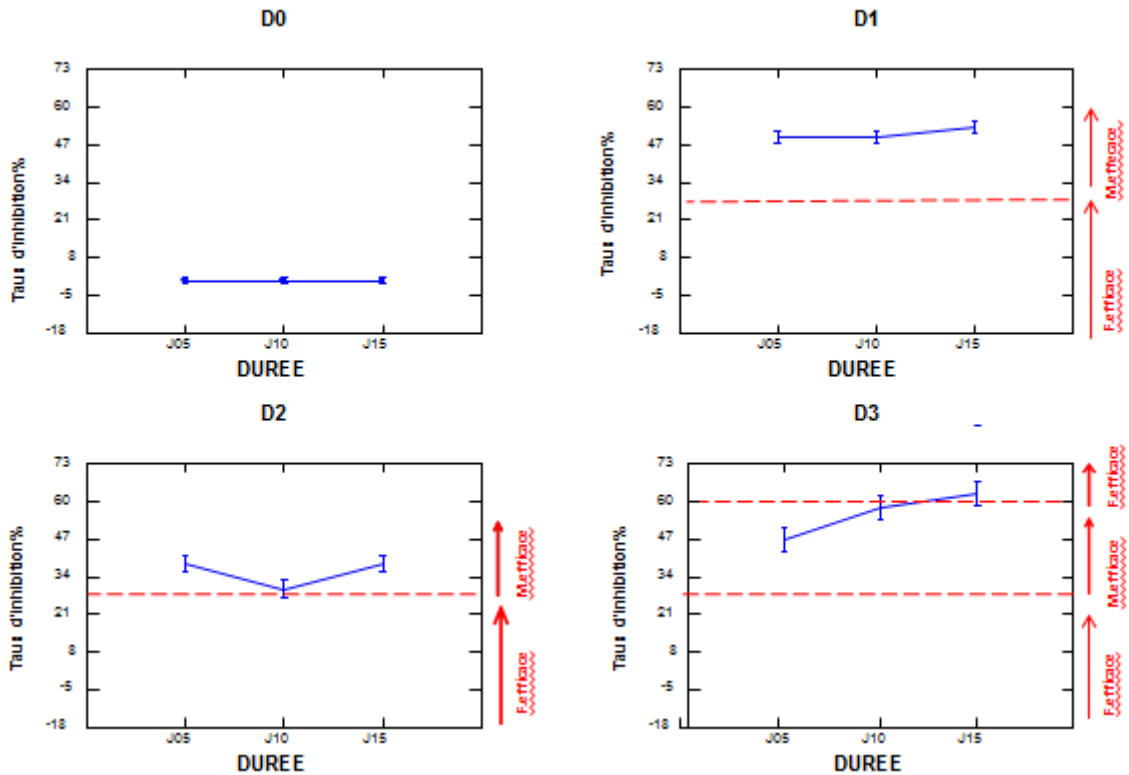


Figure 21. Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche phytopathogène sous l'effet doses

En se basant sur le test de Dunnett, Les résultats de l'effet comparé des différentes doses appliquées lors des traitements (Figure 21) montrent que l'huile essentielle appliquée à la dose D3 (0.75%) , la dose D1 et la dose D3 se révèlent très fortement toxique ($PI > 30\%$) . Le Témoin (D0) présente un taux de croissance mycélienne proche de 100% ($PI = 0\%$) (Effet neutre) (Figure 21).

Les résultats mettent nettement en évidence l'importance du facteur temps sur l'efficacité des différents traitements utilisés. Par suite, ces derniers présentent à 5 jours toxicité moyenne sur la croissance de la souche , deviennent fortement toxiques à 15jours (Figure 21).

DISCUSSION

II. Discussion:

Les plantes sont capables de produire des substances naturelles très variées, en effet, en plus des métabolites primaires classiques (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques), elles synthétisent et accumulent perpétuellement des métabolites secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source immense de molécules pouvant être exploitées dans différents domaines entre autres la phytoprotection (Auger et Thibout, 2002).

Le parcours vers des substances naturelles (extrait des végétaux, huile essentielle..) comme des alternatives aux agents chimiques reste une solution prometteuse. Ces produits font l'objet de plusieurs études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour les traitements insecticides, bactéricides, nématocides et fongicides (Yakhlef, 2010). Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation de certains métabolites issus des plantes afin de mettre au point des méthodes de lutte intégrée, peu onéreuses, efficaces et aisément utilisables par les agriculteurs

Dans cette étude, deux objectifs ont été retenus, le premier concerne l'extraction de l'huile essentielle de Scirpe maritime (*Scirpus maritimus L.*) par hydro distillation suivi par une analyse chromatographique simple et couple (CGP et CGP/SM), le second est d'évaluer de l'efficacité fongicide cette l'huile essentielle vis à vis une souche de champignon incriminé dans le dépérissement de la vigne dite *Fomitiporia mediterranea*

II.1. Evaluation de rendement des huiles essentielles

La technique d'extraction par l'Hydrodistillation est largement utilisée pour produire des huiles essentielles de grande qualité par rapport aux autres méthodes d'extraction (Chiasson, Belauges et al., 2001).

Les rendements obtenus au cours de cette à travers l'extraction par hydro distillation est de l'ordre de (0.30%). Ces résultats sont proches de la bibliographie, généralement les rendements obtenus en huiles essentielles, les différences sont probablement dues à la date de prélèvement, conditions climatiques et géologiques.

Selon (Bousbia, 2004), la grande variabilité de rendement en huile essentielle pourrait s'expliquer par divers facteurs, les conditions climatiques, la période de récolte, la nature de

l'espèce qui peut varier d'une région à une autre, l'emplacement des sites D'HE et les conditions opératoires.

