

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE



Réf : ...../UAMOB/FSNVST/2023

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Phytopathologie

Présenté par :

TOUATI Fatima & REMACI Basma Lydia

*Thème*

**Le dépérissement de la vigne : cas d'Esca dans la région de  
BIR TOUTA et essai biocide par *Rosmarinus officinalis.L***

Soutenu le : 14 / 09 /2023

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
Mr. BELKACEM Mohamed	MCB	Univ. de Bouira	Président
Mme. MEBDOUA Samira	MCB	Univ. de Bouira	Examinatrice
Mr. MENZER Nourddine	MCB	Univ. de Bouira	Promoteur
Mme. SAYAH Sihem	MAA	Univ Bouira	Co- promotrice

Année Universitaire : 2022/2023

# Remerciements

# Remerciements

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude tout d'abord à dieu de nous avoir donné courage, volonté, santé et force pour réaliser ce travail.

Nous remercions vivement Monsieur **MENZER Nourddin** et Madame **SAYEH Sihem** d'avoir accepté de nous encadrer ainsi que pour tous leurs conseils, leur suivi et leur disponibilité.

Nos remerciements sont également adressés à Monsieur **BELKACEM Mohamed** généreusement accepté de présider le jury de notre soutenance et à Madame **MEBDOUA Samira** d'avoir accepté l'examen de ce travail et sa mise en valeur.

Mes sincères remerciements vont à tous les enseignants du département des sciences agronomiques qui ont contribué à notre formation.

Nous remercions également à professeure **ACHEUK Fatima**, et Dr. **KHEDAM. H.** de l'université Mohamed Bougera Boumerdes pour leur aide efficace et sa générosité.

Notre sincère reconnaissance et remerciements vont à Mr. **SEFAH Réda** propriétaire de la ferme pédagogique à **BIR TOTUA** pour leur collaboration dans le travail de terrain.

Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

# Dédicaces

## Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

Au plus beau père «ALLAOUA»

Mon père, le plus merveilleux des pères, qui m'a élevé avec amour et de grands espoirs.

A ma très chère mère

Ma compagne, mon bon exemple dans la vie, source d'amour l'une des plus belles créateur  
de dieu.

A mes frères

Mes merveilleux frères «kamel, walid et Nourdin» et mon précieux offre de dieu «Fateh ».

A mes adorables sœurs

«Mesouda, houria razika saida et saliha» et ma chère belle-sœur «Hakima»

A mes nièces et neveux

«Wissal, Fatima ; Anfal et Aymen»

«Allae, Amira et Abdou»

A tout ma famille

A la mémoire de ma grand-mère «fatima » et mon oncle «Salah» que dieu les garde dans son  
vaste paradis

A tout la promo « phytopathologie »

**Fatima**

## Sommaire

Remerciements	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1

### **Chapitre I: Généralité sur la vigne**

I.1. Historique et origine de la vigne .....	5
I.2. Présentation d'espèce végétale.....	5
I.2.1. Particularités anatomiques de bois de la vigne .....	5
I.2.2. Description et classification de <i>vitis venefira</i> .....	6
I.2.3. Le cycle de développement de la vigne .....	7
I.2.3.1. Cycle végétatif .....	7
I.2.3.2. Cycle reproducteur.....	9
I.2.3.2.1. La reproduction sexuée .....	9
I.2.4. Les exigences climatiques de la vigne .....	9
I.2.4.1. Le rayonnement solaire.....	9
I.2.4.2. L'eau .....	10
I.2.4.3. La température .....	10
I.3. L'importance de la viticulture.....	10
I.3.1. Au monde.....	10
I.3.1.1. Production vitivinicole mondiale.....	11
I.3.2. Superficie et production viticole algérienne .....	12

### **Chapitre II: Les maladies de la vigne**

II. principeau Maladies de vigne .....	14
II.1. Maladies fongiques .....	+14
II.1.1. Mildiou ( <i>Plasmopara viticola</i> ).....	14
II.1.2. Oïdium ( <i>Uncinula necator</i> ).....	15
II.1.3. Pourriture grise ( <i>Botrytis cinerea</i> Pers.).....	16
II.1.4. Anthracnose ( <i>Elsinoëampelina</i> ).....	17
II.1.5. Pourriture noire ou Black-rot ( <i>Guignardiabidwelii</i> ).....	17
II.3. Maladies virales de vigne .....	18

II.3.1. Court noué .....	18
II.3.2. Enroulement foliaire .....	19

### **Chapitre III: Le dépérissement de la vigne cas d'Esca**

III. Les maladies de bois de vigne .....	21
III.1. Données générales sur le dépérissement de la vigne .....	22
III.2. Syndrome d'ESCA .....	22
III.2.1. Présentation de lesca .....	22
III.2.2. Symptomatologie .....	24
III.2.2.1. La forme foudroyante .....	24
III.2.2.2. La forme lente .....	24
III.2.2.3. Les désordres vasculaires du bois externe .....	28
III.2.3. Particularités des agents pathogènes : le syndrome ESCA .....	27
III.2.3.1. Microorganismes impliqués dans le syndrome d'ESCA .....	28
III.2.3.2. Processus de dégradation du bois par les champignons impliqués dans le syndrome de l'esca .....	29
III.2.4. Biologie et systématique des champignons associés à l'esca .....	30
III.2.4.1. <i>Phaeoconiella chlamydospora</i> .....	29
III.2.4.2. <i>Phaeocremonium aleophilum</i> .....	32
III.2.4.3. <i>Fomitiporia mediterranea</i> .....	32
III.2.4.4. <i>Fomitiporia punctata</i> .....	33
III.2.4.5. <i>Botryosphaeria sp</i> .....	35
III.2.5. Facteurs impliqués dans l'expression des symptômes .....	35
III.2.5.1. Condition climatique .....	34
III.2.5.2. Age de la vigne .....	34
III.2.5.3. Cépage .....	35
III.2.5.4. Mode de conduite .....	35
III.2.6. Pratiques agronomiques et stratégies de lutte contre l'Esca .....	36
III.2.6.1. Techniques curatives des ceps malades .....	36
III.2.6.1.1. Le greffage .....	36
III.2.6.1.2. Le recepage .....	37
III.2.6.2. Les pratiques culturales de prévention .....	39
III.2.6.2.1. Prophylaxie en vignoble .....	39
III.2.6.2.2. Prophylaxie en pépinière .....	40

III.2.6.2.3. La protection des plaies de taille .....	39
---	----

## **Chapitre IV: Matériels et Méthodes**

IV.1. Présentation de la région d'étude .....	43
IV.1.1. Situation de la ferme.....	41
IV.1.2. Caractéristique de la ferme pédagogique.....	41
IV.2. Méthodologie d'échantillonnage.....	42
IV.2.1. Prélèvement des échantillons.....	43
IV.2.1.1. Prélèvement des échantillons de sol et racines .....	43
IV.2.1.2. Prélèvement des échantillons de bois.....	44
IV.3. Isolement au laboratoire.....	44
IV.3.1. Les milieux de cultures.....	44
IV.3.2. Techniques d'isolement.....	45
IV.3.2.1. La technique d'isolement directe .....	46
IV.3.2.2. Technique de suspension dilution pour le sol .....	46
IV.3.3. Purification des isolats fongiques .....	47
IV.3.4. Caractérisation et identification des isolats fongiques .....	48
IV.3.4.1. Caractères macroscopiques .....	48
IV.3.4.2. Caractères microscopique .....	48
IV.4. Méthodologie d'essai de biocide.....	49
IV.4.1. Matériels végétales.....	49
IV.4.2. Matériel fongique.....	49
IV.4.3. Méthodes.....	50
IV.4.3.1. Préparation des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	50
IV.4.3.2. Extraction des huiles essentielles .....	50
IV.4.3.2.1. Méthode de l'hydro distillation utilisée .....	50
IV.4.3.3. Rendement d'huile essentielle.....	51
IV.4.3.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique.....	51
IV.4.3.4.1. Technique de confrontation directe.....	52

## **Chapitre V: Résultat et discussion**

V.1. Résultat.....	55
V.1.1. Symptômes de l'esca observé sur les ceps .....	55
V.1.2. Résultats d'isolement et d'identification des champignons .....	59
V.1.2.1. Champignon non causals d'esca de la vigne .....	60

V.1.2.1.1. <i>Fusarium sp1</i> .....	60
V.1.2.1.2. <i>Fusarium sp2</i> .....	61
V.1.2.1.3. <i>Trichoderma sp</i> .....	62
V.1.2.1.4. <i>Cladosporium sp</i> .....	63
V.1.2.1.5. <i>Alternaria sp</i> .....	64
V.1.2.1.6. <i>Penicillium sp</i> .....	64
V.1.2.1.7. <i>Aspergillus niger</i> .....	65
V.1.2.1.8. Champignon non identifié .....	66
V.1.2.2. Les isolats fongiques liés à l'esca de la vigne .....	66
V.1.2.2.1. <i>Botryosphaeria sp</i> .....	66
V.1.2.2.2. <i>Phaeocromonium sp</i> .....	67
V.1.2.2.3. Un champignon non identifiant .....	68
V.1.3. Résultat de biocide.....	69
V.1.3.1. Paramètres organoleptique d'huile essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	69
V.1.3.2. Rendement d'huile essentielle .....	70
V.1.3.3. Effet des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> sur l'activité antifongique des champignons causals d'Esca de vigne .....	70
V.2. La Discussion .....	81
V.2.1. L'évaluation de la symptomatologie interne et externe de cep de vigne.....	81
V.2.2. Les isolats fongiques responsables de l'esca de la vigne .....	81
V.2.3. Localisation des champignons dans les déférentes nécroses .....	82
V.2.4. Evaluation de l'activité antifongique.....	83
Conclusion générale .....	87
Références bibliographiques	
Résumé	
Abstract	
الملخص	

Liste des figures

Figure 1 : Classification botanique de la vigne. ....	7
Figure 2: Stades phrénologiques repères de la vigne. ....	8
Figure 3: Les principaux pays producteurs de la vigne au monde .....	11
Figure 4: Carte de distribution géographique des pays consomment la moitié du vin du monde, selon OIV. ....	12
Figure 5: Symptômes du mildiou sur grappes et feuilles .....	15
Figure 6: Symptômes de l'oïdium observés.....	16
Figure 7: Symptômes de la pourriture grise observés sur grappe d'un cépage noir .....	17
Figure 8: Dédoublément des rameaux et des vrilles dû au court noué.....	19
Figure 9: Carte de distribution géographique de esca dans le monde.....	23
Figure 10: Symptôme de la Forme apoplectique de l'esca .....	24
Figure 11: Symptômes foliaires associés à la forme lente de l'esca .....	25
Figure 12: (A), Une coupe transversale d'un cep malade .....	26
Figure 13: (A), nécrose brune et dure en position sectorielle.(B), nécrose claire et tendre en position sectorielle.....	27
Figure 14: Processus de dégradation de bois (ESCA).....	28
Figure 15: Conidiophores (a) conidies (b) et chlamydospore (c) de <i>Phaeoconiella chlamydospora</i> . ....	30
Figure 16: Conidiophores (a) et conidies (b) de <i>Phaeoacremonium aleophilum</i> .....	32
Figure 17: Fructification de <i>Fomitiporia mediterranea</i> sur <i>vitis vinifera</i> .....	33
Figure 18: Regreffage en fente d'un cep atteint d'esca.....	36
Figure 19: Schéma représente les étapes du recepage.....	37
Figure 20: Technique de curetage d'un ceps infectée. ....	38
Figure 21: Carte géographique de site d'étude.....	41
Figure 22: Représente vignoble au période hivernal, la première visite. ....	42
Figure 23: Représente vignoble au période végétatif.....	42
Figure 24: Prélèvement des échantillons de sol. ....	43
Figure 25: Prélèvement des échantillons de collet. ....	44
Figure 26: (A) nécrose centrale d'un rameaux herbacée, (B) nécrose centrale dans le tronc. .	46
Figure 27: Isolement directe des champignons. Stérilisation des fragments (A). et séchage (B).....	46

Figure 28: (A) isolement des champignons par la technique de suspension dilution. (B), échantillon de sol.....	47
Figure 29: Préparation des lames pour l'observation microscopique. ....	49
Figure 30: Carte géographique de région de récolte. ....	49
Figure 31: Le matériel fongique utilise : (A) fomitiporia medeteranea, (B) phaocromonium, (C) botreospharea sp.....	50
Figure 32: Extraction des huiles de romarin par clevenjer. (C). ....	51
Figure 33: La technique de confrontation directe sur le champignon <i>Phaeoacremonium sp.</i> .	52
Figure 34: Technique de confrontation directe sur le champignon <i>Botryosphaeria sp.</i> .....	52
Figure 35: Technique de confrontation directe sur le champignon phomitiporia medeteranea. .....	52
Figure 36: Préparation des dilutions pour le test.....	53
Figure 37: Sympomes de esca sur les feuilles.....	56
Figure 38: Forme lente de l'esca. ....	56
Figure 39: Forme lente de l'esca. ....	57
Figure 40: Nombre importante de ceps symptomatique .....	57
Figure 41: Dessèchement total d'un cep charger de fruits. ....	58
Figure 42: Cep exprimant la forme apoplexie.....	58
Figure 43: (A), Une coupe transversale d'un cep malade .....	59
Figure 44: Nécrose central brune et dure d'un rameaux herbacés .....	59
Figure 45: Caractères morphologique de <i>fusarium sp 1</i> .....	61
Figure 46: Caractères morphologiques de <i>fusarium sp2</i> .....	62
Figure 47: Caractères morphologiques de trichoderma sp.....	63
Figure 48: Caractères morphologique de <i>chladosporium sp,</i> .....	63
Figure 49: Caractères morphologique d' <i>alternaria sp</i> .....	64
Figure 50: Caractères morphologique de penicilium sp, .....	65
Figure 51: Caractères morphologique d'aspergilus Niger .....	65
Figure 52: Caractères morphologiques de champignons après mise en chambre humide.....	66
Figure 53: Caractères morphologique de botreospharea sp .....	67
Figure 54: Caractères morphologique de <i>phaeocrromoniumsp</i> .....	68
Figure 55: Caractères morphologique de champignon non idenifie . ....	69
Figure 56: Evolution de la croissance mycélienne de <i>Botryosphaeria sp</i> en fonction d'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> ....	71

Figure 57: Evolution de la croissance mycélienne de champignon X en fonction d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. .... 74

Figure 58: Evolution de la croissance mycélienne de *Phaeoacremonium sp* en fonction d'huiles essentielles *Rosmarinus officinalis*. .... 80

**Liste des tableaux**

Tableau 1: Sensibilité de cépage de vitis venifera a l'esca .....	35
Tableau 2: Les dates de sortie au site d'étude. ....	43
Tableau 3: Caractéristiques organoleptique d'huile essentielles de <i>Romarinus officinalis</i> . ....	70
Tableau 4: Rendement de l'huile essentielle de <i>Romarinus officinalis</i> . ....	70
Tableau 5: Taux d'inhibition pour chaque dose de l'HE par la méthode de Confrontation directe sur le champignon <i>Botryosphaeria sp.</i> .....	70
Tableau 6: Photos : Dernier jour de croissance du <i>Botryosphaeria sp</i> sur PDA en fonction des concentrations de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> .....	72
Tableau 7: Taux d'inhibition pour chaque dose de l'HE par la méthode de Confrontation directe sur le champignon X.....	74
Tableau 8: Photos : 8 jours de croissance du champignon X sur PDA en fonction des concentrations de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> .....	75
Tableau 9: Photos: 10 jours de croissance du champignon X sur PDA en fonction des concentrations de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> .....	77
Tableau 10: Taux d'inhibition pour chaque dose de l'HE par la méthode de Confrontation directe sur le champignon <i>Phaeoacremonium sp.</i> .....	79

### Liste des abréviations

**OIV** : Organisation Internationale de la Vigne et du Vin.

**UV**: ultra violet.

**MDB**: Black Dead Arm (chancre à *Botryosphaeriaceae*).

**Pal**: *Phaeacremoniumaleophilum*.

**Pch**: *Phaeomoniella chlamydospora*.

**PDA**: potato dextrose agar.

**HE**: huile essentielle.

**GFLV** : Grappevine Fan Leaf Virus

**l'ArMV**: Arabic Mosaic Virus

# **Introduction**

## **Introduction**

La viticulture avec la diversité de ses productions, vin, jus, eaux de vie, raisins sec et frais, occupe une place importante dans l'agriculture mondiale (OIV, 2014) Le raisin est ainsi, après les agrumes (124 millions hectare), c'est le deuxième fruit le plus cultivé au monde (**Samaali, 2012**). Selon l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV), en 2017, la surface totale cultivée en vigne dans le monde en 2017 a atteint 7,4 millions d'hectares, avec une production mondiale de vin de 250 millions d'hectolitres. La viticulture occupe une place importante dans l'agriculture algérienne. Plusieurs régions viticoles, comme Médéa, Mascara, Ain-Temouchent, ont développé cette spéculation depuis plus d'un siècle. (**BERRAF- TEBBAL, 2004**).

Comme tout autre organisme vivant animal ou humain, la vigne est exposée aux attaques par des bioagresseurs (facteur biotique), tels que bactéries, virus, nématodes, champignons, insectes, les dégâts peuvent être considérables si les méthodes de lutte ne sont pas utilisées. Elle peut également être endommagée par divers facteurs environnementaux (facteurs abiotiques), tels que chaleur, vent, humidité ou la sécheresse. (**Rezgui, 2019**).

Sans doute, les dépérissements de la vigne constituent une affection très redoutable qui préoccupe depuis toujours les vignerons. L'Esca et l'eutypiose sont les deux maladies fongiques en recrudescence provoquant des dépérissements de la vigne. Il s'agit des affections les plus graves qui touchent cette plante, car elles attaquent la structure même de la souche, conduisant inévitablement à sa mort à plus ou moins court terme. Les champignons responsables de ces maladies sont lignivores ; ils pénètrent principalement par les plaies de taille, ainsi que par d'autres blessures accidentelles, et se développent lentement à l'intérieur du bois des ceps. En raison de la croissance lente et irrégulière de ces pathogènes, ces maladies passent généralement inaperçues au début de l'attaque, mais leur progression est inexorable, et leur impact économique est très significatif (**Dubos, 2002 et Larignon, 2012**).

Les maladies de bois telle que l'Esca, représentent une menace croissante pour les vignobles du monde entier. L'Esca est une maladie complexe, impliquant une interaction entre les communautés microbiennes colonisant le tronc, les facteurs environnementaux et l'impact des toxines et/ ou des désordres vasculaires sur les rameaux, ce qui se manifeste par l'expression de symptômes foliaires. Le photosystème de l'Esca peut être abordé selon deux perspectives. La première est une approche systémique de l'Esca, englobant toutes les formes de maladies du bois qui se traduisent par une variété de symptômes foliaires, allant du BDA à

l'esca et pouvant conduire à l'apoplexie. Cette approche est d'ordre agronomique et est renforcée par des études sur les communautés microbiennes colonisant les plantes saines ou symptomatique. Les pathogènes responsables des maladies du bois sont régulièrement isolés des ceps présentant des symptômes foliaires ou apoplectique : *Phaeoacremonium spp.*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Eutypa lata*, *Fomitiporia mediterranea*, et les *Botryosphaeria spp.* (M. ROMAIN PIERRON, 2015).

Selon la maladie considérée, les méthodes de lutte préconisées peuvent varier. Cependant, compte tenu des caractéristiques de ces pathosystemes, les méthodes prophylactiques comme les seules recommandées. (EmilieBruez, 2013).

Pour surmonter cette difficulté, il est nécessaire de développer de nouvelles recherches afin de découvrir de nouveaux biocides, dont certains sont basés sur l'utilisation d'extraits de plantes. (Isman, 2001).

Les extraits végétaux sont une alternative intéressante et une source d'inspiration importante pour de nouveaux produits biologiques en raison de leurs composants actifs et métabolites secondaires tels que les tannins, les alcaloïdes, les flavonoïdes et les huiles essentielles. Ils offrent des possibilités intéressantes pour la création de produits innovants. (Benarous, 2006)

Actuellement, l'isolement d'agents bioactifs à partir de plantes est l'un des domaines de recherche les plus intensifs pour démontrer l'activité physiologique d'une plante.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'un projet de fin d'étude «Étude de la microflore colonisant le bois des ceps de vigne atteinte par l'Esca :

Les objectifs tracés de notre étude consistent en :

- ✓ D'étudier la diversité des champignons à l'intérieur des ceps exprimant des symptômes foliaires d'Esca.
- ✓ d'isoler et d'identifier les principaux champignons pathogènes responsables des maladies du bois de la vigne, notamment l'Esca, dans un vignoble de la région de Bir tota (Alger).
- ✓ Ensuite et dans le but de vélarisation d'une espèce spontanée et élargir les méthodes de lutte biologique pour conserver l'environnement. nous avons étudié l'effet de huit HE extraite de plante aromatique de romarin a été évalué sur la croissance mycélienne de trois champignons, *phaeocromonium sp* et *botryospharea sp* sont des champignons causals de l'Esca de la vigne et un

champignon non identifiant ces champignon sont isoler partir des ceps symptomatiques.