La caractérisation des huiles essentielles et d'ailleurs de tout mélange naturel peut prendre plusieurs aspects en fonction du besoin et de l'objectif assigné. Ainsi, dans la très grande majorité des huiles essentielles, les 15-25 composés majoritaires représentent 80-95% de la composition globale et sont donc suffisants pour caractériser cette huile essentielle. Il faut toutefois signaler que la connaissance des composés minoritaires est parfois un paramètre important de la qualité biologique ou organoleptique du produit et qu'en conséquence une analyse fine est nécessaire. Il faut également signaler qu'une analyse peut être totalement faussée par la mauvaise identification.

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) a montré que cette huile essentielle renferme 80 composés chimiques dont la fraction majoritaire est dominée par des mono terpènes oléfiniques suivis par une fraction minoritaire des mono terpènes oxygénés.

La présence des fractions de terpènes dans nos résultats explique l'efficacité importante de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime. Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont autant de facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques. Chez la *Mentha piperita* par exemple, les nuits froides favorisent la formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celle du menthofuranne (Bruneton, 1999).

II.2. Evaluation de l'activité fongicide de l'huile essentielle à base de scirpe maritime:

Les résultats de cette étude semblent être intéressants et l'huile essentielle étudiée a montré un pouvoir antifongique très important à l'égard de la souche fongique *Fomitiporia mediterranea*.

L'huile essentielle étudiée s'est révélée très toxique dès les premiers 5 jours d'incubation, une toxicité temporelle progressive tout le long du suivi a été enregistrée, le taux d'inhibition s'est accentué au bout de 10 jours pour atteindre son maximum la fin du suivi (à 15 jours). Un effet choc de toxicité a été enregistré avec la première dose (D1), la dose (D3) s'est montrée fortement toxique, tandis que la dose (D2) a aussi montré un effet fongicide qui a chuté à 10 jours, suivi par une nette reprise à 15 jours.

Nous pouvons donc suggérer les hypothèses suivantes :

1-La composition chimique de l'huile essentielle de scirpe maritime assez diversifiée ces substances ont pu atteindre des différentes cibles de la souche fongique.

2- La seconde hypothèse repose sur l'effet toxique des doses .

A travers l'analyse quantitative et qualitative de l'huile essentielle par CPG et par CPG/SM nous pouvons avancer que l'activité fongicide de huile essentielle étudiée est due à la présence des composées chimiques majoritaires (principe actif) et surtout les mono terpènes, ainsi la rapidité de leur effet volatile.

Lucini *et al.* (2006), ont indiqué que l'inhibition de la croissance mycélienne est causée par les monoterpènes présents dans des extraits de plantes. Ces composants vont augmenter la concentration des peroxydes lipidiques tels que les radicaux hydroxyles, l'alcoxy et alkoperoxyl et provoquer ainsi la mort cellulaire. Les composants des extraits agiraient sur les hyphes du mycélium, provoquant la sortie des composants du cytoplasme, la perte de la rigidité et l'intégrité de la paroi cellulaire des hyphes, ce qui entraîne sa désintégration et la mort du mycélium (Sharma et Tripathi,2006).

Les huiles essentielles de ces plantes ont toutes une particularité commune: elles sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous. Reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol est l'ingrédient actif des rince-bouches et l'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires, et dentaires. Ces trois composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries: *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* , *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Clostridium jejuni*, *Lactobacillus sake*, *Staphylococcus aureus* et *Helicobacterpyroli* (Pauli, 2001; Fabian *et al.*, 2006). D'autres familles de composés présentent aussi des propriétés antibactériennes intéressantes: certains alcools, aldéhydes et cétones monoterpéniques (géraniol, linalol, menthol, terpinéol, thujanol, myrcénol, citronellaï, néral,thujone, camphre, carvone, etc.), des phénylpropanes (cinnamaldéhyde) et des monoterpènes (y erpinène, p-cymène). Les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques sont très intéressées par les propriétés de ces composés d'autant plus qu'il s'agit d'aromatisants naturels.

De ce fait, beaucoup de chercheurs à travers le monde étudient leur potentiel en tant qu'agent de conservation (Burt, 2004). La plupart de ces composés sont également de très bons agents antifongiques. Le thymol, le carvacrol, et l'eugénol sont encore ici les composés les plus actifs. Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme

de champignons: *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum*, et bien d'autres (Kalemba et al., 2003)

Les activités antifongiques des hydrolats de cinq épices (romarin, cumin, sarriette, échinophore et basilic) ont été évalués in vitro sur des espèces de champignons phytopathogènes (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum f.sp tulipae*, *Botrytis cinerea* et *Alternaria citri*) par des chercheurs de l'Université de Selcuk en Turquie (Boyras et al., 2005). L'hydrolat de sarriette a montré l'activité antifongique la plus intéressante sur l'ensemble des champignons testés suivi de l'hydrolat d'échinophore (*Echinophora tenuifolia*) puis de cumin (*Cuminum cyminum*).

Dans une seconde étude, ces chercheurs se sont penchés plus précisément sur l'inhibition de la croissance mycélienne des champignons pathogènes (*Alternaria mali* Roberts et *Botrytis cinerea*) en présence de l'huile essentielle et de l'hydrolat de sarriette (Boyras et al., 2006). Étonnamment, l'hydrolat inhibait beaucoup plus fortement la prolifération comparativement à l'huile essentielle. Cela montre bien l'originalité des hydrolats par rapport aux huiles essentielles. Comme précédemment, cette étude suggère que ces hydrolats pourraient être exploités dans certains secteurs comme l'agro-alimentaire ou la cosmétique comme agents antifongiques naturels.