Notre document est constitué de quatre chapitres dont :

- Le premier englobe des généralités sur la vigne, ses caractéristiques, et l'importance mondiale du patrimoine viticole.
- Le deuxième chapitre, est consacré à l'étude des principales maladies qui touche la vigne.
- Le troisième chapitre, est consacré à l'étude de maladie de bois l'Esca de la vigne, les agents fongiques impliqués, ainsi que les méthodes de lutte connus pour limiter l'agressivité de cette maladie.
- Le quatrième chapitre rassemble la présentation de site d'étude, les prospections sur terrain et le matériel et les méthodes utilisés pour l'isolement et l'identification des champignons. Ainsi que la méthodologie utilisée pour réaliser les tests antifongiques.
- Le cinquième chapitre, englobe tous les résultats trouvés dans notre recherche et des discussions qui s'achèvent par une conclusion générale et ses perspectives.

**Chapitre I :**  
**Généralité sur la vigne**

**I.1. Historique et origine de la vigne**

De tous les plantes cultivées par l'homme, la vigne est en effet celle qui lui est devenue la plus proche, celle en qu'il a mis le plus de lui- même. ( **Mayaud, 1998**).

La viticulture est présente chez l'homme depuis le deuxième millénaire avant Jésus-Christ, comme en témoigne les résidus de vin dans les jarres néolithique (**McGovern et al., 1996**).

Principalement distribuée dans le genre *vitis* dans hémisphère au nord, seul *vitis vinifera L.* est originaire d'Eurasie (**This et al., 2006**). La Mésopotamie serait le berceau de la domestication de cette espèce dont la culture sera diffusée sur quasiment tous les continents. Elle apparaît dans de nombreuses sections de l'étude naturaliste de Pliny l'Ancien (**Bostock et al., 1855**). L'expansion géographique de la vigne suivie par la colonisation grecque, l'Empire romain, et des égyptiens. Les missionnaires chrétiens étendront ensuite la diffusion de *vitis vinifera L.* aux Amériques.

Mais également en Australie, en Nouvelle-Zélande ainsi qu'en Afrique du nord (**This et al., 2006**), tandis que le vignoble Sud-Africain sera dû à une colonie protestante contrainte à l'exil suite à la révocation de l'édit de Nantes en 1685 (**Estreicher, 2014**).

**I.2. Présentation d'espèce végétale****I.2.1. Particularités anatomiques de bois de la vigne**

La vigne, en tant que plante ligneuse, possède un système de défense similaire à celui des arbres. Cependant, elle présente des adaptations fonctionnelles spécifiques afin d'optimiser le transport de l'eau et de limiter les phénomènes de cavitation qui peuvent entraîner des embolies vasculaires (**Putz et Mooney, 1991**). Le cambium est une couche de cellules méristématiques responsables de la formation du xylème secondaire et du phloème. La croissance du phloème est centrifuge, contrairement à celle du xylème. Ainsi, la couche de tissu la plus ancienne se trouve progressivement en périphérie du tronc, se dégrade et contribue à la formation de l'écorce (**Raven et al., 2003**). Chaque année, une nouvelle couche de tissu xylème secondaire et phloème est produite. Le cambium joue donc un rôle clé dans le développement annuel de nouveaux tissus vasculaires et la régénération des différentes couches qui composent le tronc des **ceps** (**Crespy et Pott, 2003**).

### **I.2.2. Description et classification de *vitis venefira***

Les cépages cultivés pour la cuve ou pour la table appartiennent à peu d'exceptions près à l'unique espèce européenne *vitis venefira* L. celle-ci n'est toutefois qu'un des nombreuses espèces de *vitis* connus dans le monde.

Les classifications récentes du genre *vitis* (**wans et al., 2008**) répertorient ces espèces en trois groupes principaux, en suivant notamment le classement proposé par **planchon (1878)** et **Galt (1988)**, qui se basent sur leur aire naturelle de répartition géographique.

La systématique de groupe de *vitis* asiatique a beaucoup évolué ces dernières années avec la découverte récente de nombreuses espèces (**wan et al., 2008**). Près de quarante sont actuellement répertoriées, couvrant de vastes aires géographiques avec un climat subtropical à continental. (**Viret et Gindro, 2014, p16**).

*Vitis vinifera* L., étymologiquement « vigne donnant du vin », est la seule espèce indigène du genre *Vitis* en Europe et Asie occidentale. Deux sous-espèces peuvent être distinguées : *Vitis vinifera* L. ssp. *sylvestris* (Gmelin) Hegi qui relève du compartiment sauvage, et *Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera* Hegi DC qui constitue le compartiment cultivé-domestiqué et donc correspond à l'ensemble des cépages (variétés cultivées ou cultivars). *Vitis vinifera* comprend environ 6000 cépages (cuve, table et usage mixte) dont à peu près 400 présentent un intérêt économique et commercial (**Galet, 2000**).

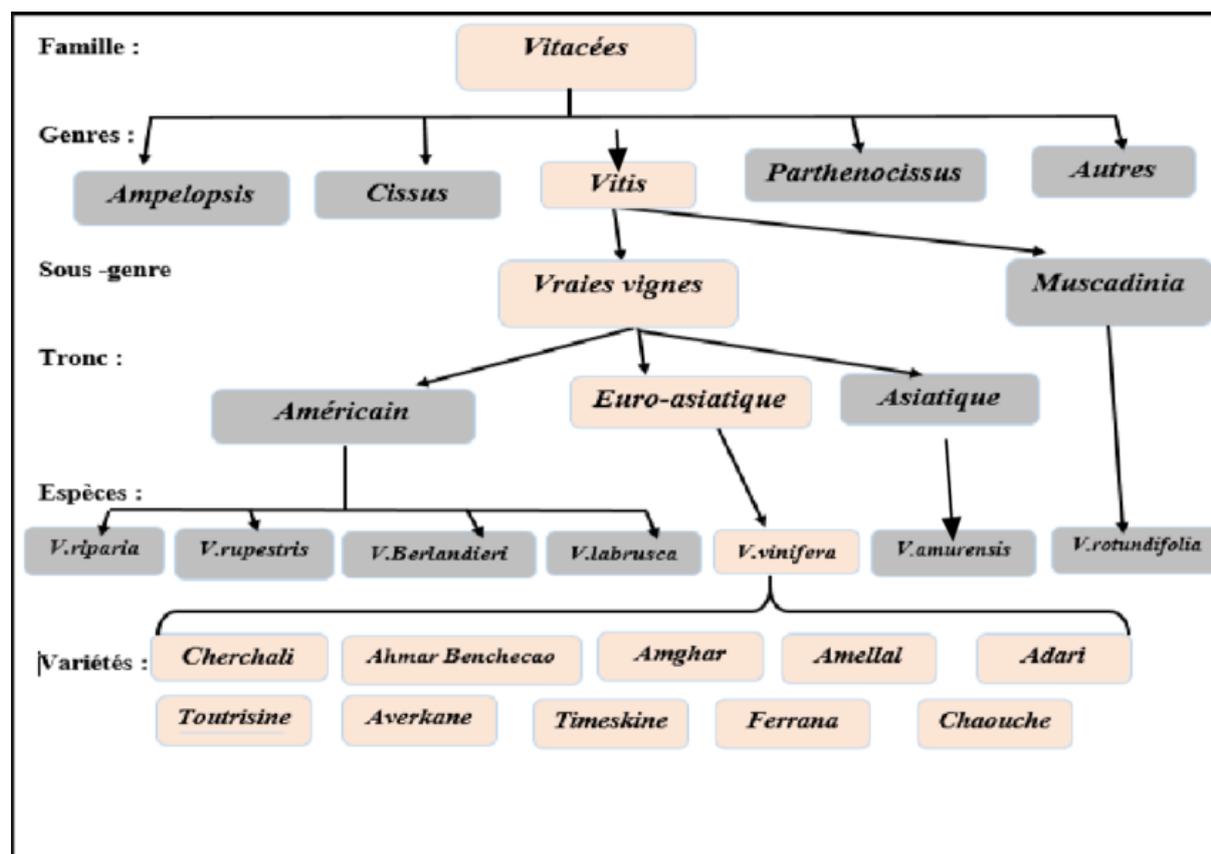


Figure 1 : Classification botanique de la vigne.(Reynier, 2016).

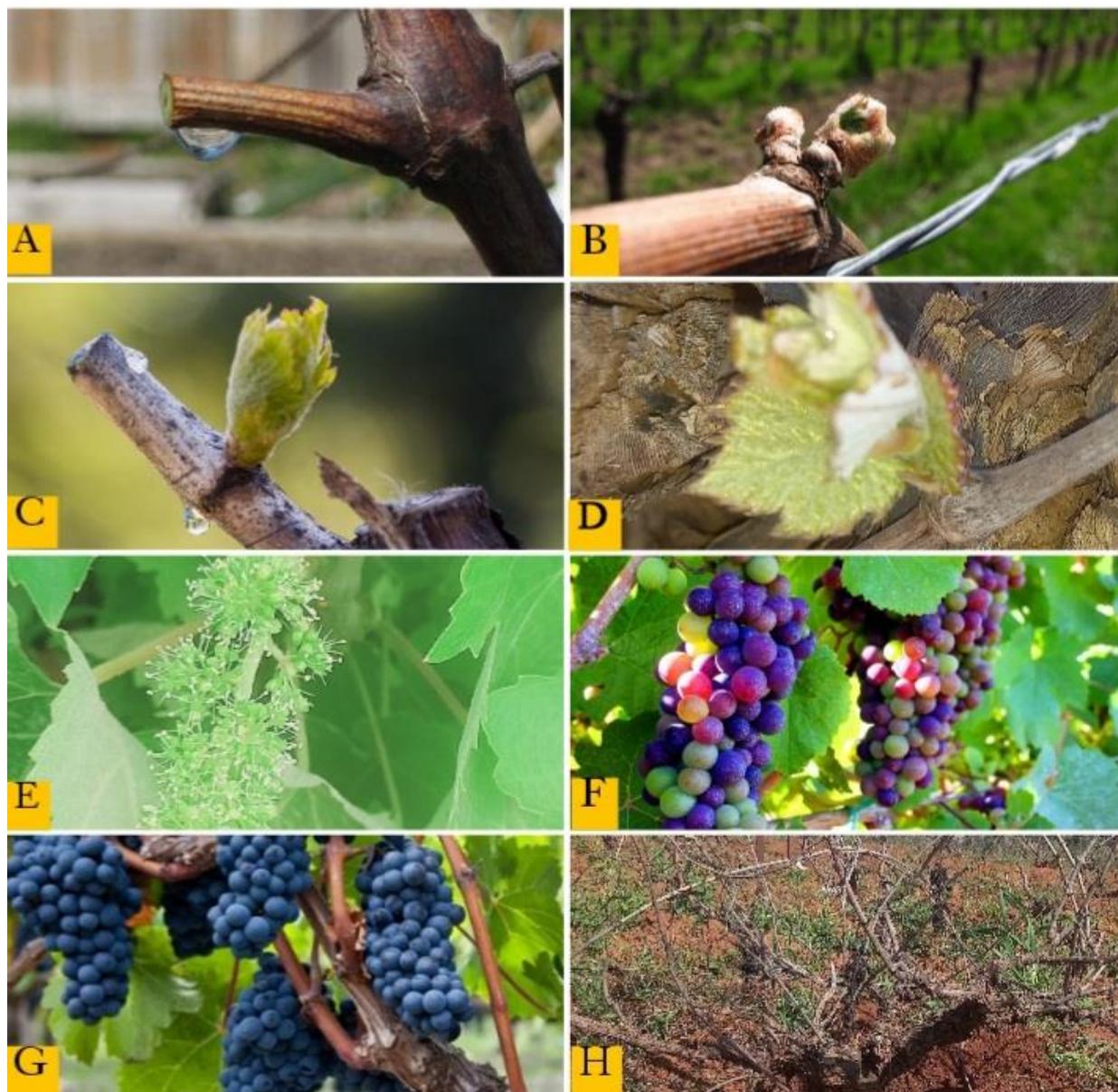
### I.2.3. Le cycle de développement de la vigne

Le cycle de vie de la vigne est caractérisé par deux grands cycles : le cycle végétatif de la vigne et le cycle reproducteur.

#### I.2.3.1. Cycle végétatif

Le cycle végétatif de la vigne comporte plusieurs repères schématisés ci-dessous. Il assure la pérennité de cep grâce au développement de son appareil végétatif. Pendant l'hiver, la vigne perd ses feuilles et entre en dormance, de novembre à février, période pendant laquelle la sève ne circule pas dans la plante. L'augmentation des températures au début du printemps stimule la reprise de l'activité végétative, se manifestant par l'écoulement de la sève brute à travers les plaies résultant de la taille. Les viticulteurs se réfèrent à cette période comme étant celle des pleurs de la vigne (figure 2A). Le débourrement se produit avec la sortie des feuilles, marquant le début de la croissance rapide des pousses (figure 2B, C, D). (Samaali, 2012).

La pleine floraison de la vigne se produit généralement environ deux mois après le débourrement, tandis que l'aoûtement, comme son nom l'indique, débute au moins d'août et se poursuit jusqu'en novembre. Pendant cette période, il y a accumulation de réserves en amidon et en lignine dans les serments, ce qui renforce des tissu au froid. Cela permettra le début d'un nouveau cycle de développement au printemps suivant. (Galet, 2000).



**Figure 2:** Stades phénologiques repères de la vigne. Débourrement « la vigne pleure » (A) (carol, 2007), Débourrement « gonflement de bourgeon » (B) (Stef, 2019) Débourrement « pont vert » (C) (becart et lacroix, 2022), Développement des feuilles (D) (Original), la floraison (E) (original), la véraison (F), pleine maturité (G), et la chute des feuilles (H) (original).

### **I.2.3.2. Cycle reproducteur**

#### **I.2.3.2.1. La reproduction sexuée**

Le cycle reproducteur de la vigne est biennuel, car l'initiation florale dans les bourgeons latents se produit environ un an avant la floraison. (YACOUB, 2015).

Le cycle reproducteur conduit à la formation de fleurs (figure. 2E), suivies de fruits sur la vigne. Temps la différenciation des bourgeons floraux varie selon la variété et l'état climat. Elle survient généralement entre avril et juin lorsque les boutons floraux se réactivent. Les vignes se reproduisent naturellement par fertilisation croisée. Quand les fleurs fleurissent, le pollen, très léger, souffle à d'autres fleurs par le vent. Le début du développement ovarien, également connu sous le nom de « nouaison », suivi de la croissance les baies sont mélangées avec de l'eau et des acides organiques dans la vacuole cellulaire. La véraison se produit en août et se caractérise par le changement de couleur du raisin est due à l'accumulation de pigments. Maturité les baies (figure. 2G) sont entièrement issues de la croissance cellulaire. La récolte des raisins, ou vendange, se déroule généralement en septembre et/ou octobre et elle est effectuée manuellement ou mécaniquement. La chute des feuilles à l'automne marque le début de la période de repos végétatif de la vigne (figure. 2H). En fonction des soins qui lui sont prodigués et des conditions climatiques, la vigne peut vivre plusieurs dizaines d'années (Samaali, 2012).

### **I.2.4. Les exigences climatiques de la vigne**

L'agriculteur est l'un des secteurs les plus sensibles au climat, Le changement climatique est devenu un enjeu majeur pour les vignobles français, avec des effets sur la phénologie de la vigne, les rendements viticoles, les caractéristiques des raisins et des vins, les risques et résultats économiques, ou même la localisation des vignobles. (Touzarda., et al 2020).

#### **I.2.4.1. Le rayonnement solaire**

Le rayonnement solaire, dans sa partie visible (rouge et bleu), constitue la principale source d'énergie pour la photosynthèse. La partie non visible du rayonnement solaire comprend des ondes telles que les ultraviolets(UV) qui ont un effet mutagène sur les plantes, ils stimulent leurs mécanismes de défense via l'activation de gènes et l'accumulation de flavonoïdes, mais participent pour une part important à l'arome final du vin. (AGENIS-NEVERS, 2006).

**I.2.4.2. L'eau**

La vigne, dont la culture s'est initialement développée dans le bassin méditerranéen, est traditionnellement considérée comme une plante résistante à la sécheresse. Son aptitude à endurer un manque d'eau provient de la grande capacité de son système racinaire à explorer le sol en profondeur. L'absorption de l'eau par les radicelles et son transport dans la plante constitue un processus passif, lié à des phénomènes de diffusion de molécules à travers un réseau vasculaire particulièrement bien adapté. Les caractéristiques chimiques et nutritives (éléments minéraux, eau, pH) des sols sont également susceptibles d'être nuisibles sur la croissance racinaire. La racine est cependant hétérotrophe et ne peut croître et exercer ses fonctions (absorption et transport d'eau et de minéraux, synthèse d'hormones et stockage de glucides et de minéraux) que si elle reçoit des substrats respiratoires (sucres, acides organiques et aminés) de la partie aérienne qui les synthétise (photosynthèse foliaire). (ZUFFEREY et al., 2022).

**I.2.4.3. La température**

L'augmentation de la température va s'accompagner d'un changement du régime des pluies et des besoins en eau des cultures. La variabilité du climat et les événements extrêmes (vagues de chaleurs, pluies intenses. . .) devraient aussi s'accroître. Cette augmentation est provoquée des changements observables sur :

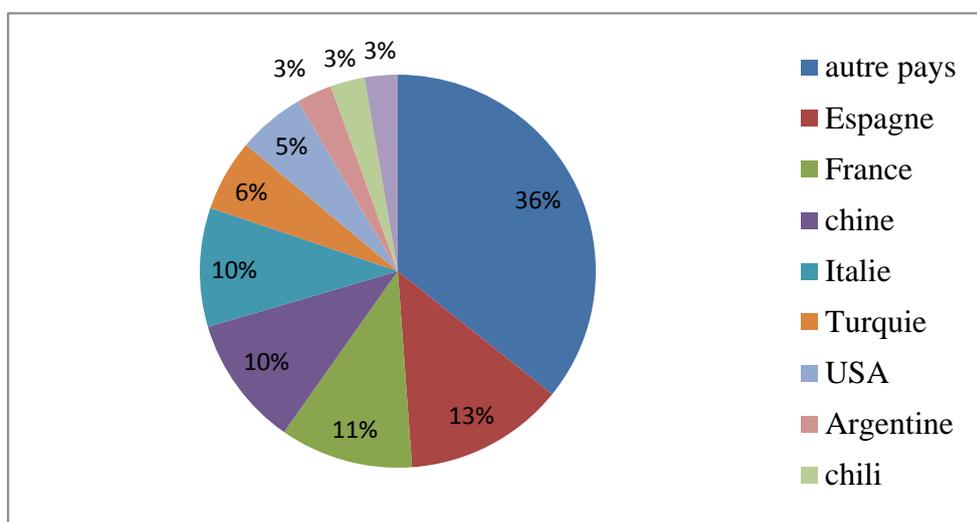
- La physiologie de la vigne : avancement de sa phénologie (floraison et la véraison) et de période de récolte.
- Augmentation du degré alcoolique.
- Baisse de l'acidité de raisin à la récolte.
- Modification de profil aromatique et poly phénolique
- Une augmentation de la pression de maladies cryptogamiques est à envisager notamment dans les vignobles septentrionaux. (Aigrain et al., 2020).

**I.3. L'importance de la viticulture****I.3.1. Au monde**

La vigne est l'arbre fruitier le plus cultivé au monde avec près de 7,65 millions d'hectares en 2009 (Rotter et al., 2009).

La vigne c'est une culture majeure, qui a une importance socioéconomique au niveau mondial, selon les statistiques de l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV), en 2017, la surface totale cultivée en vigne dans le monde atteint 7,4 millions d'hectares (-0,5% par rapport à 2016), avec une production mondiale de vin de 250 millions

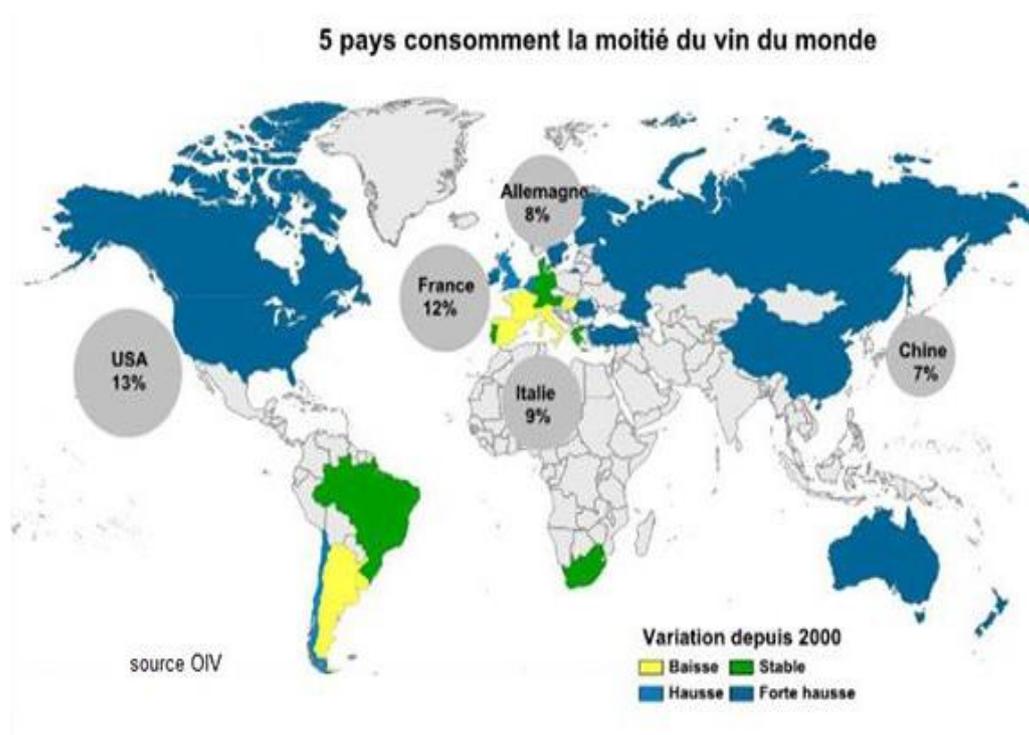
d'hectolitres (-7%). L'Espagne est avec la France et l'Italie, l'un des principaux pays viticole au monde, tant par la surface et la diversité de ses vignobles, que par leur histoire ou le volume de leur production.