Les composés secondaires des plantes, entre autres, les huiles essentielles, possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches fongiques mais d'une manière générale, leur action se déroule en trois phases : l'attaque de la paroi par l'extrait végétal, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires, l'acidification de l'intérieur de la cellule bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants structuraux et enfin, la destruction du matériel génétique conduisant à la mort du champignon (Dinan et al., 2001).

Les terpènes phénoliques agissent aussi en se fixant sur les groupes amine et hydroxylamine des protéines membranaires microbiennes provoquant l'altération de la perméabilité et la fuite des constituants intracellulaires (Ultee et al., 1999 et Lopez-malo et al., 2005).

D'après nos résultats, nous constatons que l'huile essentielle testée s'est montrée fortement toxique vis-à-vis la souche de champignon étudié. Cette toxicité varie en fonction des doses utilisées, du temps d'exposition et de l'origine de la plante (région).

Toutes les concentrations testées ont montrés une activité fongicides , les D1et D3 ont montre l'effet inibiteur le plus elevé par rapport aux D2.Compareé aux témoin teewin 80 (3%) aucune inhbition n'a été enregistree meme après 10 et 15 jours.

Les résultats obtenus de cette étude indiquent que la concentration la plus élevée de l'huile essentielle à base de Scirpe (D3) inhibe plus efficacement que lorsqu'elles sont diluées. Cette efficacité se traduisant par une sensibilité accrue de la souche testée à l'augmentation des doses. Nos résultats concordent avec ceux de Aouiche(2011) et Bouhidel(2012), qui ont montré que la concentration pure présente le pourcentage d'inhibition le plus important alors que les autres concentrations ont montré une activité modérée.

De ce que nous avons pu avancer comme résultats, la souche fongique a montré une forte sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle à base de Scirpe maritime.

RÉSUMÉ

Effet fongicide de l'huile essentielle de scirpe maritime (*Scirpus maritimus L.*) à l'égard d'un champignon lignivore (*Fomitiporia mediterranea*) des maladies de la vigne

L'étude a porté en premier lieu sur l'extraction de l'huile essentielle de scirpe maritime collecté de la région d'oum Elbouaghi (Lac de Timerganine) suivie par une étude analytique par CPG et par CPG/SM. En second lieu sur l'estimation du pouvoir antifongique *in vitro*, de l'huile essentielle obtenue sur une souche de champignons phytopathogène (*Fomitiporia mediterranea*) agent causal de dépérissement de la vigne.

L'huile essentielle produite par le scirpe maritime a été extraite par hydrodistillation. La composition chimique de cette huile essentielle a montré la présence au total, 80 composés ont été identifiés. Les mono terpènes oléfiniques (52.5%) a été identifié comme étant les composés majoritaires.

Les analyses liées au pouvoir antifongique ont révélé que l'huile essentielle présente un effet fongicide sur la souche de champignon testée.

Les résultats ont montré que la toxicité du traitement évolue avec l'augmentation de la concentration des doses appliquées d'une part ,avec une progression de pourcentage d'inhibition pour les trois dilutions 50% pour (D1),38,89%pour la dilution (D2) et de 47,22% pour la dilution(D3). Ce taux s'est accentue pendant tout le suivi, une efficacité relativement progressive par rapport au temps (durée après traitement) qui se traduit par une meilleure efficacité d'autre part.

Mots clés : Effet fongicide, Huile essentielle, Scirpe maritime, *Fomitiporia mediterranea* CPG et CPG/SM.

ملخص

تأثير المضاد الحيوي للزيت الأساسي للسيرب البحري على فطر يصيب النباتات
الدراسة اعتمدت في الأول على استخلاص الزيت النباتي للسيرب البحري المأخوذ من
منطقة أم البواقي (بحيرة تيمرقانين) و بعدها بدراسة تحليلية بواسطة
CPG و CPG/SM .

وثانيا على تقييم مخبري لقدرة المضاد الفطري للزيت على الفطريات
المرضية (*Fomitiporia mediterranea*) عامل مسؤول على اضمحلال الكروم. الزيت
الأساسي للسيرب البحري استخلصت بالاماهة المخففة. المحتوى الكيميائي لهذا الزيت
الأساسي في مجمله 80 معرفة. (52.5%) Les mono terpènes oléfiniques معرفة
بالأكثريّة.

التحاليل متعلقة بالقوة المضادة للفطر يتبين ان الزيت الأساسي له تأثير في قتل الفطر
المختبر. النتائج بينت أن التسمم المعالج يتطور بزيادة تركيز الجرعات المطبقة مع
تطور مؤوي للتثبيط بما يخص الثلاث جرعات 50% ل 38,89% (D1) بما يخص (D2)
و 47,22% بما يخص (D3). هذه النسبة بقيت ثابتة طول مدة المراقبة علاقة طردية مع
الزمن مدة بعد العلاج تترجم بأفضل قدرة سمية .

الكلمات المفتاحية: تأثير المضاد الفطري, الزيت الأساسي للسيرب البحري,

,CPG et CPG/SM , *Fomitiporia mediterranea*

Liste des figures

Figure 1.	Surface de vignobles dans le monde entier	4
Figure 2.	Principales localisations des champignons associés aux maladies du bois	8
Figure 3.	Nécrose centrale ponctuations noires	9
Figure 4.	symptôme sur Cépage blanc	10
Figure 5.	symptômes sur cépages noir	10
Figure 6.	Symptômes sur les bais	11
Figure 7.	Forme foudroyante de l'esca	12
Figure 8.	Représentation schématique de la croissance clonale chez <i>Scirpus maritimus</i> L, témoignant de l'importante variabilité morphologique des ramets (d'après Charpentier J998)	29
Figure 9.	Représentation d'un fragment de clone de <i>Scirpus maritimus</i> L composé de deux tubercules hivernants et d'une chaîne de ramets produite au cours d'une saison de croissance, témoignant de l'importante variabilité fonctionnelle des ramets	30
Figure10.	<i>Scirpus maritimus</i> L. (Cyperacées)	31
Figure 11.	Culture de <i>Fomitoporia mediterranea</i>	33
Figure 12.	Situation géographique du Lac de Timerganine dans les zones humides des hautes plaines de l'Est l'Algérie	34
Figure 13.	Température moyenne mensuelle (1988-2008)	35
Figure 14.	Variation mensuelle de la hauteur des pluies au niveau de la station d'OEB	36
Figure 15.	Chromatographe de type « Hewlett Packard 6890 »	39
Figure 16.	Pouvoir antifongique de l'huile essentielle à base de Scirpe Maritime représenté par des zones d'inhibition après 5 et 10jours de traitement [originale]	44

Figure 17.	Evaluation temporelle du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de Scirpe maritime sur <i>Fomitoporia mediterranea</i>	45
Figure 18.	La croissance mycélienne de la souche fongique après traitement.	45
Figure 19.	Analyse en composantes principales (A.C.P.) du traitement de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne de la souche fongique en fonction de la durée d'incubation	47
Figure 20.	Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche fongique <i>F.mediterranea</i> sous l'effet de l'huile essentielle (a : périodes après traitement, b : doses)	48
Figure 21.	Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche phytopathogène sous l'effet doses	49

CONCLUSION

Les produits naturels étaient et restent toujours une source inépuisable de structures complexes et diverses vu le rôle que peuvent jouer certains composés purs dans beaucoup d'applications, à savoir l'industrie pharmaceutique, l'industrie alimentaire, l'industrie cosmétique, la parfumerie, etc.

Dans ces dernières années, et face à une législation de plus en plus restrictive sur l'application des pesticides de synthèse, la recherche de phyto fongicides s'inscrit dans une stratégie particulièrement adapté aux exigences du consommateur tout en préservant l'environnement.

De ce fait, le travail entrepris dans ce mémoire avait pour objectifs d'analyser l'effet bio-fongicide de l'huile essentielle de Scirpe maritime (*Scirpus maritimus*) collecté pendant les stades végétatifs de la région Oumelbouaghi sur un champignon phytopathogène qui cause le dépérissement de la vigne ,agent causal de l'esca (*Fomitiporia mediterranea*)

A partir de la première partie de cette étude nous pouvons déduire les conclusions suivantes:

- La cinétique d'extraction d'HE de Scirpe maritime a montré un rendement de 0.30%
- Il apparaît ainsi une influence du cycle végétatif, non seulement sur le rendement en HE, mais aussi sur le profil chimique de celle-ci. L'analyse par CPG/SM de l'HE de scirpe nous à permis de constater que les HE analysée étaient caractérisées par une importante fraction monoterpénique et par la prédominance de composés oléfiniques.

La deuxième partie de notre travail consistait à évaluer l'effet fongicide *in vitro* de l'huile essentielle de scirpe maritime sur la souche fongique *F.méditerranæe*. Dans cette partie nous avons constaté une diminution sensible des taux de croissance mycélienne le laps de temps de 5 jours et 10jours, La persistance de l'efficacité de l'huile essentielle est meilleure vis-à-vis ce champignon pendant 15 jours au moins.

Donc, dans cette partie de notre étude nous pouvons déduire que les traitements à base du Scirpe présentent une meilleure activité fongicide. Cette prédominance de l'activité d'HE sur celle d'un composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourraient apporter les composants minoritaires à l'activité d'HE.

L'étude de l'activité insecticide de l'HE du *Scirpus maritimus* s'est avérée très intéressante, du fait que nous avons obtenu des résultats positifs sur la souche fongique *F.mediterranea*. Ces résultats prometteurs ouvriront la possibilité de trouver de nouveaux pesticides naturels à base de végétaux qui peuvent être source efficace dans la lutte contre les bio agresseurs des cultures.

Cette étude constitue une première étape dans la recherche de molécules biopesticides d'origine végétale, elle mérite d'être poursuivie par des *études in planta* pour confirmer leur activité.

Il serait aussi d'intérêt de :