**Figure 3:** Principaux pays producteurs de la vigne au monde selon (OIV) en 2020.

### I.3.1.1. Production vitivinicole mondiale

Selon OIV 2022, La production mondiale de vin 2021, excluant les jus et les mouts, est estimée en 260 millions d'hectolitre (Miohl), ce qui représente une diminution d'environ 3Miohl (-1) par rapport à 2020. Cette légère baisse de la production mondiale de vin en 2021 peut être associée principalement à deux effets opposés : la chute brutale observée dans certains grands pays producteurs de vin de l'UE et les excellentes récoltes ayant stimulé les niveaux de production de la plupart des pays de l'hémisphère Sud – compensant cette chute à l'échelle mondiale. Dans l'ensemble, la production mondiale de vin de 2021 peut être définie, pour la troisième année consécutive, comme en-deçà de sa moyenne décennale.



**Figure 4:** Carte de distribution géographique des pays consomment la moitié du vin du monde, selon OIV.

### I.3.2. Superficie et production viticole algérienne

D'après (Saraoui, 2006), la viticulture en Algérie forme la 4<sup>ème</sup> culture pérenne sur le plan de surface et représente le 2<sup>ème</sup> poste à l'exportation. Les zones viticoles sont principalement situées dans le nord du pays, Ces zones comprennent : Arzew, Mostaganem, Mascara, Sidi -Belabes et Tlemcen Ouest, centré sur Boufarik, Médéa, Blida, Chéraga et Tipaza.

Et se place plus qu'au 22<sup>ème</sup> rang au niveau mondial, (OVI, 2018).

Le développement du vignoble algérien s'est considérablement accéléré à partir de la chute du second Empire, alors que la crise phylloxérique décimait le vignoble hexagonal. Le vignoble en Algérie en culmine à 360 000 hectares dans les années 1930- 1939, avec une production de 17,2 millions hectolitre. Pour comparaison, durant cette décennie le vignoble hexagonal produit annuellement 1,53 millions hl sur millions ha. (Khalem, 2017).

**Chapitre II :**  
**Principaux maladies de vigne**

Dans ce chapitre, vous apprendrez à connaître les maladies qui affectent les vignes.

## **II. Principaux Maladies de vigne**

### **II.1. Maladies fongiques**

Les vignes sont sensibles à un large éventail d'organismes, y compris les champignons, les virus, les bactéries et les insectes. Une identification précise de ces organismes peut permettre de les prévenir et d'agir rapidement. **(Smith, J., 2022)**

Il est important de détecter et de traiter les maladies de la vigne le plus tôt possible afin d'empêcher leur propagation et de minimiser les dommages causés aux vignes et à la production. Les méthodes de prévention et de traitement dépendent de la maladie spécifique et peuvent inclure l'utilisation de fongicides, l'élimination des parties infectées de la vigne et l'utilisation de techniques culturales appropriées pour réduire le risque de maladie.

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

Le mildiou est une maladie fongique dû à un parasite obligatoire biotrophe *Plasmopora viticola*, originaire du continent américain, précisément du Nord, qui se développe sur l'ensemble des organes verts (rameaux, grappes, feuilles et vrilles) **(Dubos, 2002)**.

Cet oomycète pathogène a été la cause avec l'oïdium et le phylloxera, d'importantes diminutions des surfaces viticoles à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle. Dans les régions à climat tempéré et humide, cette redoutable maladie est responsable de dégâts économiques importants sur le plan quantitatif et qualitatif **(Viret et Gindro, 2014)**.

Les symptômes sur les feuilles se manifestent par des taches d'huile caractéristiques sur la face supérieure. Ces taches prennent la forme d'une mosaïque à la fin du cycle végétatif, Sur la face inférieure, une poussière blanche apparaît si le temps est humide ; ce sont encore des conidiospores qui portent des conidies.

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



**Figure 5:** Symptômes du mildiou sur grappes et feuilles (Xavier, 2021).

### II.1.2. Oïdium (*Uncinula necator*)

D'après Viret et Gindro (2014), cette maladie est provoquée par un pathogène biotrophe obligatoire. *Erisyphenecator* est strictement inféodé aux Vitaceae de genre *Ampelosis*, *Cissus*, *Parthenocissus* et *Vitis*. Il appartient au groupe des Ascomycètes (groupe de champignons caractérisé par la formation d'asques contenant des ascospores durant le cycle sexué).

L'agent pathogène de l'oïdium est un champignon biotrophe obligatoire, qui établit une interaction au sein des cellules infectées afin de prélever les nutriments nécessaires à la croissance fongique (SCHNEE, 2009).

Selon PEREZ MARIN(2007), c'est une maladie quasi-systématique très répandue. En effet, les dommages causés par ce champignon peuvent entraîner des pertes totales de la récolte chez les espèces sensibles dans les zones propices et dans les conditions climatiques favorables à son développement. Par de nombreux aspects, cette maladie est aussi sérieuse que le mildiou, elle est le principal parasite des vignobles chauds, mêmes elle est moins inquiétant eaux zones fraîches.

D'après CARISSE et al. (2006), les symptômes et les dégâts observés débutent par l'apparition d'un feutre blanc poudreux sur la face inférieure des feuilles. Lorsque la maladie progresse, le nombre de taches augmente et elles deviennent visibles sur les deux faces avec une crispation du bord du limbe. Sur la tige, on observe des taches étoilées qui peuvent mesurer jusqu'à quelques centimètres et qui prennent une coloration brune à noire.

Les grappes peuvent tomber, surtout lors de la récolte mécanique, et les fruits attaqués

se dessèchent après la coloration. Tous ces symptômes les rendent sensibles à la pourriture grise (Fig.2).

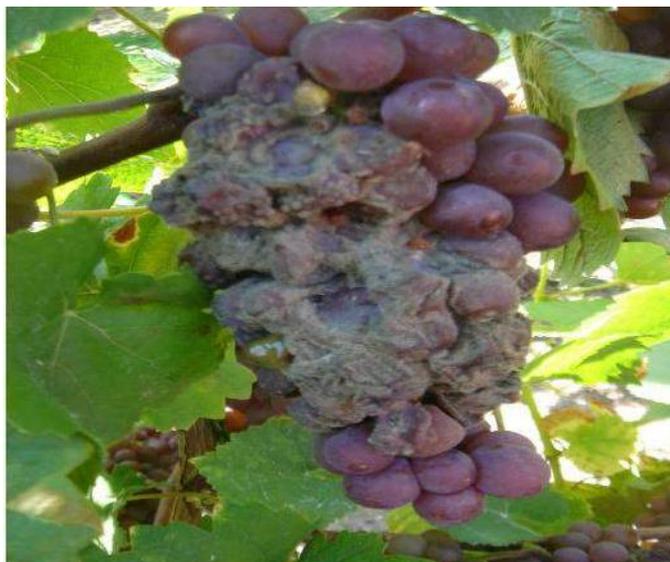


**Figure 6:** Symptômes de l'oïdium observés. sur grappes (A) et sur rameau (B) (Blancard et Corio-Costet, 2016).

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

La pourriture grise est une maladie cryptogamique qui préoccupe l'ensemble d'agriculteurs, car le champignon *B.cinerea* affecte un large éventail de plantes. dans le cas de la vigne, cette maladie se manifeste sur des organes herbacés (feuilles, rameaux, inflorescences), sur les greffe-boutures en chambre chaude de stratification (maladie de la toile) et sur les grappes (YOBREGAT, 2010).

La pourriture grise est une maladie fongique due à un champignon : *Botrytis cinerea* qui se rencontre sur de très nombreux végétaux (Simon et al., 1992). Chez la vigne le *Botrytis cinerea* se manifeste sur les organes herbacés : feuilles, rameaux et inflorescences (Reynier, 2007).



**Figure 7:** Symptômes de la pourriture grise observés sur grappe d'un cépage noir (ANONYME1, 2006).

#### **II.1.4. Anthracnose (*Elsinoëampelina*)**

**III.** La maladie est due à un champignon ascomycète *Elsinoëampelina* qui affecte dès le début de leur croissance tous les organes verts de la vigne. Elle se manifeste plus particulièrement lorsqu'il y a une présence d'humidité et de chaleur (Sbaghi, 2014).

L'anthracnose se manifeste d'abord par : de petites tâches humides sur les jeunes feuilles, de couleur brune à marron chocolats localisés souvent tout au long des nervures. Sur les jeunes rameaux herbacés, des lésions humides de forme elliptique et de teinte fluctuant entre le brun, le noir et le violet se manifestent, elles peuvent modifier le développement des jeunes pousses et donner lieu à des chancres creux plus ou moins marqués et graves. Sur les jeunes baies, des taches brunes circulaires et légèrement concaves apparaissent et perturbent leur croissance. Elles ont la forme d'un œil d'oiseau « birdseye rot » (Blancard, 2016)

##### **III.1.1. Pourriture noire ou Black-rot (*Guignardia bidwelii*)**

D'après Sbaghi (2014), le Black-rot est une maladie de la vigne causée par le champignon *Guignardia bidwelii*. Ce pathogène attaque l'ensemble des organes verts de la vigne en commençant par les feuilles. Le Black-rot se développe sur les grains de raisins, sur les jeunes sarments, le pédoncule, la rafle, le pétiole, les nervures et le parenchyme des feuilles.

Des tâches de forme circulaire et légèrement chlorotiques sont observées deux semaines après l'infection sur les feuilles les plus basses de la vigne. Des tâches allongées et

déprimées sont également visibles sur les pétioles, les pédoncules des grappes et sur les vrilles, elles sont chlorotiques avec un centre noir. Les premières tâches apparaissent à demi-véraison sur les baies, elles sont décolorées, circulaires puis déprimées. Ces tâches grandissent et prennent une couleur brun-rouge livide. La grappe peut être atteinte en totalité ou seulement en partie (**Blancard et Sorel, 2017**)

### **III.2. Maladies virales de vigne**

#### **III.2.1. Court noué**

Le court-noué est une maladie virale causée par deux types de virus : le GFLV (Grappevine Fan Leaf Virus) et l'ArMV (Arabic Mosaic Virus). Ces deux virus sont facilement identifiables par un simple test sérologique ELISA, ils engendrent les mêmes symptômes sur la vigne et sont transmis de parcelle en parcelle soit par porte-greffes et des greffons infectés soit par les nématodes du sol (le nématode *Xiphinema index* est le vecteur de transmission du GFLV ; et le nématode *Xiphinema diversicaudatum* est le principal vecteur de l'ArMV) (**Sbaghi, 2014**).

Le court-noué se caractérise par un certain nombre de symptômes :

- Les feuilles présentent des déformations importantes, les rendant asymétriques avec des dents aiguës et profondes et des sinus plus élargies (**Galet, 1993**).
- Sur les rameaux, le court-noué se manifeste par la présence de mariales court et parfois de doubles nœuds de fasciations (**Simon et al., 1992**).



**Figure 8:** Dédoublage des rameaux et des vrilles dû au court noué (**Blancard et Yanitch, 2018**).

### III.2.2. Enroulement foliaire

La maladie de l'enroulement constitue une des maladies virales les plus importantes de la vigne. Les virus de l'enroulement sont des clostero-virus transmis par le bois et les plants de vigne lors de la multiplication végétative et par des cochenilles farineuses, hémiptères piqueurs-suceurs polyphages. Les plus fréquents et les plus graves sont GLRaV (GrappevineLeafRollassociated Virus), ils provoquent une modification du métabolisme des sucres et interviennent donc en réduisant la maturation et l'aoûtement (**Reynier, 2007**).

Selon **Sbaghi (2014)**, les symptômes de cette maladie se manifestent par un enroulement des bords des feuilles, une décoloration des limbes (rougissement chez les cépages rouges, jaunissement chez les cépages blancs) et les nervures restant vertes, une perturbation de la photosynthèse, un retard de maturation et des pertes quantitatives et qualitatives de la récolte.

**Chapitre III :**  
**Dépérissement de la vigne : cas**  
**d'ESCA**

#### **IV. Les maladies de bois de vigne**

##### **IV.1. Données générales sur le dépérissement de la vigne**

Les maladies de bois Provoquent d'importants dépérissements dans tous les régions viticoles du monde.les récents résultats obtenus montrent qu'une association stricte entre les symptômes et des espèces spécifique de champignons est très difficile a établir.

Les champignons des MDB sont considérés comme des pathogènes latents, même si leur mode d'action n'est pas encore clairement élucidé. Les facteurs pédoclimatiques (précipitations, réserve en eau des sols), culturaux (systèmes de taille, entretien des sols) et variétaux (sensibilité des cépages) semblent également impliqués dans l'incidence et la sévérité des MDB (**Surico et al. 2006; Bertsch et al. 2013**). Il n'existe actuellement aucun moyen de maîtriser ces maladies. Il est donc urgent de trouver les facteurs responsables de leur émergence afin de pouvoir les contrôler. (**HOFSTETTER et al., 2017**).

Le dépérissement de la vigne causée par des ascomycètes filamenteux. Ces derniers colonisent la charpente de ceps, provoquant la dégradation du tissu vasculaire végétal et la production de toxines circulantes. La propagation de ces maladies d'une plante a l'autre se fait par la désamination aérienne des spores, qui profitent alors des plaies réalisées pendant la taille pour pénétrer les tissus de l'hôte. L'expression de ces maladies nécessite une période d'incubation de plusieurs années et les travaux menés au cours de la dernière décennie ont montré que les agents pathogènes associés à l'Esca et au syndrome du Black Dead Arm sont présents dans la microflore du bois de jeunes plants dès leur plantation. (**POUZOLET, 2012**).

Le bois est compose a plus de 90% de cellulose, hémicellulose et de lignine. Nous distinguons la pourriture brune et la pourriture blanche selon les produits de dégradation : les champignons de la pourriture blanche dont des basidiomycètes qui dégrade la cellulose, hémicellulose, et plus particulièrement la lignine, tandis que les champignons de la pourriture brune sont des ascomycètes ne dégradent que la cellulose et l'hémicellulose. (**Farine et al**)

Le présent travail a pour but la caractérisation morphologique d'une collection des champignons et leur localisation aux niveaux de bois, isolés à partir de ceps présentant des symptômes typiques d'Esca.

##### **IV.2. Syndrome d'ESCA**

###### **IV.2.1. Présentation de l'Esca**

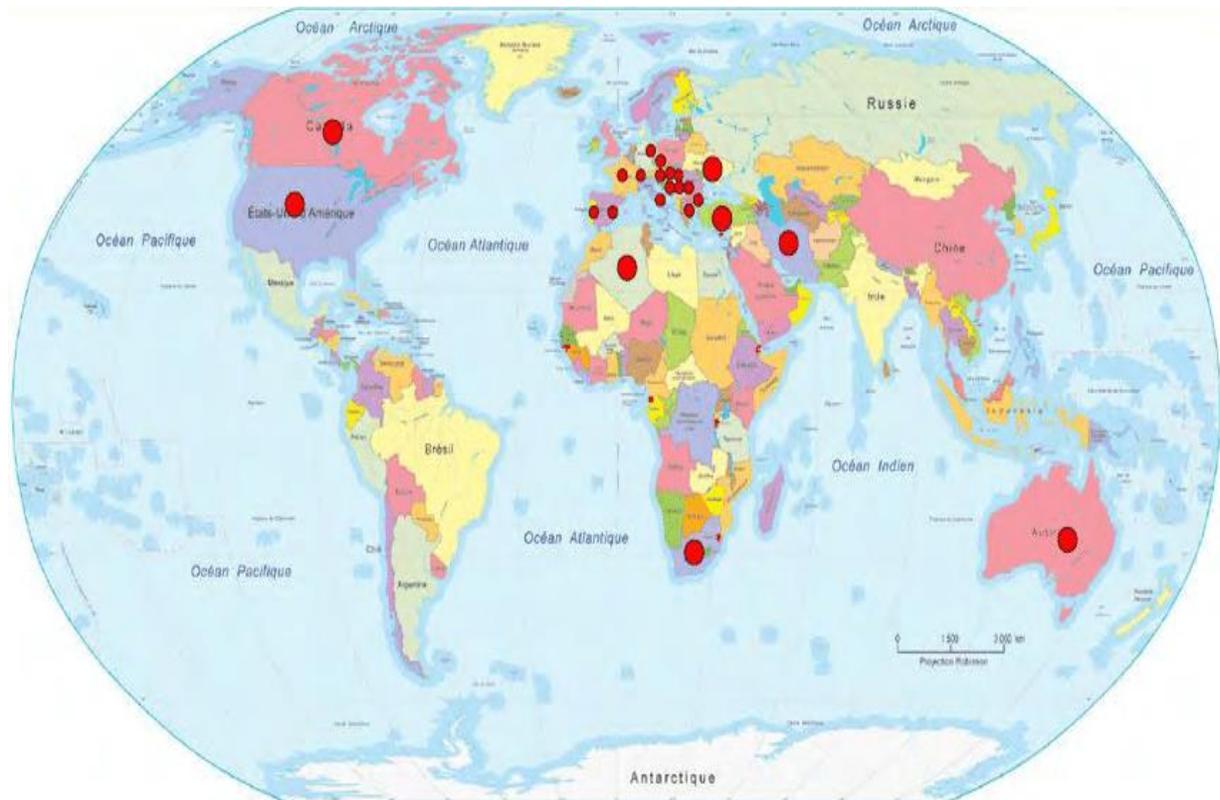
ESCA c'est la plus anciennes des maladies décrites sur la vigne puis quelle était connus des grecs et des romains. Elle sévit dans tous les pays. Il s'agit d'une des plus graves

affections de cette plante car elle s'attaque à la charpente de la souche dont elle provoque la mort à plus ou moins court terme. (dubos, 2002, p127).

Elle se manifeste de plus en plus sur de jeunes plantes, qui abritent les mêmes espèces fongiques dominantes que les vieux ceps. Au cours de l'histoire, le dépérissement de vigne, a été désigné sous différents termes : folletage, maladie de pétri, black measles, black goo, brown woodstreaking ou Esca. Faire la distinction entre l'Esca et les autres maladies de bois n'est pas toujours évident, les espèces fongiques isolées du bois malade étant nombreuses. Certaines espèces décrites par le passé, comme les basidiomycètes *stereum hirsutum*, *stereum macrotrematis* et *fomes* (synonyme de *phellinus ignarius*), ne semblent pas jouer un rôle déterminant dans le syndrome d'Esca même si elles sont présentes dans les souches atteintes. L'Esca résulte de l'action d'une succession de champignons, parmi lesquels certains sont des colonisateurs opportunistes ou secondaires. Il est actuellement admis que le syndrome de l'Esca est dû à *phaeoacremonium aleophilum*, *phaeomoniella chlamydospora* et *fomitiporia mediterranea*. (viret et gindro, 2014p162)

Les champignons impliqués dans les maladies du bois ont seulement été trouvés dans le bois mais jamais à partir de feuilles symptomatiques, il a été émise l'hypothèse que les symptômes visibles sur les feuilles et les baies résultent de la migration de toxines produites par des champignons depuis le bois. De récentes études de toxicité des composés extracellulaires totaux ainsi que des protéines produits par les deux principaux champignons associés à *botryosphaeria dieback* montrent que ceux-ci induisent des nécroses ainsi que l'expression de gènes de défense. (Ramírez-Suero et al., 2014 et Benard-Gellon et al., 2015).

Les symptômes externes comportent des nécroses très caractéristiques entre les nervures des feuilles et le dessèchement d'une partie ou de l'ensemble des rameaux. Le terme « apoplexie » est utilisé lorsque l'ensemble du cep est concerné par un dessèchement brutal survenant généralement au cours d'une période chaude. À l'intérieur du tronc, le bois présente différentes nécroses dont une lésion claire et tendre, appelée amadou. L'interdiction de l'emploi de l'arsénite de sodium en Europe, seul traitement chimique capable de limiter l'Esca au vignoble (HEWITT, 1952; DESACHE et al., 1995).



**Figure 9:** Carte de distribution géographique d'Esca dans le monde. (Larignon , 2016).

#### IV.2.2. La symptomatologie

D'après Larignon., (2009). Les symptômes de l'Esca apparaissent sporadiquement des le mois de juillet sur des ceps isolés ou dans des zones bien délimitées du vignoble. il existe une forme foudroyante menant à l'apoplexie du cep et une forme lente de dépérissement, de type chronique, essentiellement marquée par des symptômes foliaires sur certains rameaux ou sur l'ensemble de la plante.

Selon la nature et l'évolution des symptômes de dépérissement, l'Esca représente deux formes différentes : la forme lente et la forme foudroyante.

##### IV.2.2.1. La forme foudroyante

En Algérie, des cas d'apoplexie avaient été signalés par **DEBRAY (1892)**, mais la description des symptômes ne permet pas de savoir s'il s'agissait d'Esca. (**BERRAF et PÉROS, 2005**).