- ✓ Rechercher et caractériser les matières actives existantes dans la plante spontanée
- ✓ Étudiée afin de les formuler et les utiliser comme produits stables.
- ✓ Ainsi, il va falloir réaliser une étude toxicologique avant l'application des extraits car des résultats de recherches ont montré que certains composés chimiques possèdent des toxicités chroniques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1. AL-REZA S.M., RAHMAN A., AHMED Y. et KANG S.G., 2010-** Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. Pesticide Biochemistry and Physiology 96, pp: 86-92
- 2.AMMAD F. , 2006 .** Dépistage et diagnostic des maladies de dépérissement de la vigne (Eutypiose et virose) dans quelques vignoble algériens. Mém. Mag. Blida. Algérie. 105p.
- 3.AOUCHE A.(2011)** l'effet fongicide de *Romarin sp* sur quelques champignons de dépérissement de l vigne. Mémoire master en sciences de la nature et de la vie. Université de Blida, 90 P. 2011
- 4.AUCLAIR. J., Côté. I.,** “ Extraction d’huiles essentielles de conifères.”, Expo-journal, rapport interne, (2002), 11 p, 3,4.
- 5.AUGER J., CADOUX F. ET THIBOUT E., 1999 -** *Allium spp* thiosulfinates as substitute fumigants for methylbromide. Pestic. Sci., pp: 200-202.
- 6.BAJPAL ET al., 2007**
- 7.BAKKALIF., AVERBECK. S., AVERBECK.D., IDAOMAR.M. 2008** “ Biological effects of Essential oils “, Food chemistry and toxicology, V.46, Issue 2, (February 2008), 446 - 475
- 8.BAYDAR. H.,SAGDIÇ. O., ÖZKAN. G., KARADOGAN. T.** “ Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thymbra and Satureja species with commercial importance in Turkey. “, Food control, V.15, n° 3, (April 2004), 169-172
- 9.BERNARD. T., PERINEAU. F., BRAVO. R., DELMAS. M.,GASETA. A.,** “ Extraction of Essential oils : Chemistry and technology “, Journal of chemistry informations, n° 298, (1988), 179-184
- 10.BOUHIDE N (2012),** l'effet fongicide de *ruta montana* sur quelques champignons de dépérissement de l vigne. Mémoire master en sciences de la nature et de la vie. Université de Blida, 102P 2012
- 11.BOUNOUARA A.,2008-**Contribution à l'étude de l'impact des modifications écologiques sur la production de biomasse des macrophytes de la zone humide

12. BOUQUET, 1982)

13. BRUNETON J. “Pharmacognosie: Phytochimie des plantes médicinales”, Lavoisier Tec et Doc, 2^{ème} édition, Paris et New York , (1999), p 286- 426.

14. CAILLET S., LACROIX M., “ Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobienne et leur application potentielles en alimentaire. ”, (2007), 1-8. Caraffa, 1999).

15. CHANSELLE S. “ Guide du préparateur en pharmacie. ”, Elsevier masson, troisième édition, Paris , (2008), 1343p, 774,1173.

16. CHARPENTIER, A. (1998) Biologie des populations d'une espèce clonale: Architecture et fonctionnement clonal chez *Scùpus Illaritiillus* dans les marais temporaires méditerranéens du sud de la France. Ph. D. thesis, Université Montpellier II, Montpellier, France.

17. CHIASSON H., BOSTANIAN N. ET VINCENT C., 2001 – acaricidal properties of a *chenopodium*-based biopesticide. J. Econ. Entomol. 97, pp: 1373-1377

18. CHUTIA M., DEKA BHUYAN P., PATHAK M.G., SARMA T.C. et BORUAH P., 2009- Antifungal ion of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. LWT- Food Science and Technology, 42, pp: 777-780.

19. CROUS ET GAMS, *Phaeomoniella chlamydospora* gen. Et comb. nov., a causal organism of Petri grapevine decline and esca, Phytopath. Medit. 39 (1) (2000) 112–118.

20. DINAN L., SAVCHENKO T., WHITING P., 2001 - On the distribution of phytoecdysteroids in plants. Cellular and Molecular Life Sciences 58(8), pp: 1121-1132.

21. DUBOS B.; BURARET Y. ; BULIT J. et ROUDET J., 1983 : Vigne, Maladies du bois : symptômes et méthodes de lutte. Phytoma – défense des cultures. 16-19.

22. DUBOS, E. PAILLASSA, Une nouvelle arme contre l'eutypiose, Viti 151 (1991) 49–52.

23. DUBOS B., 1994 : Incidences économiques de l'eutypiose dans un vignoble de grand cru de Bordeaux. Phytoma, la défense des végétaux n°467 : 15-18.

24. DUBOS B., 1996 : L'eutypiose de la vigne, *Eutypa lata* (Pers : Fr.) Tur ; C.R. Acad. Agric. France, 82 (1): 21-30.

- 25.DUBOS, B.**, « Les maladies cryptogamiques de la vigne champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne». Edition Ferret (1999),175p.
- 26.DUBOS, B.**, 2002 : Les maladies cryptogamiques de la vigne champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne, Edition ferret (2ème Edition).
- 27.DURAFFOURD. C., LAPRAZ. J-C.**, “ Traité de phytothérapie clinique : endobiogénie et médecine.”, Masson, Paris, (2002), 827 p, p : 6, 7
- 28.ERKAN, M.;** 2000: A general approach for esca disease in the vineyards of Turkey. *Phytopath. Medit.*, N°39, N°1, 35-37.
- 29.FISCHER, M.;** 2002: A new wood-decaying basidiomycete species associated with esca of grapevine: *Fomitiporia mediterranea* (Hymenochaetales). *Mycological Progress* 315-324.
- 30.GALET P.,** 1993 *précis de viticulture*. 6^{ème} Edition DEHAN. Montpellier : 582p.
- 31.GALET, P.,** 1999 : *Précis de pathologie viticole*. 3^{ème} édition. 81-86. Crous, P.W. and Gams, W.; 2000: *Phaeomoniella chlamydospora* gen. ET com. Nov., a causal organism of Petri grapevine decline and esca. *Phytopath. Médit.* N°39, 112-118.
- 32.GALET, P.,** 1991 : *Précis de pathologie viticole*. Imp.JF. Impression, Montpellier : 256p.
- 33.GALET.P.,** 1995 : *Précis de pathologie viticole*. Imp.JF.Impression. Montpellier : 248p.
- 34.GRACE, LB. (L 993)** The adaptative significance of clonal reproduction in angiosperms: an aquatic perspective. *Aquatic Botany*, **44**, 159-180.
- 35.HAMMER K.A., CARSON C.F. ET RILEY T.V., 1999** - Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.*, **1**(86), pp: 985-990
- 36.INOUE S., UCHIDA K., MARUYAMA N., YAMAGUCHI H. ET ABE S., 2006-** A novel method to estimate the contribution of the vapour activity of the essential oil in agar diffusion assay. *Jpn. J. Med. Mycol*, **4**, pp: 91-98.
- 37.JONHSTON,A., AND BOOTH,C.,** "plant pathologist pocket book", 2nd Ed .Commwealth Mycological Institute,Kew,Surey,England,(1983), 439p.
- 38.KORDALIS., KOTAN. R., MAVI. A., CAKIR. A., ALA. A., YILDIRIM.A.,** “ Determination of the chemical composition and antioxydant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *A. santonicum* and *A. spicigera* essential oils. ”, *Journal of agriculture and food chemistry*, V.53, (2005), 9452-9458

- 39.LARIGNON , 2009 L. MUGNAI. A. GRANITI. G. SURICO.** ESCA (Black Measles) and Brown Wood-Streaking: Two Old and Elusive Diseases of Grapevines, Plant Disease/Vol. 83 No. 5.
- 40.LARIGNON ,** C. R. Biologies 332 (2009) 765–783
- 41.LARIGNON P.,** 2007 : Bilan de travaux et des recherches sur les maladies du bois par l'ITV. Rodhan : 40p.
- 42.LARIGNON P.,** 2008 : Rôle de matériel végétal dans la propagation des champignons associés aux maladies du bois. IFV. NIMES : 53p
- 43.LARIGNON, P et al,** C. R. Biologies 332 (2009) 765–783.
- 44.LARIGNON, P., 2008.** First observations on the role of rain in the penetration of *Eutypa lata* into pruning wounds.
- 45.LE GALL, D.; LE GAT, Y.; 1994 :** Evaluations de la nuisibilité de l'eutypiose au vignoble. Ann. A.N.P.P., 3, 1271-1285.
- 46.LIEFFERS, V.J. & SHAY, LM. (1981)** The effects of water level on the growth and reproduction of *Seirpus maritimus* var. *paludosus*. *Canadian Journal of Botany*, 59,) 18-) 21.
- 47.LUCINI E.I., ZUNINO M.P., LOPEZ M.L., ZYGADLO J.A., 2006-** Effect of monoterpenes on liquid composition and and sclerotial development. J. Phytopat, 154, pp: 441-446.
- 48.MOALI A, 2009** Fiche descriptive sur les zones humides Ramsar (FDR)- version 2006-2008 site Ramsar : Garaet Timerganine
- 49.MUGNAI L, GRANITI A, SURICO G. 1999.** Esca (black measles) and brown wood-streaking: two old and elusive diseasesof grapevines. Pl Dis 83:404–416
- 50.MUGNAI, L.; GRANITI, A. AND SURICO, G.; 1999:** Esca (Black measles) and brown wood sreaking: two old and elusive diseases of grapevine. Plant Disease/ Vol. 83, 404-418.
- 51.MUGNAI, L.; SURICO, G. AND ESPOSITO, A.; 1996:** Microflora associata al mal dell'esca della vite in Toscana. Inform. Fitopatol. N°46, 49-55 Mostert.,2003)
- 52.O.I.V.** Organisation International de Vin et Vigne ;2008
- 53.O.I.V.** Organisation International de Vin et Vigne ;2009

- 54.PANDY ET al., 1982) PANDEY D.K., TRIPATHI N.N., TRIPATHI R.D., DIXIT S.N., 1982-**Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Caesulia axillaris* Roxb.(Compositae). Angerwandte Botanik, 56 : 256-257.
- 55.PICKETTS S.T.A., WHITE P.S. (EDS.), 1985-** The ecology of natural disturbance and patch dynamics. New York, Academic Press 472 P.
- 56.PRABUSEENIVASAN. S., JAYAKUMAR. M., IGNACIMUTHU. S.,** “ In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. ”, BMC Complementary and Alternative Medicine, V.6, n°39, (November 2006), 1-8
- 57.PRICE. S., PRICE. L., PÉNOËL. D.** “ Aromatherapy for health professionals.”, Elsevier Health Sciences, Second édition, London, (1999), 391 p, 10, 11, 12.
- 58.P. L’ANCIEN, HISTOIRE NATURELLE, LES BELLES LETTRES, XVII PARIS, 1964** (traduction J. André)
- 59.PEROS J-P., 1995 :** Sensibilité des cépages a l’eutypiose : le problème du comportement de défense au vignoble. Prog. Agric. Vitic. 112: 61-67.
- 60.PEROS, J.P.** "Influence du porte greffe et du cépage sur l'expression des symptômes D'EUTYPIOSE", .PRO. AGRIC. VITI. , N° 116, (1999), PP 407-414.
- 61.RAVAZ,** Encore l’apoplexie de la vigne, Progrès Agr. et Vit. 52(1991) 601–603.
- 62.RENE REVUZ. J.E.,** “ Traité EMC : Cosmétologie et dermatologie esthétique.”, elsevier masson, section E, paris, (2009), 500 p, 2,3.
- 63.REYNIER,** Manuel de viticulture, 10^e édition, 2007,pp.413-417.
- 64.ROBINSON J., 1988:** Le livre des cépages. Edition Hachette. Paris : 280 p.
- 65.ROZIER,** Cours complet de l’agriculture ou dictionnaire universel d’agriculture, Paris, 1815.
- 66.SPAPANO, L.; BRUNO, G. AND CAMPANELLA, A.;** 2001. Interactions between three fungi associated with esca of grapevine, and their secondary metabolites. Phytopath. Médit. N°40, Supp. 417-422.
- 67.SHARMA O.P., 1989 -** textbook of fungi. tata mcgraw-hill, 24 p.
- 68. SHARMA P.D., 2006 –** Plant pathology. Alpha Sciences international, pp: 3-5.