Selon **Surico et al., (2006)**, Cette forme se manifeste par un dessèchement des organes aériens, rameaux, feuilles et grappes, d'une partie ou de la totalité du cep de vigne en l'espace de quelques heures ou en quelques jours. Ces symptômes apparaissent consécutivement à une pluie d'orage ou à un excès d'eau dans le sol associés à des températures très élevées et à un vent chaud sans symptômes foliaires annonciateurs. Ces conditions climatiques

engendreraient chez le végétal un déséquilibre entre l'absorption de l'eau et la transpiration, ce qui serait parfois fatal chez les vignes atteintes par l'Esca.

**Maher et al. (2012)** Ont montre que les ceps exprimant cette forme presseraient une altération plus importante du volume de bois fonctionnel au niveau des bras et du tronc, par rapport aux ceps exprimant la forme lente ou asymptomatique.

Cette forme de dépérissement spectaculaire et irréversible est la plus facile à identifier.



**Figure 10:** Symptôme de la Forme apoplectique de l'Esca : dessèchement total de cep. (Original).

#### IV.2.2.2. La forme lente

Cette forme se manifeste essentiellement sur les feuilles. Les feuilles présentent une coloration verte pale qui évolué dans les zones situées entre les nervures, entraînent le rougissement des cépages noirs (figure 11B), et des jaunissements chez les cépages blancs (figure 11C), ce qui confère un aspect marbre au feuillage. (**Galet, 1999**).

Les premiers symptômes foliaires se manifestent dans différentes régions entre la fin du mois de juin et la mi-juillet, et persistent tout au long de période végétative. Au vignoble, ils se présentent sous la forme de digitations jaunes sur les cépages blancs et de digitations rouges bordées de jaune sur les cépages rouges. Ces décolorations entre les nervures évoluent progressivement en un brunissement et un dessèchement des feuilles (**Bruez, E et al., 2011**). Les symptômes foliaires de la forme lente ne se manifestent pas de manière systématique d'une saison à l'autre sur les ceps contaminés, ce qui peut les rendre latents (**Maher et**

al.,2012). Dans le bois des ceps présentant des symptômes, on peut observer différents types de nécroses (Larignon et Dubos, 1997).

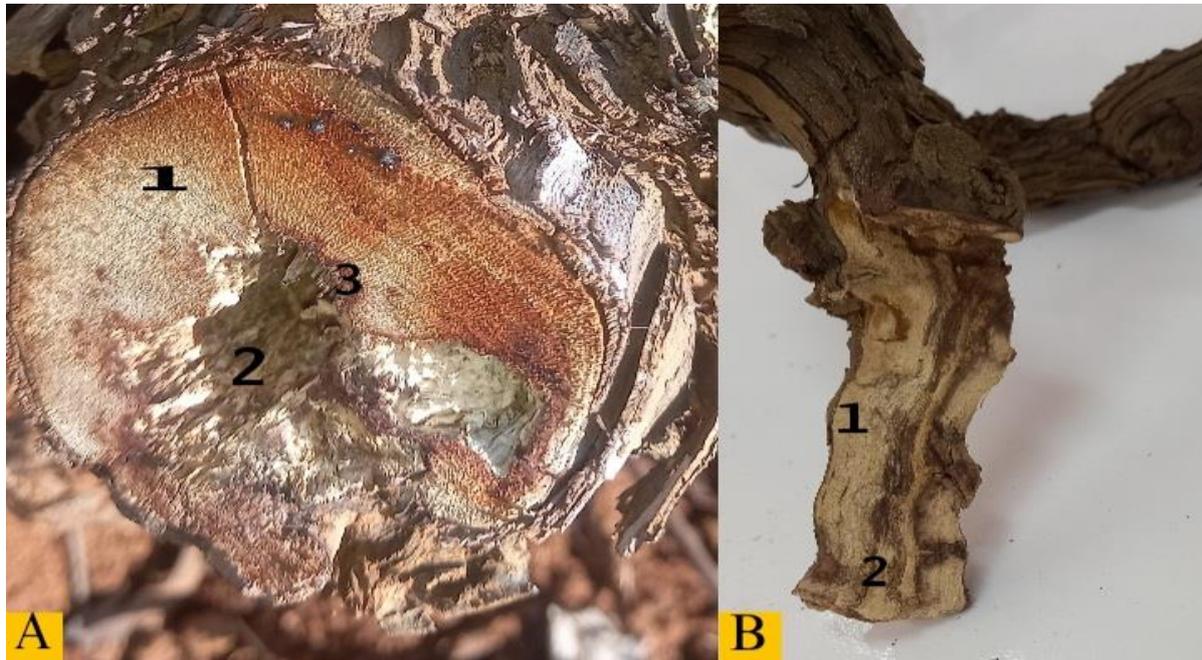
Il décrit aussi les symptômes sur le raisin. (figure11D), Les fruits subiront le même sort des fruits, sil sont verts, ils se flétrissent et se dessèchent plus lentement que celles- ci en passant par le vent a la teinte rouge brique sale, sils ont verrés ou presque murs, cas plus fréquent, leur dessiccation est encore moins rapide, le jus est moins sucre et a acidité très réduit (laringo, 2016).



**Figure 11:** Symptômes foliaires associés à la forme lente de l'esca (A) (Original), sur cépage noir (B) (laringo 2016), et sur cépage blanc (C) (Original), flétrissement des baies (D) (Original).

La forme lente de l'Esca est associée à différentes nécroses dans le bois P. (Larignon et al., 2009).

Au niveau de tronc et les bras des ceps malades (Figure 12), les symptômes généralement apparaissent sont les stries brunes apparaissant sous forme de ponctuations noires organisées de manière concentrique en coupe transversale, décoloration centrale dure de couleur brune/rose, sécrétion de gommés par les tissus infectés, et pourritures molles de couleur jaune claire (Mugnai, Graniti, and Surico, 1999; Surico, Mugnai, and Marchi, 2006).



**Figure 12:** (A), Une coupe transversale d'un cep malade permet d'observer différents symptômes au niveau du tronc : (1), bois sain. (2), la pourriture blanche (amadou). (3), un liseré noir. (B), coupe longitudinale d'un rameau, (1), bois sain. (2), bois nécrosée brune et dure. (Original).

L'analyse d'une coupe transversale dans le tronc des ceps dépérissants montre l'existence, dans la partie supérieure, de deux nécroses différentes, caractéristiques de l'Esca. (Larignon, 1991).

Ces nécroses distinguent par leur position et par le nombre de zones qui les constituent :

- Nécrose en position sectorielle comprend deux zones (figure 13B) :  
Une zone brune à texture dure qui délimite une zone claire et tendre.
- Nécrose en position centrale comprend trois zones (figure 12A) :

Une zone claire et tendre, spongieuse de couleur blanche-jaune (amadou), séparée d'une zone brun-rose à texture dure par un liseré de couleur noir.



**Figure 13:** (A), nécrose brune et dure en position sectorielle (B), nécrose claire et tendre en position sectorielle. (Larignon, 2016)

#### IV.2.2.3. Les désordres vasculaires du bois externe

Les symptômes foliaires d'Esca sont associés régulièrement avec un symptôme vasculaire très particulière, il s'agit d'une décoloration des vaisseaux de bois. Ce sont les désordres vasculaires localisés sur des trajets de sève précis, Leur importance (nombre, longueur, largeur) semble conditionner la gravité des symptômes foliaires. Si aujourd'hui l'origine exacte de ce symptômes n'est pas connue, il est par contre très facile d'imaginer, des lors qu'un trajet de sève est altéré ou rompu, que la partie foliaire lui correspondant présente des décolorations, assèchements ou flétrissements en relation avec l'importance de la perturbation de l'alimentation en sève. (Lecomte et al., 2014)

#### IV.2.3. Particularités des agents pathogènes : le syndrome ESCA

##### IV.2.3.1. Microorganismes impliqués dans le syndrome d'ESCA

Comme mentionné précédemment, l'Esca est traditionnellement attribuée à la fois champignons carnivores : *stereum hirsutum* et *phellinus igniarius*. Actuellement, divers travaux réalisés en France (Péros et al., 2000), Italie (Mugnai et al., 1996), Turquie (Erkan, 2000), Australie (Pasco, 1998), Californie (Chiarappa, 2000), Suggèrent qu'un grand microbiome est associé à la maladie : *botryosphaeria*, *penicillium*, *Alternaria*, *Gliocladium*, *Aspergillus*, *phomopsis*, *Mycelia sterilia* et même certains agents bactériens parmi ces champignons, certains peuvent tout simplement saprophytes ou parasites secondaires qui poussent dans le bois déjà infesté les espèces responsables de l'Esca. (Ferreira et al., 1989 ; Galet, 1999 ; Dubos, 2002).

Cependant les champignons sont le plus souvent les principaux isolés des vignes mortes sont : *Eutypa lata*, *phaeomonielle chlamydospora*, *Phaeoacremonium aleophilum*, , *Stereum hirsutum*. (BERRAF- T, 2004).

#### IV.2.3.2. Processus de dégradation du bois par les champignons impliqués dans le syndrome de l'Esca

Pour le syndrome d'Esca, il se répartit en deux séquences dans le processus menant à la dégradation du bois :

a). Le premier processus conduit à la formation d'une nécrose centrale de texture tendre et de couleur claire, fait intervenir trois champignons:

- Une colonisation primaire du bois par *phaemoniella chlamydospora* observer se forme de ponctuation noire. En suite il ya formation d'une petite nécrose à partir de la moelle de couleur rose due à *Phaeacremonium aleophilum*. Cette nécrose va se développer et se mélanger avec les ponctuations noires, pour former la nécrose brune et dure en position centrale.
- La colonisation primaire semble être une étape nécessaire pour l'installation secondaire de *Fomitiporia mediterranea*, responsable de dégradation du bois caractéristique de l'esca (la pourriture blanche).

b). le deuxième processus qui conduit à la formation d'une nécrose claire et tendre en position sectorielle, fait intervenir figure

- *Eutypa lata*, est responsable de la nécrose brune et dur, située dans la partie inférieure du tronc.
- *Fomitiporia punctata* qui, est responsable de la pourriture blanche. Il dégrade le bois déjà colonisé par *Eutypa lata*, responsable de la nécrose brune et dure en position sectorielle. (dubos, 2002 p131).

Le champignon, *Eutypa lata*, est également considéré comme pionnier dans ce processus. Le rôle exact de ces champignons n'est cependant pas connu, notamment sur leur responsabilité dans l'expression des symptômes. (Iarignon et ITV France, 2004).

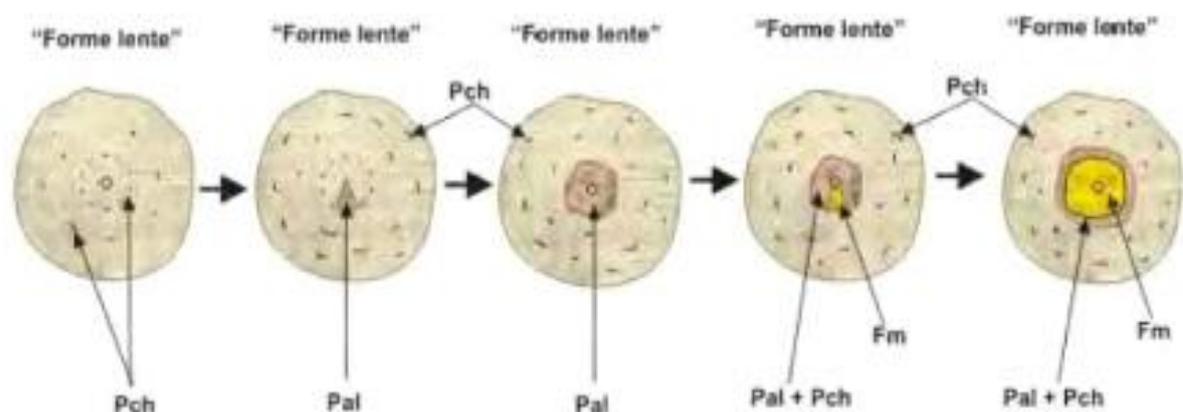


Figure 14: processus de dégradation de bois(ESCA). (Iarigo, 2009).

#### IV.2.4. Biologie et systématique des champignons associés à l'Esca

La maladie de l'Esca peut être provoquée par de nombreux agents cryptogamiques. En plus d'*Eutypa lata*, décrit précédemment, nous notons :

##### IV.2.4.1. *Phaeomoniella chlamydospora*

###### ❖ Systématique et Caractéristique

Le genre *phaeomoniella* est classé au sein de la famille des *Herpotrichillaceae*. Il a été récemment introduit pour désigner exclusivement l'espèce *phaeomoniella chlamydospora*, qui est impliquée dans le dépérissement de la vigne (**Crous et Gams, 2000**). Initialement, ce champignon était désigné sous le nom de *cephalosporium sp.* Et il est largement répandu dans la plupart des vignobles. (**Damm et al., 2010**)

C'est un ascomycète impliqué dans le syndrome de l'esca présent dans la plupart des vignobles, son colonisation de bois s'accompagne de la production d'enzyme et de métabolites, certains sont toxiques pour les plantes et sa vigueur.

La production de cal peut de même être inhibée par ces composés, *Phaeomoniella chlamydospora* n'est pas un champignon qui cause des cavités secondaires dans la paroi, contrairement à *Phaeoacremonium aleophilum* appartenant à la famille des champignons de la pourriture molle. (**RANÇON, 2019**).

*Phaeomoniella chlamydospora* se caractérise par des colonies de couleur vert clair à vert foncé sur milieu malt-agar. Les colonies se développent lentement avec un optimum thermique de 25°C. Les conidiophores sont renflés à leur base et pigmentés. Les conidies sont de forme oblongue à ellipsoïdale, droites et subhyalines. Leur taille est de 2,4 à 6 x 1 à 2µm ; la présence de chlamydospores est caractéristique de cette espèce (**Crous et Gams, 2000**).

###### ❖ Cycle biologique

Est un champignon de dissémination aérienne qui pénètre par les plaies de taille, se conserve sous forme de pycnides ou sous forme de mycélium (**larignon et al., 2015**),

D'après **Crous et Gams (2000)**, cette espèce est caractérisée par des colonies de couleur vert clair à vert foncé sur milieu malt-agar. Les conidiophores sont renflés à leur base et pigmentés. Les conidies sont de forme oblongue à ellipsoïdale, elles sont droites, subhyalines (Figure 14). Leur 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

Au moment du pleur, les plaies ne le sont plus. Sur la phase de la plaie, les spores (unités contaminatrices) germent, le mycélium colonise les vaisseaux pour former les

nécroses qui lui caractéristique, les punctuations noires en coupe transversale et des stries noire en coupe longitudinale.

Sa source d'inoculum sous forme de pycnide (conceptacle renfermant les unités contaminatrices) est localisée sur les plaies de taille âgées, dans des zones protégées (craquelures dans le bois) ou encore sous l'écorce dans les zones ou les vaisseaux sont exposes suite a des blessures. Les pycnides sont de très petites taille (jusqu'à 70  $\mu\text{m}$  de diamètre) et invisibles a l'oeil nu et contiennent de nombreuses pycniospores de dimension très petite (1,5 – 2  $\mu\text{m}$  x 1 – 1,5  $\mu\text{m}$ ). Sa dissémination peut également se déroule pendant la période végétative de la vigne. Sa présence a été également montrée a la surface de ses différentes organes suggérant son caractères épiphyte, mais actuellement aucune information ne permet de dire si, ce sont les surface qui sont polluées lors de sa dissémination ou alors sil s'agit du champignon qui se développe a la surface des organes. (ROUSSILLON, 2004).

Ce champignon est détecté sur les lames du sécateur, cependant, aucune démonstration na été faite pour prouver qu'il entraine une contamination in natura. Traditionnellement, il était considère comme un champignon du sol, caractérisé par des structures ressemblant a des chlamydozspores et détecté dans les sols. Cependant, aucune étude na jusqu'a présent confirme sa présence dans les racines de vignes âgées. (Iarignon et al., 2015).

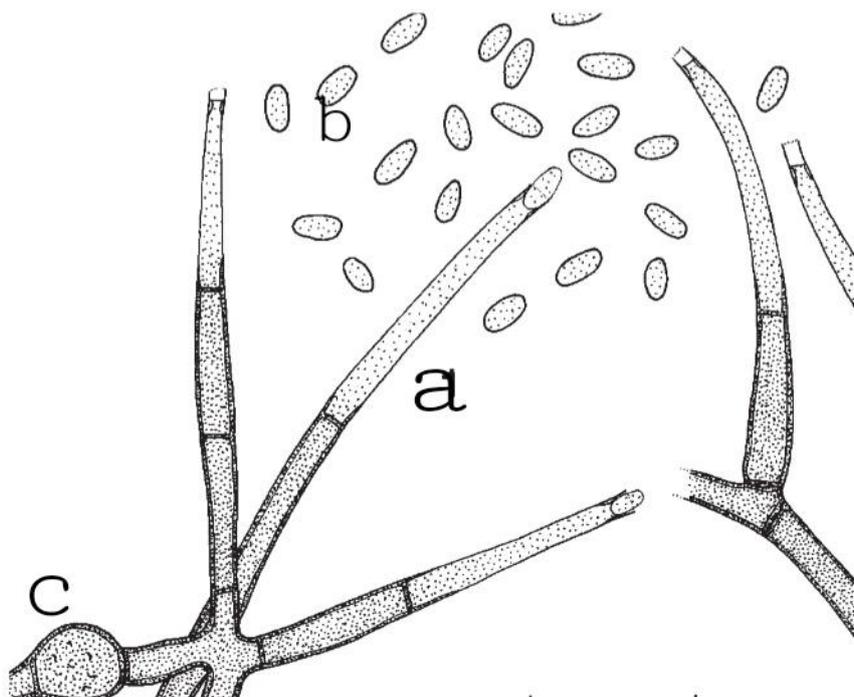


Figure 15: Conidiophores (a) conidies (b) et chlamydozspore (c) de *Phaeoconiella chlamydozspora*. (Crous et Gams, 2000).

#### IV.2.4.2. *Phaeocremonium aleophilum*

##### ❖ Systématique et Caractéristique

Fait partie des *ascomycètes* de l'ordre des *clophaeniales* et de la famille des *calosphaeriaceae*. La forme sexuée *togninia minima* a été identifiée en Australie et en Californie, mais pas sur le continent européen. (viret et gindro, 2014).

Ce champignon se développe à l'intérieure de la paroi secondaire en y provoquant la formation de cavité pour cela a été classé parmi les champignons de la pourriture moelle. Les enzymes produites et identifiées sont des xylanases, b-glucocidase, et des endo-b 1,4glucanases, ainsi que sept autres métabolites identifiés étant que des toxines potentielles (naphthalenones).

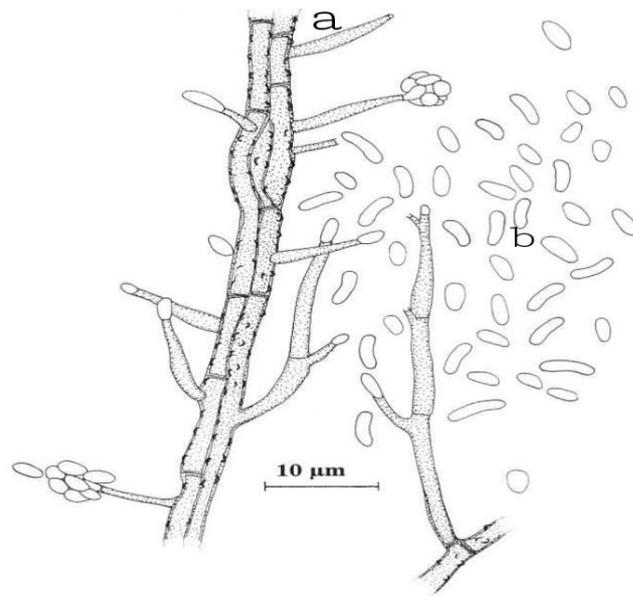
Contrairement à *P.chlamydospora*, *P.aleophilum* n'inhibe pas la formation de cal au niveau de la soudure greffon-porte greffe. À partir de la moelle, il forme une nécrose brune-rose qui rejoint ensuite *Pa. Chlamydospora* pour former la nécrose centrale brune et dure, Les déterminants du pouvoir pathogène n'ont pas été identifiés, mais a été montré que ce champignon joue un rôle important dans la progression des nécroses dans le bois. (larignon et al., 2009)

Selon crous et al., (1996), cet espèce caractérisé Morphologiquement, par des hyphes verruqueux, de couleur brun moyen à pale, les conidiophores sont généralement courts et souvent ramifiés, généralement pigmentés, notamment au niveau des cellules basales. Les phialides présentent des collerettes, et les conidies, de forme oblongue, ellipsoïdale voire allantoïde, sont droites ou légèrement courbées. Aucun chlamydospore n'est observée(Figure18). La température optimale de croissance est de 30°C

##### ❖ Cycle biologique

Son cycle biologique est mal connu, c'est un champignon à dissémination aérienne,

Les voies de pénétration du ne sont pas connues (les plaies de tailles hivernales ne semblent pas constituer un point d'entrée). L'absence de spore aérienne durant l'hiver permet de supposer qu'il agit selon un autre mode d'inoculation, sa période propice pour la contamination semble se situer pendant la période végétatif, après celle des pleurs. Le mycélium est retrouvé sur le tronc et les bras excoriant. (EsKalen et al., 2004).



**Figure 16:** Conidiophores (a) et conidies (b) de *Phaeoacremonium aleophilum* (Crous et al., 1996).

#### IV.2.4.3. *Fomitiporia mediterranea*

##### ❖ Systématiques et Caractéristique

Le genre *Fomitiporia* appartient à la division des *Basidiomycota*, à la classe des *Basidiomycètes*, à l'ordre des *Hyménochaetales* et à la famille des *Hyménochaetacées* (Dubos, 2002).

*F.mediterranea* est le seul basidiomycète isolé d'un champignon de pourriture blanche en algérie. Ce résultat confirme les observations faites en Europe (LARIGNON et DUBOS, 1997 ; MUGNAI et al., 1999 ; FISCHER et KASSEMAYER, 2003), *F. méditerranaea* est une espèce hétérothale récemment nommée auparavant confondue avec l'espèce homologue *F. punctata* (= *phellinus punctatus*) (FISCHER, 2002) ou *Phellinus igniarius*. *F. mediterranea* soit capable de coloniser du bois sain après inoculation artificielle (CHIARAPPA, 1997 ; SPARAPANO et al., 2000), le champignon préfère intervenir à la fin de différentes séquences parasitaires qui commencent par des champignons pionniers (comme *P. clamydospora*, *P.aleophilum* et *E. lata*) (LARIGNON et DUBOS, 1997 ; MUGNAI et al., 1999 ; FISCHER et KASSEMAYER, 2003), après *F. méditerranaea*, le champignon le plus communément isolé en bordure de la pourriture blanche est *p.aleophilum*, ce dernier a donc pu avoir un rôle précurseur important en Algérie. (BERRAF et PÉROS, 2005).

*F.mediterranea* se manifeste sur les troncs des ceps de vigne sous la forme de coussinets irréguliers mesurant quelques centimètres de diamètre. Les basidiospores sont globuleuses, hyalines et lisses, avec un diamètre entre de 5 à 6 µm. Les cultures initialement de

couleur blanche, prennent rapidement une teinte jaune à ocre et présentent une texture veloutée. (Dubos, 2002).

#### ❖ Cycle biologique

Le cycle biologique de *Fm* est peu connu. Il conserve principalement sous forme de carpospore (ou basidiomes) dans les parties affectées de la plante malade. Les basidiospores résultant de la reproduction sexuée sont principalement responsables de la dissémination par voie aérienne. Ce champignon a été détecté au niveau des plaies de taille, par outil PCR. Mais il n'a jamais été isolé à partir du bois ou des plantes en pépinière. (Bruez, 2013).



**Figure 17:** fructification de *Fomitiporia mediterranea* sur *Vitis vinifera*. (Ciccarone et al., 2004).

#### IV.2.4.4. *Fomitiporia punctata*

##### ❖ Systématique et Caractéristiques

Appartenant à la division des basidiomycètes, à l'ordre des *Hymenochaetales* et à la famille des *Hymenochaetaceae*, ce champignon se présente sur les troncs des cepes de vigne comme des coussinets irréguliers de quelques centimètres de diamètre. (Dubos, 2002 p 133)

##### ❖ Cycle biologique

C'est un champignon qui achève la mise en place de la forme lente de l'ESCA. Les fructifications du champignon se développent dans les zones humides des vignes malades et libèrent des spores qui contaminent les plaies de taille. Ce champignon ne s'installe que sur une nécrose brune et dure, bien développée. (Jousse, 2006).

#### IV.2.4.5. *Botryosphaeria* sp

##### ❖ Systématique et Caractéristiques

Appartenant à l'ordre des *Botryosphaeriales*, la famille des *Botryosphaeriaceae* (Dissanayake et al. 2016)

##### ❖ Cycle biologiques

La voie de pénétration du champignon n'est pas identifiée. Sur la plante malade, on peut noter de longues bandes brunes situées sous l'écorce. Ce type de nécrose représente les défenses mises en place par la plante. La présence du champignon a été mise en évidence au sein de ces bandes. (Jousse, 2006).

Sur les tissu ligneux où elles résident, les pycnides libèrent les conidies sous la forme d'un filament pendant ou après une période de pluie. L'observation de ces éjections sporodiques n'est pas toujours facile dans les vignobles en raison de leur dissolution consécutive aux précipitations. La genèse de ces structures requiert au moins des conditions environnementales, avec une température maximale de 8°C et d'humidité relative au minimum de 77% (Shafi et al., 2017)

#### IV.2.5. Facteurs impliqués dans l'expression des symptômes

##### IV.2.5.1. Condition climatique

Le climat a une grande importance en ce qui concerne l'Esca. Les nuits sèches et les matins humides, les problèmes d'exposition et de ventilation ont leur influence. Mais tout intervient, aussi bien la taille que le travail du sol. (BASSINI, 2002, P36).

En début d'été, une stimulation de l'activité des parasites dans le bois des cepes les plus malades par l'augmentation régulière des températures moyennes et la cooccurrence pour l'eau disponible expliquerait les assèchements vasculaires. Les symptômes foliaires seraient alors la conséquence de ces ruptures de trajets de sève. Subitement, certains sarments ne seraient plus alimentés correctement en eau. D'où les assèchements internervaires et les flétrissements. Bien entendu, d'autres études seront nécessaires pour comprendre la genèse de ces anomalies vasculaires notamment en lien avec les nécroses internes, lesquelles constituent le premier maillon nécessaire et indispensable à l'expression foliaire de l'esca (Lecomte et al., 2005, 2008 ; Maher et al., 2012).

##### IV.2.5.2. Age de la vigne

D'après (Fussler et al. 2008 ; Romanazzi et al. 2009), l'âge de la parcelle semble également conditionner le niveau d'expression des symptômes qui apparaissent chez des vignes de plus de 10 ans.

IV.2.5.3. Cépage

A partir des données de l'observatoire des maladies du bois, une classification des cépages en fonction de leur sensibilité à l'Esca a été réalisée. Le tableau 1 présente ces résultats :

**Tableau 1:** sensibilité de cépage de *vitis venifera* a l'esca (Données issues de l'Observatoire national des maladies du bois, 2003-2008, l'incidence de la maladie est 5% pour les très sensible). (LAMBERT, 2011).

Tolèrent	Sensible	Très sensible
Pinot noir	Chardonnay	Chardonnay Chenin
Syrah	Pinot auxerrois	Cinsault
Grenache	Cinsault	Riesling
Merlot		Cabernet sauvignon
Carignam		Gamay
Muscat petit grain		Ughni blanc
		Gewurztraminer
		Melon
		SauvignonSavagnin

IV.2.5.4. Mode de conduit

Le système de conduit qui cause de grosses plaies de taille favorisent le développement de L'Esca. (dubos, 2002 P15), les vigne conduit en guyot double ou guyot simple seraient plus souvent atteinte d'ESCA que les vigne conduits en gobelet ou Royat . (Jousse, 2007) :

- Guyot double .....15 à 20
- Guyot simple .....10 à 25
- Gobelet et Royat .....0 à 5
- Treilles (cordons verticaux .....0 à 1

La taille mécanique serait également un facteur favorisent le développement des maladies de bois. (dubos, 2002 P15),

#### IV.2.6. Pratiques agronomiques et stratégies de lutte contre l'Esca

Il n'existe pas un moyen de lutte directe contre le syndrome de l'Esca. Seules les mesures prophylactiques permettent de limiter l'incidence de la maladie, les risques de contamination et les sources d'inoculum.

##### IV.2.6.1. Techniques curatives des ceps malades

Cette mesure est une des plus importantes et sera d'autant plus efficace quelle est pratiquée par tous les vignerons. La lutte directe contre les champignons de l'ESCA, en particulier via la protection des plaies de taille, ne peut avoir qu'un effet limité surtout en l'absence de traitement renouvelé à l'image de ce qui se fait pour de nombreux parasites aériens, (Lecomte et al., 2004).

On peut raisonnablement évoquer les mêmes limites pour la prophylaxie, car les parties mortes supprimées d'un vignoble ne représentent qu'une partie infime de l'inoculum disponible dans toutes les écorces et les parties mortes des ceps productifs. (Lecomte, 2009).

##### IV.2.6.1.1. Le greffage

Le greffage est également une technique curative qui consiste à greffer à l'oïl(en Chip-bud) sous le point de greffage, directement sur le porte-greffe. (Mary et al., 2021).

Le greffage est une méthode utilisée lorsque les ceps affectés par les maladies du dépérissement de la vigne ont un porte-greffe sain. Au lieu d'arracher complètement le cep, le greffage consiste à greffer une nouvelle plante sur le porte-greffe existant, permettant ainsi de conserver le système racinaire de la souche initiale. Cette technique peut être mise en œuvre pendant la période allant du printemps jusqu'à la fin de mois de juin. (Dal, 2013).

En cas de réussite, la pérennité des souches peut s'avérer significativement prolongée.



**Figure 18:** greffage en fente d'un cep atteint d'esca (Rocque Anastasia, 2022).

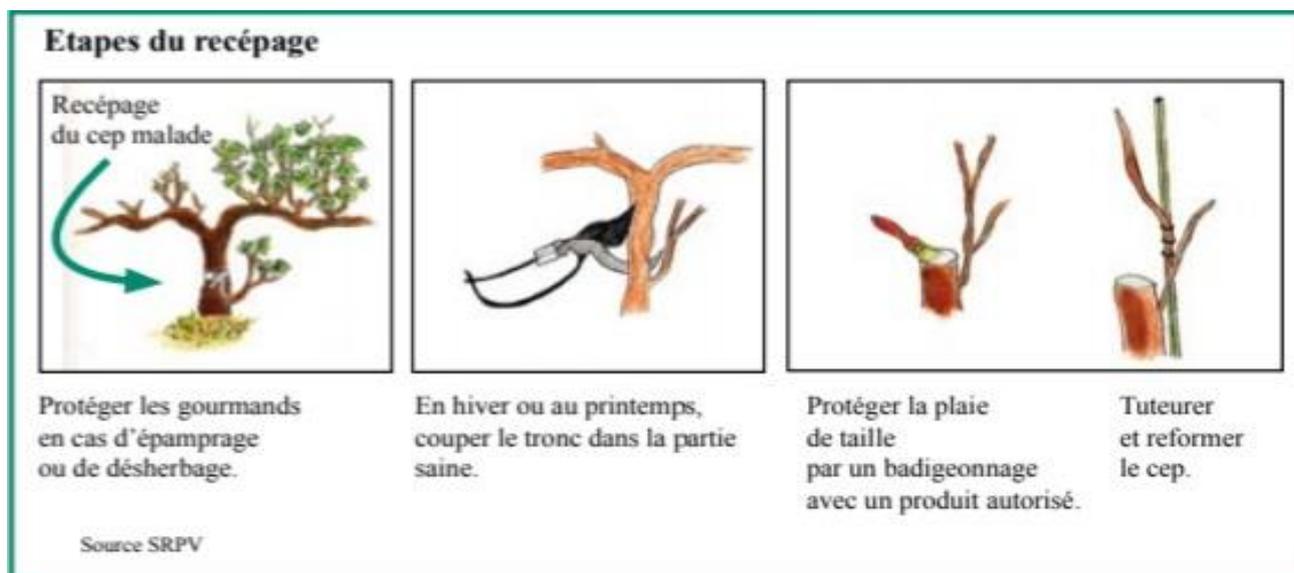
En cas de réussite, la pérennité des souches peut s'avérer significativement prolongée.

#### IV.2.6.1.2. Le recepage

Les pieds malades doivent être repérés dès l'apparition des premiers symptômes au printemps et un gourmand, le plus proche de porte greffe, doit être gardé. Au moment de la taille, il convient de couper le tronc à un niveau suffisamment bas pour que les symptômes de nécrose ne soient plus visibles. Aussitôt après la coupe, la section doit être protégée pour éviter une contamination éventuelle. Le gourmands doit être tuteuré.

De nombreux cépages se prêtent bien à cette technique et le taux réussite est très élevé si l'opération est réalisée correctement, cependant, comme c'est le cas pour le cabernet sauvignon, il est parfois difficile d'obtenir les gourmands. (Dubos, 2002 p125)

Cette opération permet de reconstituer un cep en deux ou trois ans tout en préservant le potentiel qualitatif du vendage (voire encadre recepage) (A.M.Denizot, 2007).



**Figure 19:** schéma représente les étapes du recepage, (A.M. Denizot, 2007).

#### IV.2.6.1.3. Le curetage

Le curetage est une technique curative contre l'Esca. Celle-ci était déjà employée par poussard au début du 20e siècle. Tous les ceps atteints d'Esca peuvent être curetés. L'objectif est de supprimer l'amadou. C'est-à-dire le bois jaune et tendre, en évitant au maximum de couper les courants de sève fonctionnels.

Doit être très strict sur l'élimination complète de l'amadou se produisent en tête de souche,

Sinon le cep peut ré exprimé des symptômes d'Esca l'année suivante. Il paraît inutile de supprimer le bois mort brun et dur, cela constituerait une perte de temps et une fragilisation plus importante du cep. Plus les symptômes d'Esca sont légers, plus l'efficacité de la technique est bonne. (Thibault et al., 2015).



**Figure 20:** technique de curetage d'un cep infecté. [www.winetwork.eu](http://www.winetwork.eu).

#### IV.2.6.2. Les pratiques culturelles de prévention

Pour limiter les contaminations des ceps par les champignons, il est nécessaire de conjuguer plusieurs méthodes.

##### IV.2.6.2.1. Prophylaxie en vignoble

Dans un premier temps, il est nécessaire de dégager la parcelle des bois taillés, des ceps, des sarments et des ceps morts pour limiter la propagation de l'inoculum dans le vignoble. Il s'agit d'une première étape essentielle dans la réduction des sources potentielles d'infection pour des pieds sains. Il s'agit de réfléchir aux pratiques et modes de taille. En effet, les plaies de taille hivernale constituent la principale voie d'infection de pied sain par des champignons du bois. (Díaz et al., 2013).

D'après (Eskalen et al. 2007; Díaz et LaTorre 2013), Les champignons des MDB pénètrent dans le bois de la vigne principalement par les plaies de taille pour cela les chercheurs interrogés dans l'enquête précitée s'accordent pour sensibiliser les viticulteurs à pratiquer une taille qui respecte les flux de sève et sur la nécessité d'éviter ou de réduire les plaies de taille. Ils confirment aussi que les connaissances actuelles de l'impact du mode de taille sur les MDB sont lacunaires.

La taille en Guyot-Poussard est par exemple un mode de taille qui vise à réduire le nombre et la taille des plaies

##### IV.2.6.2.2. Prophylaxie en pépinière

Des mesures préventives permettent de diminuer les risques de contaminations à la pépinière comme au vignoble. Plusieurs méthodes ont été testées à la pépinière. Les

traitements à l'eau chaude se sont avérés efficaces pour diminuer les sources d'inoculum sur le matériel végétal (Crous et gams, 2001).

#### IV.2.6.2.3. La protection des plaies de taille

##### ❖ Protection chimique

Selon Larignon et Yobrégat Pour éviter leur contamination par les champignons, doit être protégées les plaies aussitôt après la taille. Seul leur badigeonnage peut avoir une certaine efficacité, cette technique s'avérant cependant contraignante pour le viticulteur en attente d'une solution plus commode. L'application d'un produit chimique par pulvérisation s'avère inefficace en raison de la trop faible quantité de matière déposée sur la surface de la plaie. Par ailleurs, les pluies entraînent des dilutions, et les unités contaminatrices (généralement des spores) pénètrent au-delà de la barrière fongicide.

##### ❖ Agent de bio control

On connaît depuis longtemps des micro-organismes pouvant lutter contre des champignons phytopathogènes, c'est la lutte par *trichoderma. Sp* Ce micro-organisme ascomycète, isole du sol, présente des propriétés d'antagonisme et d'hyper parasitisme envers de nombreux agents pathogènes des plantes (Amreen and Kumar, 2012; Lee et al., 2012; TuaoGava and Leal-Menezes, 2012).

Fourie et Halleen, 2005, montre que l'application de *trichoderma* au sol ou directement sur les plantes, est capable de stimuler la croissance des jeunes plants et de les protéger contre les stress abiotiques.

Des études faites par Fourie et al, 2005 ont montré qu'un effet inhibiteur de *trichoderma* sur les champignons pathogènes de la vigne : *Pch*, *Phaeoacremonium spp.* Et *Cylindrocarpon spp.* En protection des plaies de taille, En pépinière par l'utilisation de *Trichoderma spp.* Induit une diminution effective des infections au niveau des racines, du talon et de la soudure, alors que la croissance des racines est stimulée.

**Chapitre IV :**  
**Matériel et méthodes**

Notre étude relative au cas de dépérissement observé au niveau de verger vignoble dans la région de BIRE Tota (W Alger) a été effectuée selon deux étapes :

- La première au niveau de verger vignoble une enquête pour un diagnostic symptomatologique. Suivi par un questionnaire soumis aux exploitants de parcelle observée, L'objectif du questionnaire est de cerner les facteurs qui peuvent avoir une influence sur le développement de la maladie, en particulier, la période d'expression des symptômes
- La deuxième étape a été réalisée au laboratoire dans le but de recherche d'éventuels des agents fongiques impliqués dans ESCA. Suivis par un essai de activité antifongique de huiles essentielles de romarin sur les champignons impliqués dans la maladie.

#### IV.1. Présentation de la région d'étude

##### IV.1.1. Situation de la ferme

Située à BIR TOTA khraïcia, wilaya d'Alger, avec des coordonnées géographiques de :  
36°41'02''N3°00'01''E



Figure 21: carte géographique de site d'étude. (Maps 2023)

##### IV.1.2. Caractéristique de la ferme pédagogique

Cette ferme (La maison dans la prairie) c'est la deuxième ferme pédagogique après celle de Zéralda avec un autre concept. Une exploitation de 15 hectares La principale activité : l'arboriculture avec une retenue d'eau d'une superficie de un hectare.

L'âge de la parcelle de la vigne est de 35 ans avec un superficiel total de 3ha, 1ha pour la variété cardinal et 2ha pour le cépage noir.



**Figure 22:** représente vignoble au période hivernal, la première visite (**Original**).



**Figure 23:** représente vignoble au période végétatif (**Original**).

#### **IV.2. Méthodologie d'échantillonnage**

En vue de réaliser une étude sur la recherche d'éventuels agents fongique susceptible de provoquer des états de dépérissement de vignoble (la maladie d'Esca). Nous avons réalisé d'échantillonnage cible.

La constitution des échantillons de ceps à observer a été réalisée aléatoirement des études faite par (Dubos, B. 2002 et Mimiague, J. et Le Gall, D. 1994) ont montre que ESCA n'obéisse a aucune loi apparente de répartition dans la parcelle.

Selon ces auteurs, le tirage aléatoire représente la manière la plus objective de choisir les ceps à observer.

**Tableau 2: les dates de sortie au site d'étude.**

Date de sortie	Objet de la sortie
21/03/2023	Echantillonnage de sol et racines
06/05/2023	Echantillonnage des rameaux et feuilles
13/05/2023	Observation d'évolution des symptômes
19/06/2023	Echantillonnage de collet
15/07/2023	Observation d'évolution des symptômes

#### IV.2.1. Prélèvement des échantillons

##### IV.2.1.1. Prélèvement des échantillons de sol et racines

La première visite se réalise au début d'hiver. Nous avons prélevé des échantillons des racines et des sols. Les prélèvements ont été effectués dans des conditions aussi stériles que possible. Les sécateurs et les scies ont été désinfectés à l'alcool. À l'aide d'une pioche, nous avons déterré le système racinaire à une profondeur variant de (30 cm), avant de prélever des fragments racinaires (figure 24).

Pour l'échantillonnage de sol se fait à partir de sol autour de collet et loin des racines pour les différentes classes symptomatiques. Généralement les échantillons du sol se trouvent au niveau de l'horizon de 30 à 40cm d'épaisseur. Chaque échantillon de 200g est récupéré dans des sachets en plastique tout en notant les informations nécessaires (date de prélèvement, type de symptôme, numérotation de ceps et la rangée). Ces échantillons sont conservés au laboratoire pour des analyses ultérieures.



**Figure 24: prélèvement des échantillons de sol (Original).**

#### IV.2.1.2. Prélèvement des échantillons de bois

Échantillonnage se fait à partir de rameaux et de collet des ceps symptomatique, de faire des coupes transversales, nous avons prélevés de bois sain et de bois nécrosé. Tout en respecter les conditions de stérilisation qui nous avons déjà noté dans échantillonnage des racines.



Figure 25: prélèvement des échantillons de collet (Original).

### IV.3. Isolement au laboratoire

#### IV.3.1. Les milieux de cultures

##### ❖ PDA (Potato dextros agar)

Le principal milieu de culture utiliser au laboratoire, c'est le milieu PDA (potato dextros agar), Qui favorise une bonne croissance et une bonne fructification d'un grand nombre des champignons phytopathogènes :

- Faire bouillir 200g pomme de terre pelées, lavées et coupées en petit morceaux dans 1 litre d'eau distillée stérile 1h. la suspension obtenue est pressées pour obtenir l'extrait. Ajouter 20g dextrose et 20g d'agar est laisser en agitation pour porter le volume final dans 1 litre.
- Le milieu est autoclave à 120 °c, pendant 1h.
- Le milieu de culture est conserver dans des flacons en verre pour l'utilisation ultérieure, et coule après le refroidissement dans des boîte de pétri, cette étape est faire dans une hotte biologique pour éviter la contamination.