- 69.SMID E.J., 1999** - Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, pp: 4606-4610
- 70. SOKOVIC. M., VAN Griensven. L.J.L.D.**, “ Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. ”, *European Journal of Plant Pathology*, V.116, n° 3, (November 2006), 211–224
- 71.VIRET ET GINDRO**, 2006, l’esca en suisse 15^{ème} Colloque Viticole et Œnologique 30 novembre et jeudi 1er décembre 2005 Parc des Expositions de Montpellier,82-83.
- 72.WHITING, A. KHAN, W.D. GUBLER**, Effect of temperature and water potential on survival and mycelial growth of *Phaeoconiella chlamydospora* and *Phaeoacremonium* spp., *Plant Dis.* 85 (2001) 195–201.
- 73.WILLEM. J. P.**, “ Les huiles essentielles, médecine d’avenir.”, Dauphin, Troisième édition, Paris, (2004), 318 P.
- 74.ZEKOVID. Z, LEPOJEVID. Z., VUJID. D.**, “ Supercritical Extraction of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) ”, *Chromatographia Journal*, V. 51, n° : 3-4, (February 2000), 175-180.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

DÉDICACES

RÉSUMÉ

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

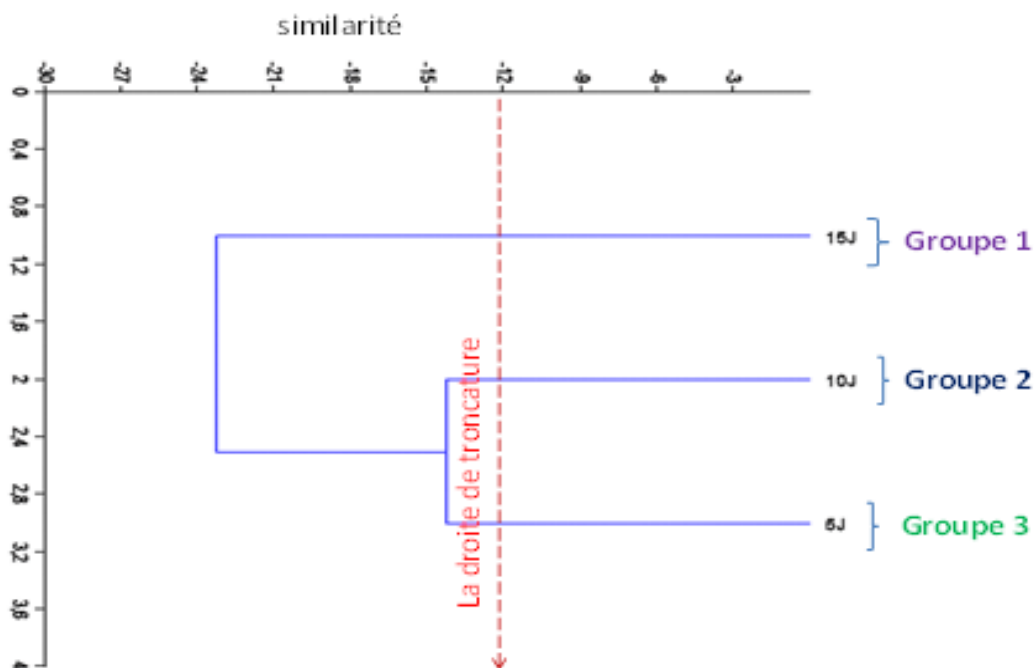
LISTE DES TABLEAUX

SOMMAIRE

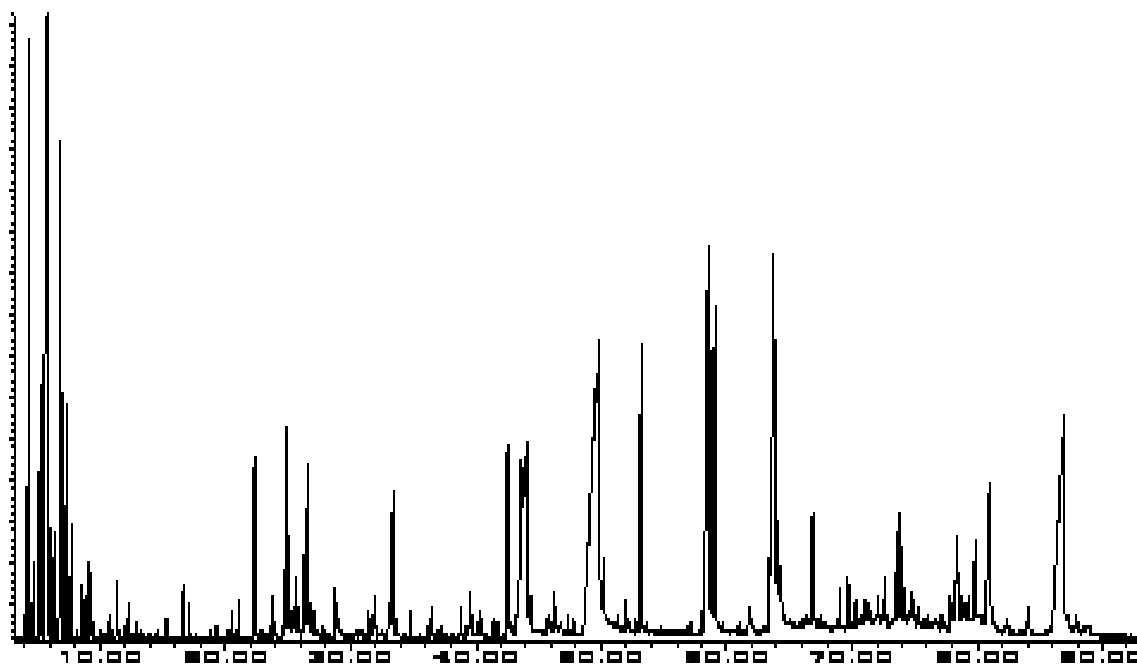
Introduction générale.....	1
CHAPITRE I : GENERALITE SUR LA VIGNE.....	3
II. .Données générales sur les maladies du bois de la vigne.....	7
CHAPITRE II : DONNÉES GÉNÉRALES SUR LES HUILES ESSENTIELLES ET LA PLANTE UTILISÉE.....	21
II. Présentation des macrophytes.....	26
Introduction.....	26
CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	32
Objectif	32
I. Matériel d'étude.....	32
II. Présentation générale de la région d'étude	33
III.1. Récolte du matériel végétal.....	36
IV. Préparation des doses des huiles essentielles.....	39
V. Application des traitements biologiques	39
VI. Analyse statistique.....	41
CHAPITRE IV : RESULTAT ET DISCUSSION	