##### ❖ SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar)

C'est un milieu minéral composé de sels minéraux, et des faibles quantités du glucose et de saccharose. Le milieu SNA est particulièrement utile pour identifier les champignons,

car il favorise la production de spores qui peuvent être utilisées pour différencier différentes espèces (Leslie et Summerell, 2006). Ce milieu se compose de :

- $K_2HPO_4$ :  $1.0 \pm 0.1$  g ·
- $KNO_3$ :  $1.0 \pm 0.1$  g
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ :  $0.5 \pm 0.1$  g ·
- $KCl$ :  $0.5 \pm 0.1$  g ·
- Glucose:  $0,20 \pm 0.05$ g
- Saccharose:  $0,20 \pm 0.05$  g
- Agar:  $20 \pm 1$  g
- $H_2O$  distillé:  $1000 \pm 10$  ml

Dans note étude ce milieu a été utilisé pour faciliter l'identification microscopique des souches fongiques isolées et purifiées.

#### **IV.3.2. Technique d'isolement**

Au niveau de laboratoire les échantillons sont déemballés et nous avons réalisé deux technique d'isolement: la technique d'isolement direct pour les échantillons de racine et le bois et la suspension dilution pour les échantillons de sol.

Une dizaine de fragments de bois sous forme de bûchettes (10 x 10 x 5 mm) ont été découpées à la limite du bois sain dans chaque zone des nécroses analysées. Il convient de noter qu'un cep peut comporter plusieurs types de nécroses et qu'un isolement a été réalisé pour chaque type de nécroses.

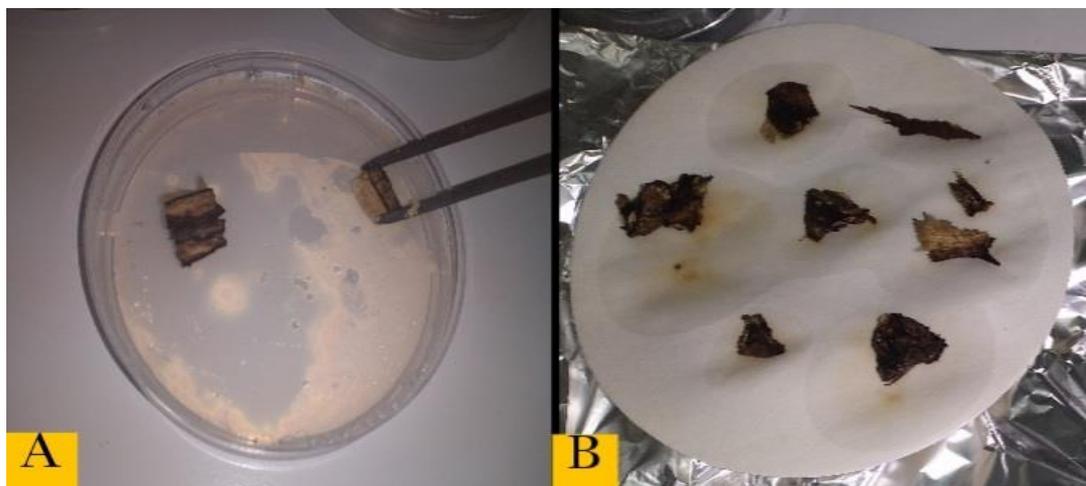
#### IV.3.2.1. La technique d'isolement directe

Consiste à :

- Stérilisation des organes malades dans une solution hypochlorite pendant 4 mn.
- Sont rincées trois fois consécutives a l'eau distille stérile et posées sur papier buvard stérile pour le séchage.
- Déposer de 5 petits fragments dans des boî de pétri contenant le milieu PDA.
- Incubation a l'étuve à 25 °c pendant 4 à 5 jours.



**Figure 26:** (A) nécrose centrale d'un rameaux herbacée, (B) nécrose centrale dans le tronc (Original).



**Figure 27:** isolement directe des champignons. Stérilisation des fragments (A). Et séchage (B) (Original).

#### IV.3.2.2. Technique de suspension dilution pour le sol

Nous avons pesée 20g de sol pour chaque échantillon et utilise la technique de suspensions dilution décrite par (RAPILY1968), dans laquelle le sol a été mis en

suspension dans de l'eau distillé stérile et les différentes dilutions ont été ajoutées au milieu d'isolement.

Nous ajoutons 20g de sol à 90ml d'eau distillé stérile et laisse en agitation pendant 30 min pour former une dilution de ( $10^{-1}$ ). Des Prélèvements individuelles d'un volume de 1ml à partir de chaque suspension à additionner successivement dans des tubes à essai contenant 9ml de l'eau distillée stérile afin de faire les dilutions suivantes ( $10^{-2}$ ), ( $10^{-3}$ ) jusqu'à ( $10^{-8}$ ).

Rappelons que pour réaliser ces différents prélèvements, des pipettes stériles doivent être utilisées pour chaque dilution.

Suivant la technique décrite par **davet** en (1997), nous avons retiré 0,1ml de chaque dilution qui a été inoculée dans une boîte de pétri contenant du milieu PDA. L'opération de séparation est réalisée avec les dilutions  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$ .

L'incubation a été réalisée à une température de 25 °c pendant une semaine.



**Figure 28:** (A) isolement des champignons par la technique de suspension dilution. (B), échantillon de sol (**Original**).

#### IV.3.3. Purification des isolats fongiques

Pour l'obtention d'un développement de cultures fongiques pures, après incubation d'une semaine à l'étuve 25°C, les colonies développées sont observées, transplantées et purifiées pour identification.

Nous avons réalisé des observations microscopiques sur les cultures développées afin de localiser celles qui nous semblent intéressantes, Les cultures d'agents saprophytes ou de contamination comme l'*Aspergillus* sont à éviter,

A l'aide d'une pipette pasteur, flambée et refroidie chaque fois, et à partir des cultures intéressantes nous prélevons des disques mycéliens de 1cm de diamètre qui seront repiqués

dans de nouvelles boites de Pétri contenant le milieu PDA qui sera incubée jusqu'à l'obtention d'une culture d'une bonne fructification et une culture pure et homogène.

#### **IV.3.4. Caractérisation et identification des isolats fongiques**

L'identification des agents pathogènes isolés a été réalisée selon les caractérisations morphologiques révélées par un examen microscopique soigneux aux divers stades de développement, complétée le plus souvent par une description des caractères culturels, texture des thalles, revers de culture ...etc) (**bourgeois et leveau, 1980 ; Botton et al., 1990 ; Chabasse et al., 2002**). Plusieurs clés d'identification ont été utilisées pour bien identifier les champignons (**Barnes et al., 2001 ; Bonthond et al., 2018 ; Phillips et al., 2013 ; Wet et al., 2009**).

##### **IV.3.4.1. Caractères macroscopiques**

Après la purification des cultures 7 jours à 26 °C sur milieu PDA, pour l'obtention d'une bonne purification, pour l'appréciation de quelques critères macroscopiques telles

- La couleur de la colonie.
- L'aspect de la colonie.
- Vitesse de croissance.
- La forme de la colonie.
- la texture du mycélium

##### **IV.3.4.2. Caractères microscopiques**

- Présence des spores.
- Forme de mycélium.
- caractéristiques des conidies
- la présence des fructifications
- la nature des hyphes mycéliens

L'observation se fait sous microscope optique au grossissement 10 x 10 et 40 x 10. Et prend des photos des différentes caractéristiques à l'aide d'un appareil photo de téléphone.



**Figure 29:** préparation des lames pour l'observation microscopique (Original).

Dans le but de rechercher des moyens de lutte biologique contre les champignons responsable de dépérissement de la vigne (ESCA de la vigne), des tests d'activité antifongique des huiles essentielles de romarin ont été réalisés.

#### IV.4. Méthodologie d'essai de biocide

##### IV.4.1. Matériels végétales

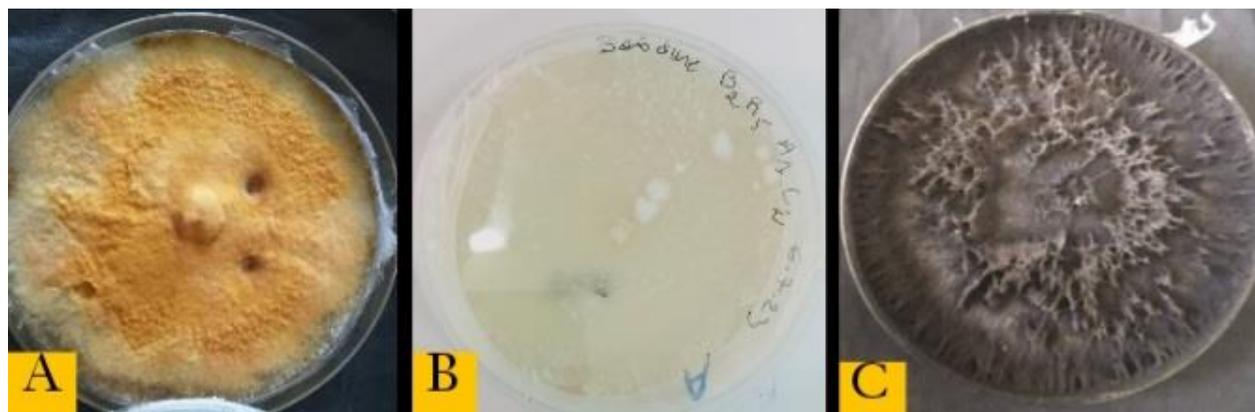
La plante choisie *Rosmarinus officinalis. L.*, c'est une espèce spontanée appartenant à la famille de *Lamiacées* a été récolté à la région de MERKALLA wilaya de Bouira.



**Figure 30:** carte géographique de région de récolte. (Maps 2023)

##### IV.4.2. Le matériel fongique

Les souches utilisées dans ce travail sont les champignons *botryosphaeria sp*, *phaeocromonium sp* et un champignon non identifié, ( **figure31**)



**Figure 31:** le matériel fongique utilise : (A) champignons X non identifié (B) *phaocromonium*, (C) *botreospharea sp* (**Original**).

#### IV.4.3.Méthode

##### IV.4.3.1. Préparation des feuilles de romarin

Après avoir rincé les parties aériennes du Romarin avec de l'eau deux fois afin d'éliminer toute impureté, elles ont été séchées dans une chambre à labre l'obscurité pendant quatre semaines. Après séchage, les échantillons ont été coupés en petit fragments et conservés dans des sacs en papier et conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité pour utilisation ultérieure à l'extraction des huiles essentielles. A la fin de la période de séchage les feuilles ont perdu légèrement l'intensité de leur couleur verte.

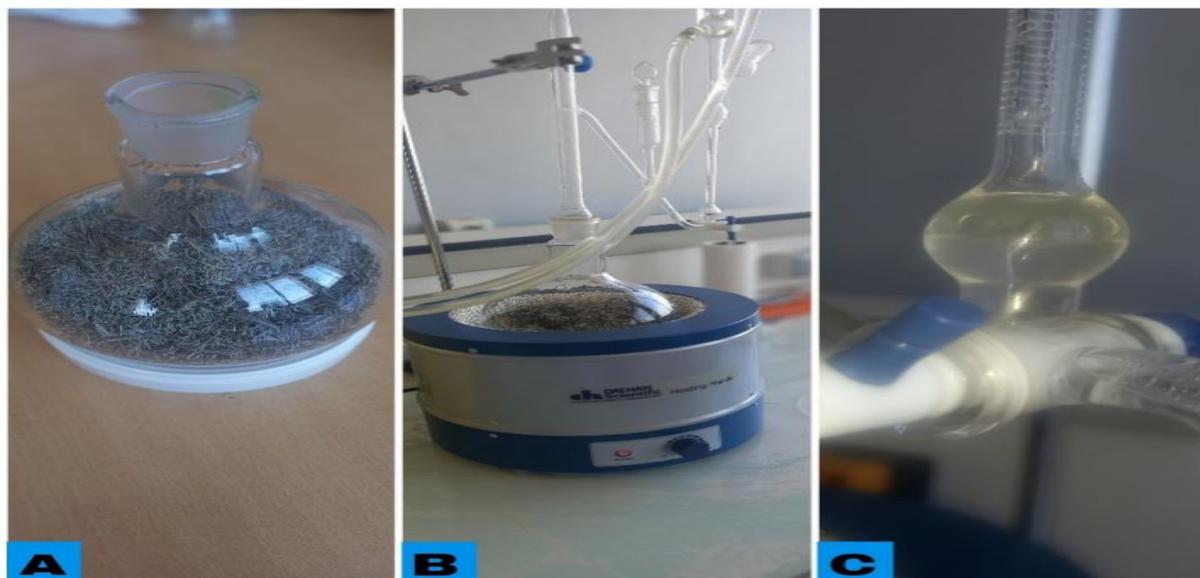
##### IV.4.3.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction a été réalisée au laboratoire de recherche au niveau d'université mohamed bougara (boumrdes). Par hydro distillation à laide d'un dispositif de type clevenger (Clevenger, 1928). Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé a l'acétone, et rince a l'eau distillée afin d'éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil pour éviter la contamination de huiles au pendant l'extraction.

##### IV.4.3.2.1. Méthode de l'hydro distillation utilisée

200g de la partie aérienne séchée ont été pesées et déposées dans le ballon du système. De l'eau a été ajoutée en fonction de la masse des plantes à extraire et portée à ébullition pendant deux heures.

Huile essentielle est entraînée a la vapeur d'eau. Après condensation, le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile essentielle à la surface, Après repos du liquide, l'huile se sépare de l'eau par différence de densité (firture35)



**Figure 32:** extraction des huiles de romarin, (A) les feuilles de romarin dans le ballon chauffant (B) extraction des huiles par clevenger. (C) le rendement de huile mélangé avec hydrolat (**Original**).

Après l'extraction, le volume d'huile essentielle obtenu a été mesuré puis conservé dans un flacon en verre bien fermé. Le flacon a été couvert d'un papier en aluminium à l'abri de la lumière puis conservé dans un réfrigérateur à 4°C jusqu'à son usage pour les tests antifongique.

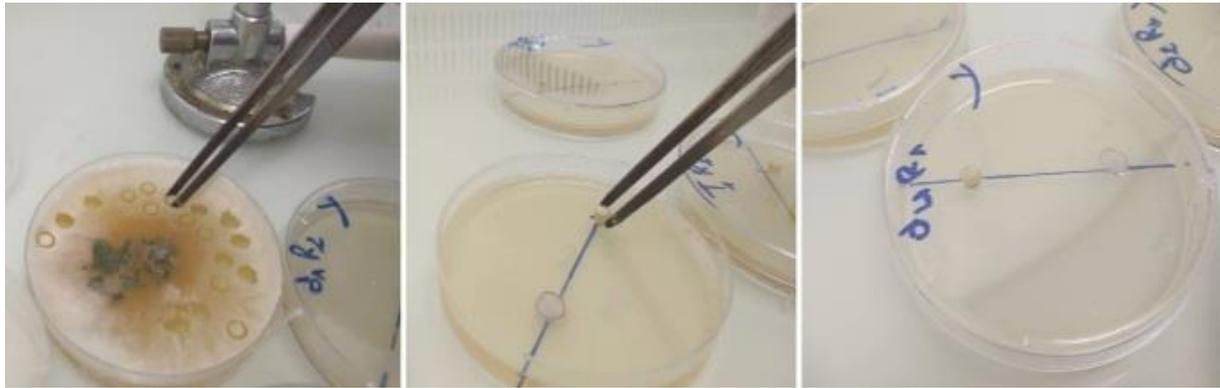
#### IV.4.3.3. Le rendement d'huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse du végétal utilisé. Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

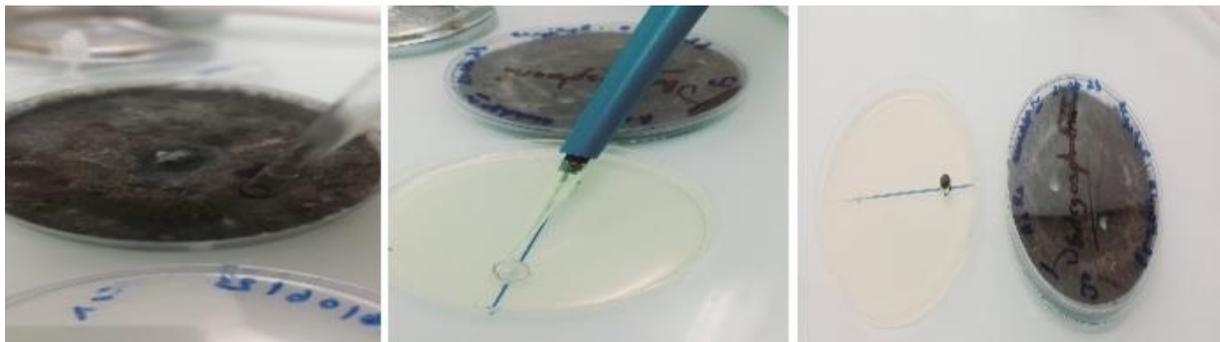
$$\text{RHE} = \frac{M}{MS} * 100$$

#### IV.4.3.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique

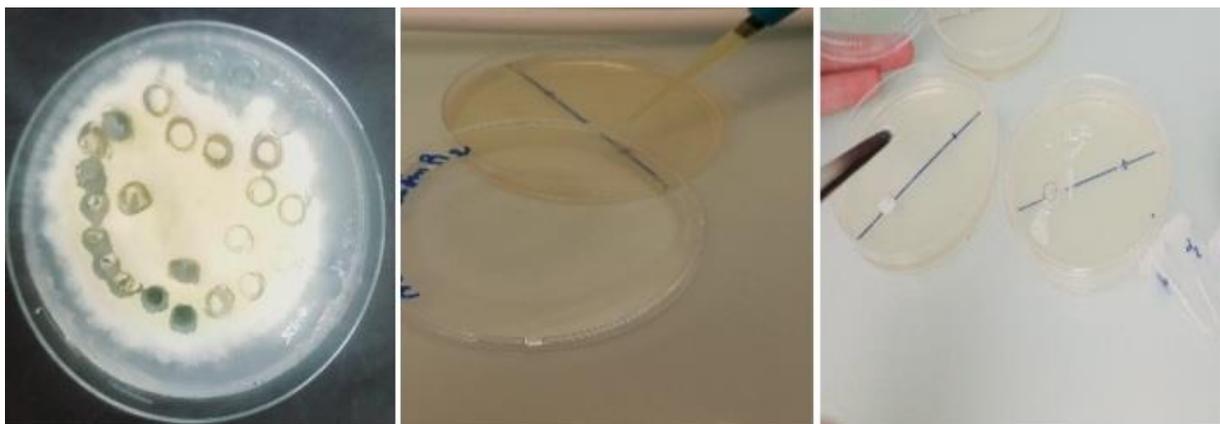
Pour tester cette huile essentielle sur les champignons causaux d'Esca de vigne et à partir d'une culture âgée de 20 j cultivé sur milieu PDA. Pour ce réseau on utilise la technique de confrontation directe.



**Figure 33:** la technique de confrontation directe sur le champignon *Phaeoacremonium sp*(Original).



**Figure 34:** Technique de confrontation directe sur le champignon *Botryosphaeria sp* (Original).



**Figure 35:** Technique de confrontation directe sur le champignon X (Original).

#### IV.4.3.4.1. La technique de confrontation directe

Pour évaluer l'activité de huile essentielle sur la croissance mycélienne de *botryosphaeria sp*, *phaeoniella chlamydospora* et *champignon X* nous avons utilisé la technique d'incorporation décrite par Grover et Moore (1962).

La confrontation directe « souches fongiques/HE » est une technique qui consiste à diffuser de l'huile essentielle de romarin sur un disque de papier wattman stérile de 6 mm de

diamètre. Ce disque est placé à la surface de milieu PDA et a une distance égale à 4 cm de disque mycélien de la souche de souche fongiques (figure 36,37 , 38 ) prélevée à partir d'une culture de 20 jours.

Des pipettes stériles doivent être utilisées pour imbiber le disque mycélien avec 20  $\mu$ l de l'huile essentielle pure ou sa dilution. Quatre doses de l'huile essentielle ont été testées. et l'expérience entière a été répétée deux fois indépendamment.

La croissance mycélienne des trois champignons a été évaluée toutes les 24 heures. La lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins qui sont démarrés le même jour et dans les mêmes conditions

- **Témoin:** contenant 20  $\mu$ l de DMSO seul.
- **D1 :** contenant 20  $\mu$ l de huile essentielle + 20  $\mu$ l de DMSO.
- **D 2 :** contenant 20  $\mu$ l d'huile essentielle +40  $\mu$ l de DMSO.
- **D3 :** contenant 20  $\mu$ l d'huile essentielle + 60  $\mu$ l de DMSO.
- **D4 :** contenant 20  $\mu$ l d'huile essentielle seul c'est la solution mère.



**Figure 39:** préparation des dilutions pour le test (**Original**).

Le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des souches testées a été effectué comme suit

$$Ic (\%) = (D0 - Dc) / D0 * 100$$

Ic : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

D0 : la croissance diamétrale du témoin

Dc : la croissance diamétrale de la souche fongique testée en présence de l'huile essentielle

Chaque concentration a été répétée deux. Les boîtes ont été ensuite incubées dans l'obscurité à une température de 27°C.

**Chapitre V :**  
**Résultats et discussions**

### **V.1. Résultat**

Ce chapitre est scinde en deux partie. La première est consacrée aux résultats obtenus par cette étude qui portent sur la recherche des agents fongique responsable de la maladie d'Esca Isolées au niveaux de la région de BIR TOTA, aux différentes nécroses dans le bois, de sol et des racines des plantes symptomatique et asymptomatiques, suivie par un test d'efficacité d'huiles essentielles in-vitro sur trois champignon causals de l'Esca de la vigne.

#### **V.1.1. Symptômes de l'Esca observé sur les ceps**

L'enquête menée pendant le mois des moins juillet et Août 2023, dans le vignoble ont montré des taux de dépérissement assez importants et parfois alarmants.

Le complexe symptomatologique connu pour cette maladie, sous ses formes lente et foudroyante a été observé, En observant attentivement la mise en place des premiers symptômes d'Esca, on constate le développement de zones desséchées, devenant rapidement nécrosées en quelques jours, de façon simultanée avec les plages décolorées (**figure 37**), Dans le cas des symptômes les plus sévères, les feuilles flétrissent et chutent. (**Figure 38**).

Après de faire des coupes transversalle et longitudinale au niveau de collet et des rameaux, on observe l'existence de deux type de necrose : une nécrose brune de texture dure (**figure 44**), et un nécrose claire et tendre ou la pourriture blanche (**figure43a**). pour Les nécroses sectorielles ils sont pas observes.



**Figure 40:** Symptômes d'Esca sur les feuilles (Original).



**Figure 41:** Forme lente de l'Esca (Original).



**Figure 42:** Forme lente de l'Esca (Original).



**Figure 43:** Nombres importants de ceps symptomatique (Original).



**Figure 44:** Dessèchement total d'un cep chargé de fruits (Original).



**Figure 45:** Cep exprimant la forme apoplexie (Original).



**Figure 46:** (A), Une coupe transversale d'un cep malade permet d'observer différents symptômes au niveau du tronc : (1), bois sain. (2), la pourriture blanche (amadou). (3), un liseré noir. (B), coupe longitudinale d'un rameaux, (1), bois sain. (2), bois nécrosée brune et dure (**Original**).



**Figure 47:** Nécrose central brune et dure d'un rameaux herbacés (**original**).

#### V.1.2. Résultats d'isolement et d'identification des champignons

- Nous avons fait un large isolement à partir de différents organes (racine, rameaux et collet), et à partir de sol. Les résultats obtenus dans cette étape ont montré que la flore

fongique colonisatrices de bois et responsables de la maladie est trouver au niveau de collet des plantes symptomatiques.

- Deux nécroses principales dans les troncs et les bras : une nécrose claire et tendre en position centrale et une nécrose brune et dure en position centrale
- La microflore fongique colonisatrice du bois de ceps de vigne symptomatique est diversifiée et comprend de nombreuses espèces, certaines étant connues pour leur capacité à protéger les plants alors que d'autres sont associées aux maladies du bois : Esca.
- L'obtention d'une espèce potentiellement protectrice des végétaux ou pathogènes ont été obtenues *Trichoderma sp.*
- Nous avons pensés que la flore fongique responsables de l'Esca n'atteinte pas les racines.
- L'infestation des racines de vigne par *trichoderma sp.* se traduit par une nette réduction des symptômes foliaires de l'Esca.

#### V.1.2.1. Champignon non causals d'Esca de la vigne

##### V.1.2.1.1. *Fusarium sp1*

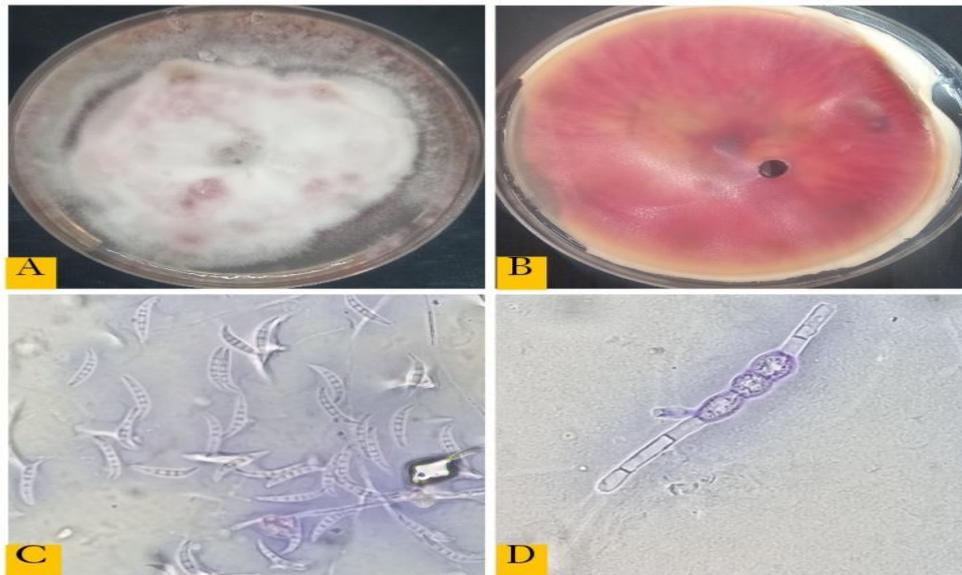
###### ❖ Caractères macroscopiques

- Couleur : blanche à blanche rose, le revers de la colonie et de couleur rose.
- Aspect : cotonneux.
- Forme : colonie arrondie régulière
- Ce champignon présente une croissance rapide sur milieu PDA.

###### ❖ Caractères microscopiques

- Présence des macroconidies (spore de résistance).
- Présence des chlamydospores.
- Mycélium : cloisonné, ramifiés, hyalin.

Ces descriptions sont en concordance avec celle citée par. (Leslie and Summerell, 2006)



**Figure 48:** caractéristiques morphologique de *Fusarium sp* âgé de 1 mois sur milieu PDA, forme macroscopique (A) recto, (B) verso, et forme microscopique des macroconidies (C) (10\*40) SNA, (D) une chlamyospore (spore de résistance) (10\*100) Sur SNA.

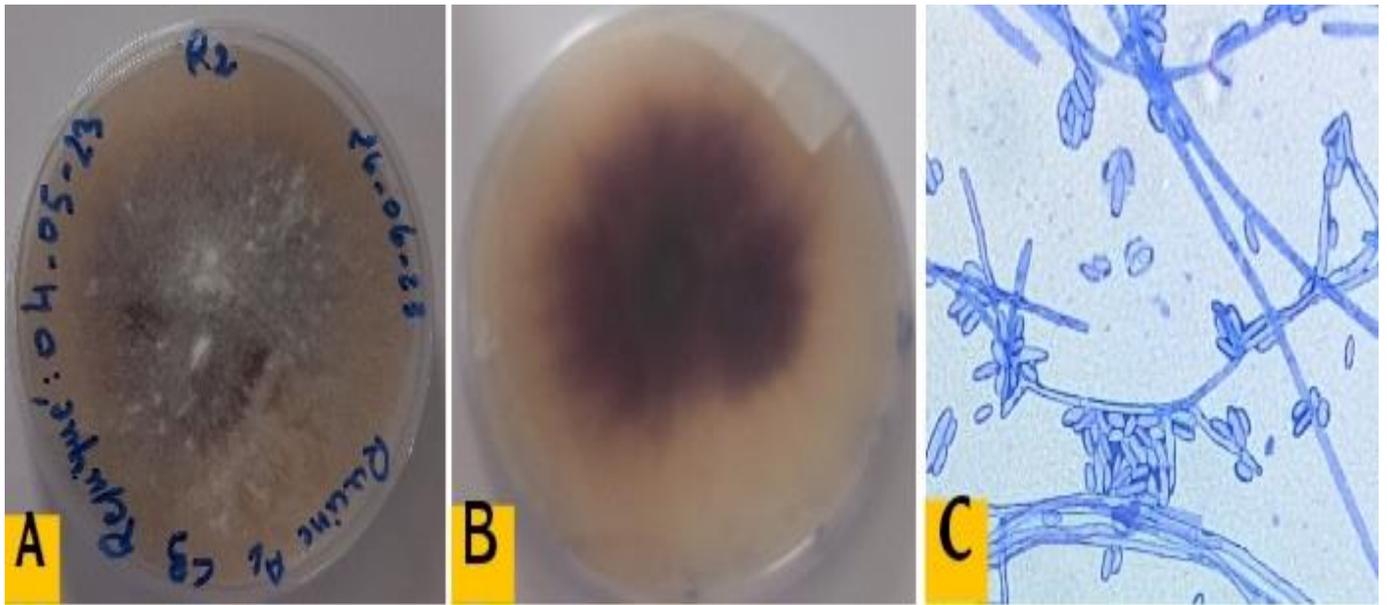
#### V.1.2.1.2. *Fusarium sp2*

##### ❖ Caractères macroscopiques

- Couleur : blanc à blanc rose eu début, devient rapidement blanc mauve, le revers de la colonie et de couleur mauve.
- Aspect : cotonneux.
- Forme : colonie arrondie régulière
- Ce champignon présente une croissance rapide sur milieu PDA.

##### ❖ Caractères microscopiques

- Présence des microconidies
- Mycélium : cloisonné, ramifiés, hyalin. Ces descriptions sont en concordance avec celle citée par. (Leslie and Summerell, 2006)



**Figure 49:** caractéristiques morphologique de *fusarium sp2* âgé de 20j sur PDA (10\*40), forme macroscopique (A) recto, (B) verso, et forme microscopique (C) (10\*40).

#### V.1.2.1.3. *Trichoderma sp*

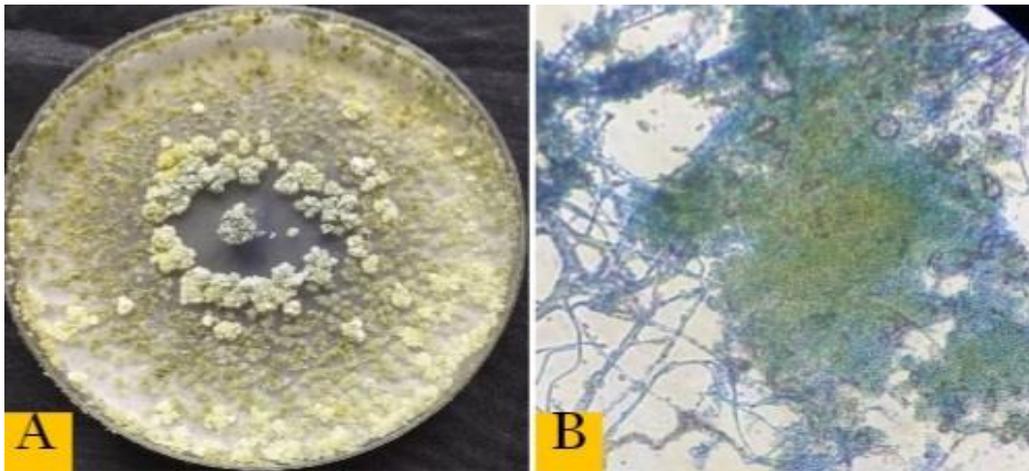
Ces critères ont été considérés comme des caractéristiques taxonomiquement utiles pour une identification préliminaire de *Trichoderma*.

##### ❖ Caractères macroscopiques

- Ce champignon présente une croissance rapide dans le milieu de culture.
- Couleur : le mycélium d'abord blanc en forme de cercle, après deux jours une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium.
- Forme : régulière.

##### ❖ Caractères microscopiques

- Mycélium composé de hyphes jaunes, septées, ramifiées à paroi lisses.
- Conidiospores très ramifiées, ont une forme conique ou pyramidale. Phialides courtes, en forme de quille, droite ou incurvée, souvent très groupées. Elles portent des spores, Des caractérisations similaires ont été obtenues par (Landreau, A., (2001) ; Kubicek et al., (2003). ; Cournut B., (1984).



**Figure 50:** caractéristiques morphologique de *trichoderma sp* âgé de 1 mois sur milieu PDA, forme macroscopique (A), et forme microscopique (B), (10\*40) sur SNA.

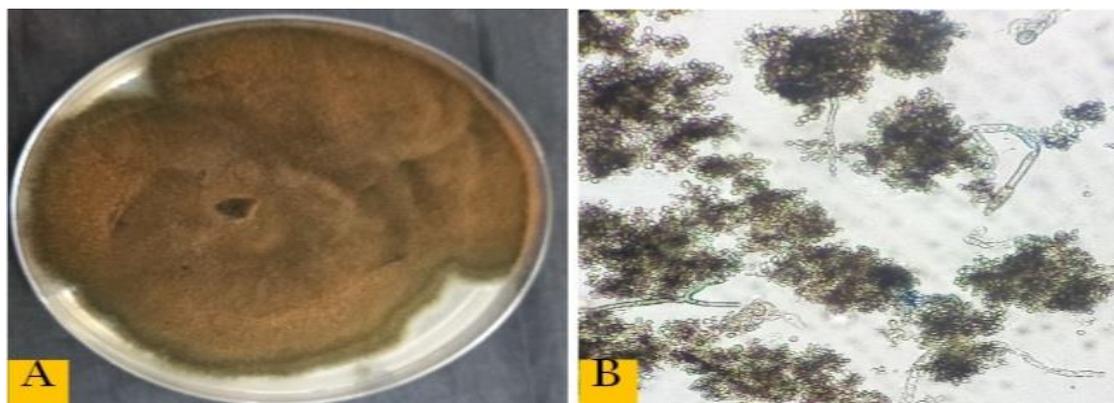
#### V.1.2.1.4. *Cladosporium sp*

##### ❖ Caractères macroscopiques

- Les colonies ont plutôt une croissance lente.
- Couleur verte olive à brune olive.
- Aspect poudreux ou veloutés.
- Forme : irrégulière.

##### ❖ Caractères microscopiques

- Mycélium grimpant, cloisonné
- Les conidiophores: ne présente pas de ramification, ils sont longs, droit, sombre, solitaire ou groupés
- Les conidies : (blastoconidies), solitaire ou en chaîne, ramifiées, disposées en chaîne uni ou pluricellulaire,
- Elles sont sombres de taille et formes différentes, ovoïdes à cylindriques et variantes.



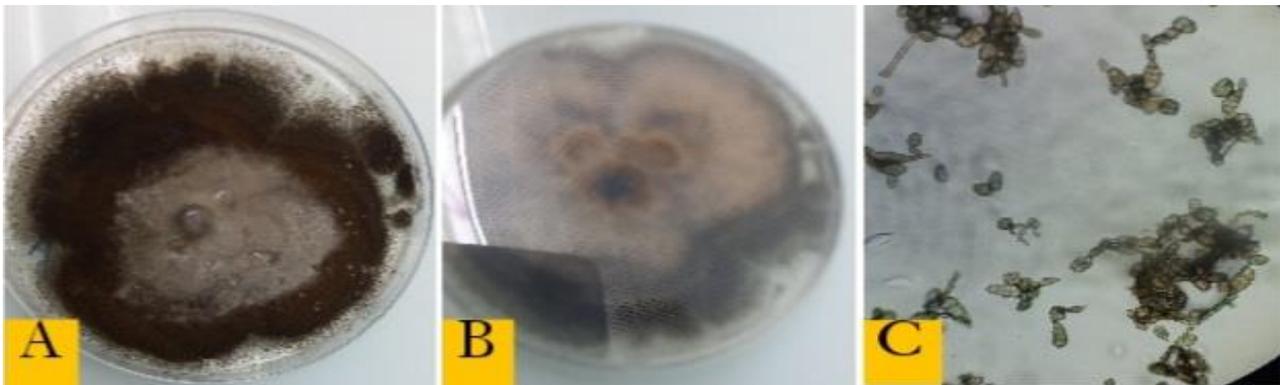
**Figure 51:** caractéristiques morphologique de *chladosporium sp*, forme macroscopique âgé de 20 jours sur PDA (10\*40) (A), et aspect microscopique de conidiophore (10\*40) (B).

**V.1.2.1.5. *Alternaria sp*****❖ Caractères macroscopique**

- Couleur : verdâtre a noirâtre, et un revers qui prend une couleur beige.
- Forme : colonies arrondies régulières
- Aspect : cotonneux

**❖ Caractères microscopiques**

- Mycélium : sombre ramifiés cloisonnée.
- Conidiophores : solitaire ou fascicules, contient une chaine simple ou ramifiés de conidies de couleur brune
- Conidies : groupes ou solitaire, ovoïdes de couleur brune foncée, avec des cloisons transversale, et longitudinales. Cette description correspond au genre *alternaria* (champion 1997).



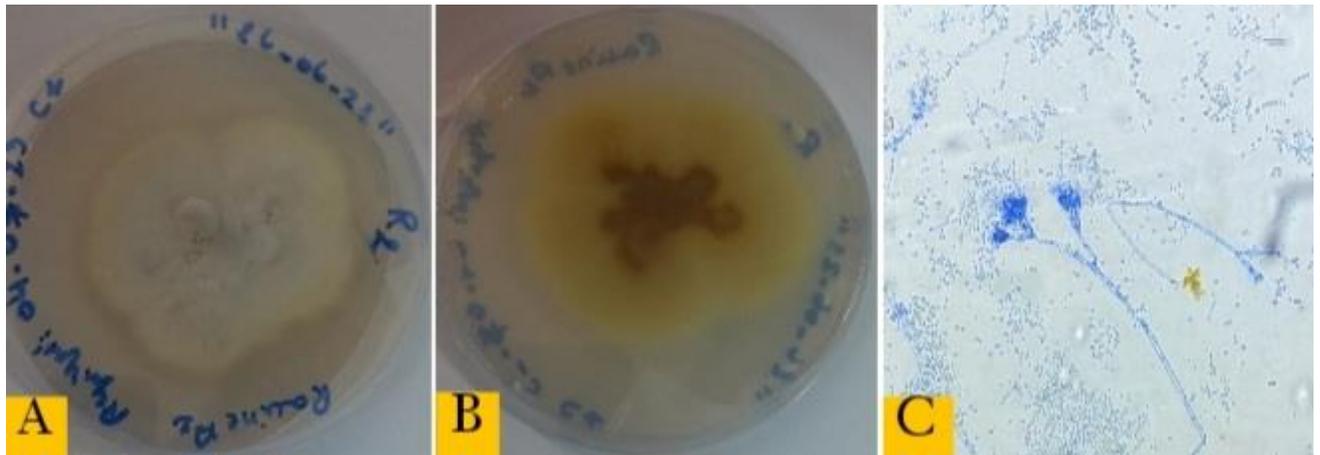
**Figure 52:** Caractéristiques morphologique d'*alternaria sp* âgé de 20jour sur PDA, forme macroscopique (10\*40 (A), et face inferieure (B), aspect microscopique forme des spores (10\*40) (C).

**V.1.2.1.6. *Penicillium sp*****❖ Caractères macroscopique**

- Ce champignon montre une vitesse de croissance rapide dans le milieu de culture.
- Couleur : jaune

**❖ Caractères microscopiques**

- Le thalle : formé de filaments
- Mycéliens : septés et hyalins
- conidiophores : lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille, Cette description correspond au genre *penicilium* décrite par (visagie et al., (2014).