I. Résultats et interprétations.....	42
I. Résultats d'extraction de l'huile essentielle.....	42
II. Discussion.....	50
CONCLUSION.....	55
ANNEXES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
TABLES DES MATIERES	

ANNEXES



Annexe 1 : Classification hiérarchique ascendant (C.H.A) sur le traitement par l'HE de Scirpe maritime à différentes doses par contact.



Annexe 1 : Chromatogramme de l'huile essentielle de Scirpe maritime obtenue par GC/SM

SUMMARY

The essential oil biopesticides effect on maritime bulrush strain champignon phytopathogène

The study focused primarily on the extraction of essential oil of sea bulrush (Scirpus maritimus) collected from the region (Lake Timerganine) followed by an analytical study and GC / MS. In second place on the estimation of in vitro antifungal potency of the essential oil obtained a strain of phytopathogenic fungi (*Fomitiporia mediterranea*) causative agent of withering on the vine.

The essential oil produced by the Maritime bulrush was extracted by steam distillation. The chemical composition of this oil essentielle showed the presence total 80 composés were identified. The terpènes oléfiniques single (52.5%) was identified as the composés majoritaires.

Analyzes related to antifungal revealed that the essential oil has a fungicidal effect on the fungal strain tested.

The results showed that the toxicity of treatment evolves with increasing concentration of applied dose on the one hand, with an increase in the percentage of inhibition for the three dilutions 50% (D1), 38.89% for dilution (D2) and 47.22% for the dilution (D3). This rate increases throughout the follow-up, a relatively progressive effectiveness over time (time after treatment) resulting in improved efficiency on the other.

Keywords: Effect fungicide, essential oil, *Scirpus maritimus*, *Fomitiporia mediterranea* CPG and GC / MS.

ANNEXE 2

Tableau 3. Composition chimique de l'huile essentielle de Scirpe maritime

Composé identifié	I _k	HD F	SFE F	HD Fr	SFE Fr
épi-bicyclosesquiphéllandrène	1485	tr	0.3	0.1	tr
bicyclogermacrène	1490	tr	0.3	-	tr
α-muuroène	1499	0.9	0.5	0.5	0.3
b-bisabolène	1502	0.2	0.3		-
γ-cadinène	1511	0.6	0.3	0.5	0.5
cubebol	1518	-	0.6		0.2
δ-cadinène	1522	1.9	0.7	1.3	1.1
cadina-1,4-diène	1529	0.5	tr	0.3	tr
α-cadinène	1532	-	tr	0.1	tr
α-calacorène	1537			0.2	-
élémol	1540	-	tr	0.1	-
germacrèneB	1548	0.3		-	
germacrène D-4-ol	1566	-	0.5	-	0.2
spathuléol	1568	1.0	0.2	0.2	-
oxide de caryophyllène	1573	1.5	0.7	0.3	tr
globulol	1576	0.8	tr	0.1	-
époxyde de humulène II	1597	0.4	tr	0.1	-
fonéol	1547	0.6	0.1	0.2	-
1-épi-cubéol	1607	0.7	1.2	0.3	-
τ-cadinol	1614	1.4	0.5	0.6	tr
τ-muuroolol	1627	2.7	0.4	0.8	tr
α-muuroolol	1630	1.0	tr	0.3	tr
α-cadinol	1636	4.9	1.2	1.8	tr
α-bisabolol**	1659	1.0	0.2	0.2	
épi-α-bisabolol**	1662	tr		tr	1.3
cembrène	1910	-	0.9	-	
C ₂₀ H ₃₀	1932	-	0.3	0.6	1.3
acide hédécanoïque	1960	tr	2.4		7.7
oxyde de manoyl	1965	tr	1.2	0.4	-
épi-13-oxyde de manoyl	1980	tr			tr
acide linoléique	2115	-	-		11.6
acide oléique	2122	-	-		5.1
C ₁₉ H ₂₈ O	2209	-	-		3.1
3-pentadécyl phénol (304)	2350	-	-		12.0
phénol -3-n-alkyl (330)	2479	-	-		8.3
squalène	2556	-	1.1		0.7
Total		99.6	68.2	98.7	83.6
Monoterpènes oléfiniques		52.2	38.1	77.4	25.1
Monoterpènes oxygénés		4.8	4	4.5	0.6
Sesquiterpènes oléfiniques		21.3	11.2	8	5.7
Sesquiterpènes oxygénés		16	5.6	4.9	1.5
Acides gras		-	2.4	-	24.4
Autres		5.3	6.9	3.8	26.3