**Figure 53:** Caractéristiques morphologique de penicilium sp, forme macroscopique Age de 15 jour sur PDA (10\*40 (A), et face inferieure (B), aspect microscopique de

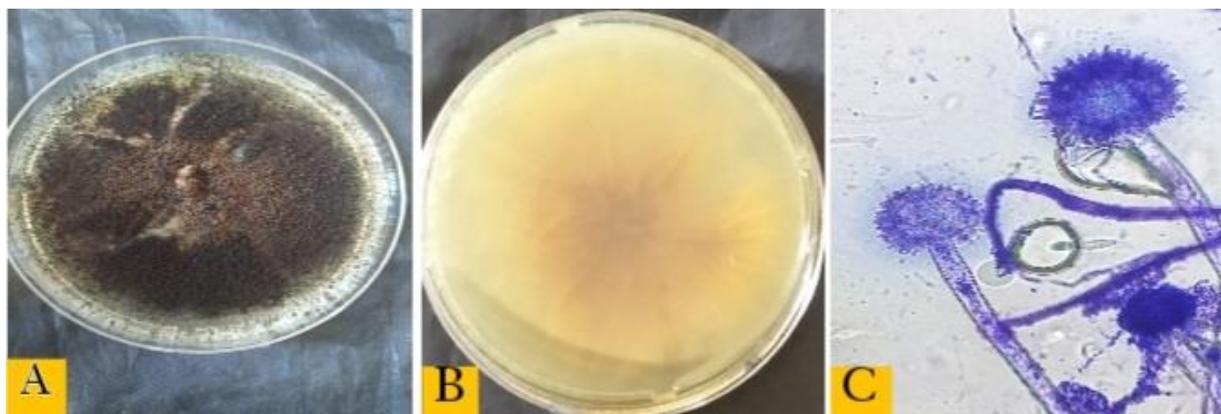
#### V.1.2.1.7. *Aspergillus niger*

##### ❖ Caractères macroscopique

- L'espèce se caractérise par une croissance rapide.
- Couleur : les colonies sont apparues d'abord blanches, puis jaunes, et enfin granuleuses noires. Avec un verso jaune pale

##### ❖ Caractères microscopiques

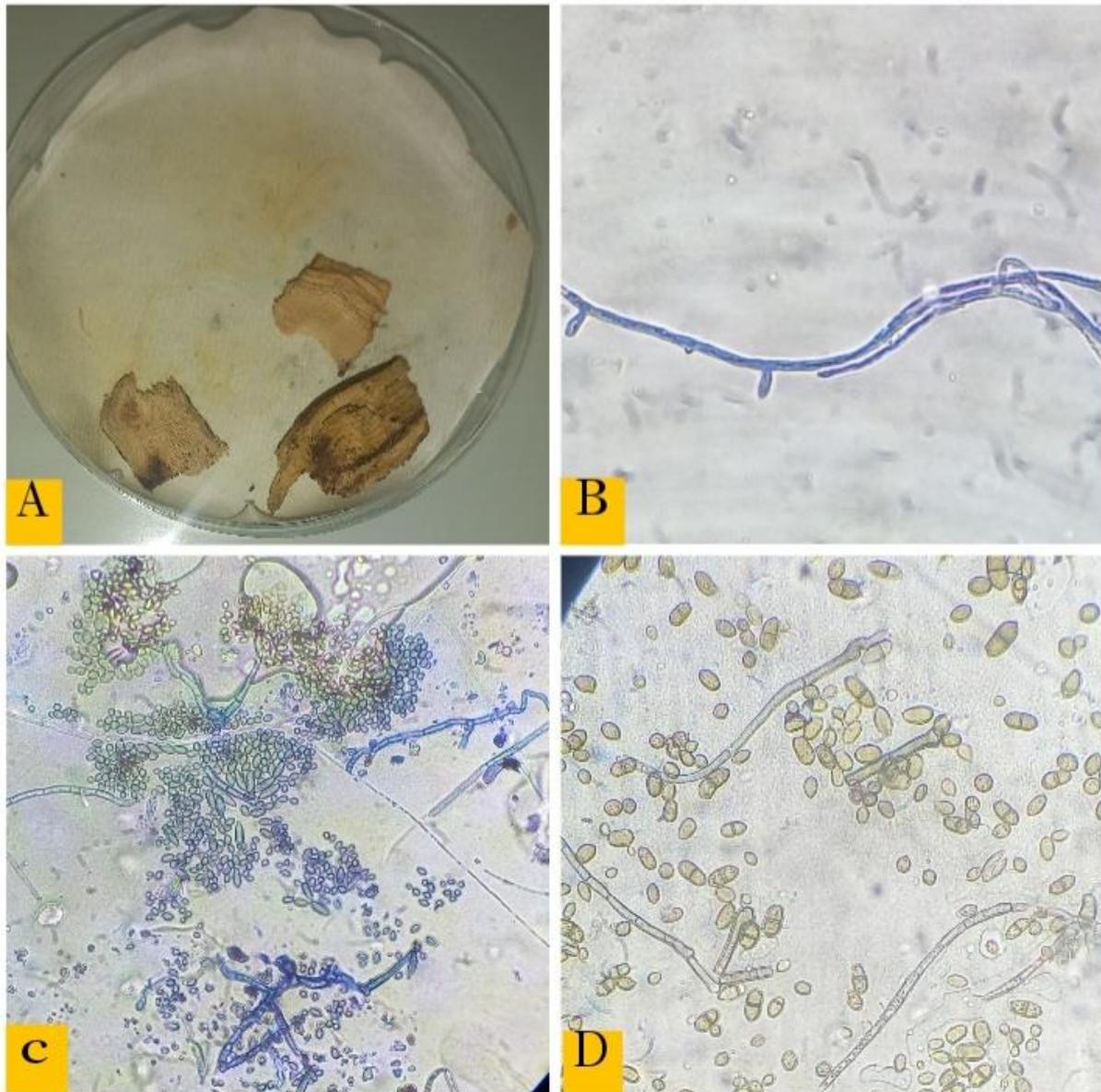
- Les hyphes sont cloisonnés et très ramifiés portent des chlamydo-spores et des conidiophores produisent des spores rondes.
- Les têtes de conidies portent une couleur noire, de configuration globuleuse à radiale, et, à maturité, les têtes se segmentent en colonnes lâches
- Les conidiophores sont longs à paroi lisse, hyalins, devenant plus foncés à l'apex et se terminant en une vésicule globuleuse à sous globuleuse. Cette description est en concordance avec celle citée par. **Pu et al.,(2018)**.



**Figure 54:** Caractéristiques morphologique d'aspergillus Niger âgé de 15 jours sur PDA, forme macroscopique (10\* 40) (A), et face inferieure (B), aspect microscopique de conidiophore.

**V.1.2.1.8. Champignon non identifié**

Les observations ont été réalisées après mise des échantillons de bois symptomatiques en chambre humide (A).



**Figure 55:** Caractères morphologiques de champignons après mise en chambre humide (A), mycélium (B), des spores de taille déférentes (C) et (D).

**V.1.2.2. Les isolats fongiques liés à l'Esca de la vigne**

Nous avons identifié deux champignons responsables de la maladie : le *botryosphaeria sp.*, avec un total de 14 isolats, et le *phaeoacromonium sp.*, avec six isolats. De plus, nous avons découvert neuf isolats d'un champignon inconnu, isolés à partir de l'amadou.

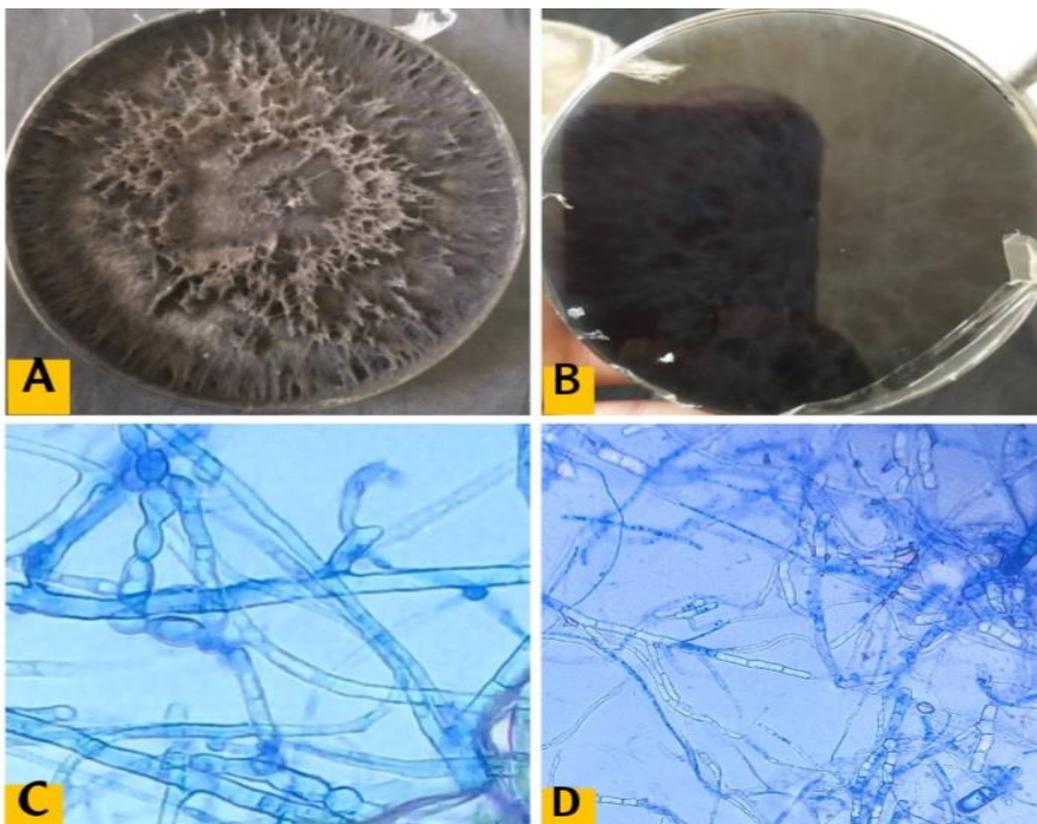
**V.1.2.2.1. *Botryosphaeria sp.*****❖ Caractères macroscopiques**

La culture de ce champignon sur le milieu PDA, présente des colonies régulières d'un aspect cotonneux. Le mycélium est blanc au départ, puis vire vers le gris clair pour devenir gris très foncé à noir. C'est un mycélium aérien, il devient très dense avec le temps

#### ❖ Caractères microscopiques

Le mycélium de ce champignon est coloré d'un brun très foncé à noir. Il est cloisonné et ramifié. Présence acrospores sont des spore de forme ovale se développant au sommet des filaments. De Notons l'absence de structures conidiogènes.

Cette description est en concordance avec celle citée par plusieurs auteur a savoir Úrbez-Torres et al ., (2006) et phillips et al(2013).



**Figure 56:** Caractéristiques morphologique de botryosphaeria sp âgé de 1 mois sur PDA, forme macroscopique (A), et face inférieure (B), aspect microscopique (10\* 40) de ( C ) et mycélium (D).

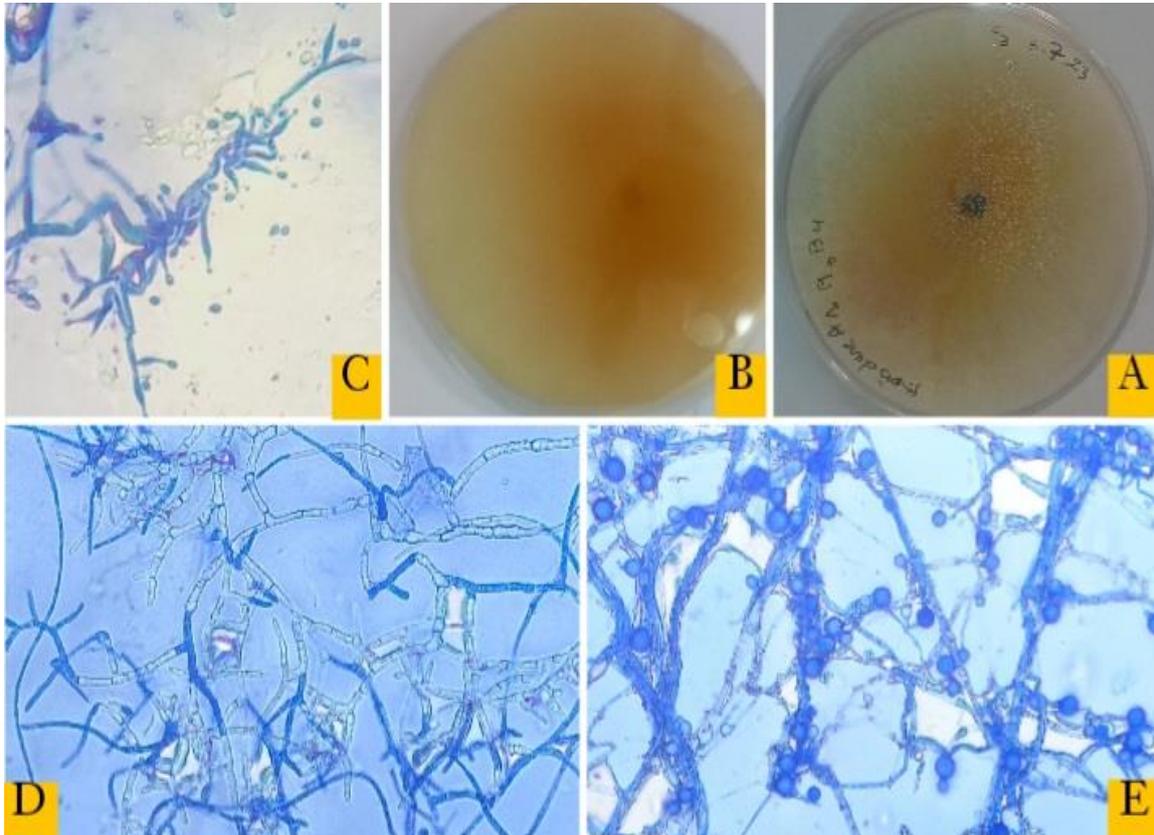
#### V.1.2.2.2. *Phaeocromonium sp*

#### ❖ Caractères macroscopiques

Il présente sur milieu PDA, une colonie blanc puis. Après une semaine d'incubation, elle diffuse dans le milieu un pigment jaunâtre dans le milieu. La colonie est de forme irrégulière de texture poudreuse.

### ❖ Caractéristiques microscopiques

Le mycélium est ramifié, cloisonné et de couleur brun clair. Les phialides sont effilées et se terminent par une étroite collerette. Les conidies sont hyalines et regroupées au sommet de la phialide. Elles sont oblongellipsoïdales à allongées. Les chlamydo-spores sont absentes. la forme des phialide de cette espèce rappelle celle de genre *phaeocromonium* décrit par (Mostert et al., 2006a).



**Figure 57:** Caractéristiques morphologique de *phaeocromonium sp* forme macroscopique Age de 1 mois sur PDA (10\* 40), face supérieure (A), face inférieure (B), Aspect microscopique des phialides avec des conidies (C) sur SNA, et mycélium (D).

#### V.1.2.2.3. Un champignon non identifiant

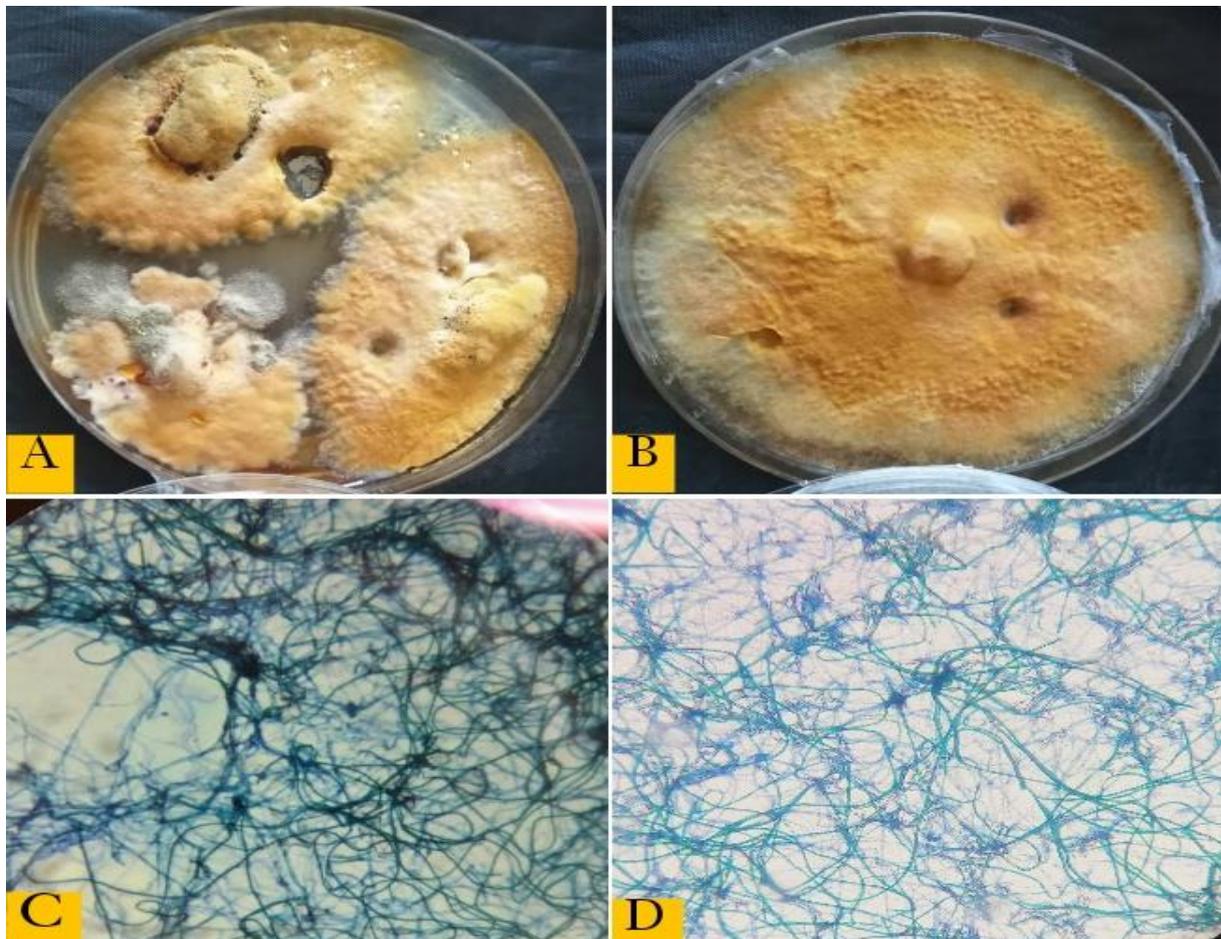
Nous avons obtenus plusieurs isolats de ces champignons et isolés seulement à partir de la pourriture blanche (amadou) qui a une texture spongieuse et friable nous avons observé aucun fructification malgré sa longue période d'incubation dans le milieu PDA et repiqué dans SNA.

❖ **Caractères macroscopiques**

La croissance de champignon sur milieu PDA est très lente présente des colonies jaunes. Mycélium : est aérien, il présente un aspect velouté et mamelonné

❖ **Caractères micro-morphologique**

- Le mycélium : est fin, de couleur jaune or et dépourvu de cloisons
- Ces observations révèlent l'absence de structures conidiogènes.



**Figure 58:** Caractéristiques morphologique de champignon Age de 1 moins sur PDA. Forme macroscopique (A), fragment de bois recouvre complètement par le champignon(B). Aspect microscopique mycélium(C) et (D).

**V.1.3. Résultat de biocide**

**V.1.3.1. Paramètres organoleptique d'huile essentielles de *Rosmarinus officinalis*.L,**

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle obtenue par l'hydrodistillation (HD) de *Rosmarinus officinalis*.L. selon son odeur, sa couleur et son aspect sont regroupés dans le tableau :

**Tableau 3:** Caractéristiques organoleptique d'huile essentielles de *Rosmarinus officinalis.L*,

Huile essentielle	couleur	Odeur	Aspect
( <i>Rosmarinus officinalis.L</i> )	Transparente	Forte odeur (agréable)	Liquide

### V.1.3.2. Le rendement d'huile essentielle

Le rendement d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis.L*, est mentionné dans le tableau suivant :

**Tableau 4:** Rendement de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis.L*,

Espèce	Quantité de la biomasse (g)	Quantité d'huiles essentielles (g)	Rendement(%)
<i>Rosmarins Officinalis.L</i> ,	200	1	0.5

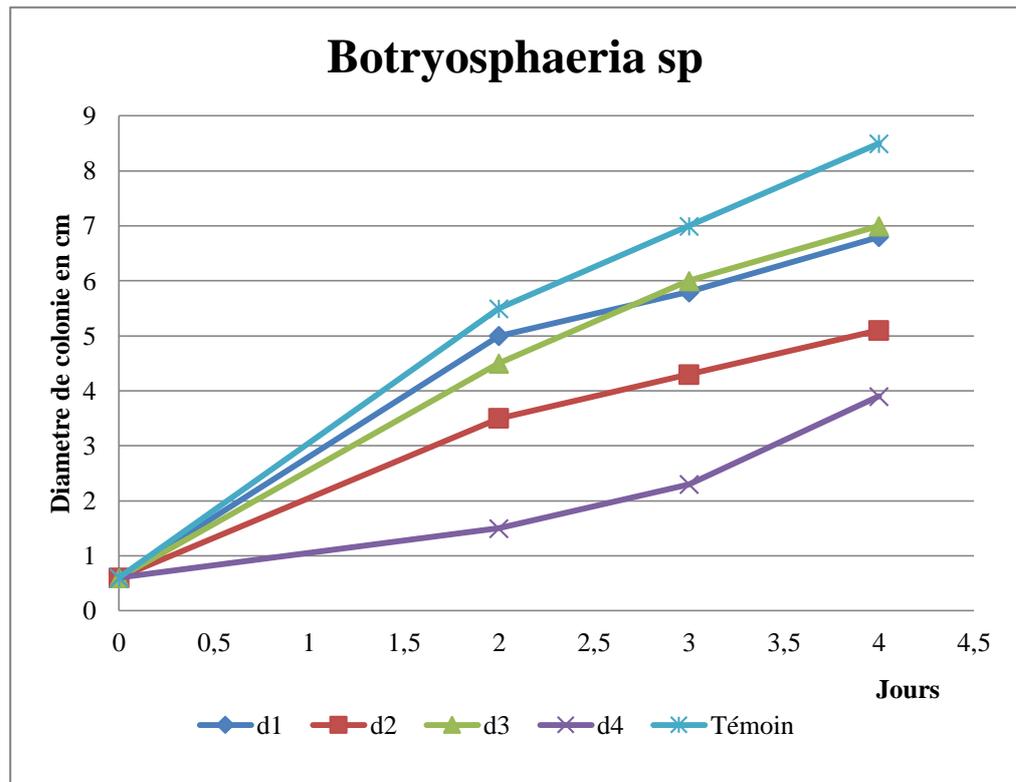
### V.1.3.3. Effet des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis.L*, sur l'activité antifongique des champignons causals d'Esca de vigne

Les résultats de l'effet de différentes doses d'huile essentiel de *Rosmarinus officinalis L*, sur la cinétique de croissance mycélienne de *Botryosphaeria sp*, *phaeocremonium sp* et *champignon X* sont présentés dans les tableaux suivants :

#### ❖ *Botryosphaeria sp*

**Tableau 5:** Taux d'inhibition pour chaque dose de l'HE par la méthode de Confrontation directe sur le champignon *Botryosphaeria sp*.

Doses	Taux d'inhibition (%)		
	J2	J3	J4
D1	9.09	17.14	20
D2	36.36	38.57	40
D3	18.18	14.28	17.64
D4	72.72	67.14	54.11

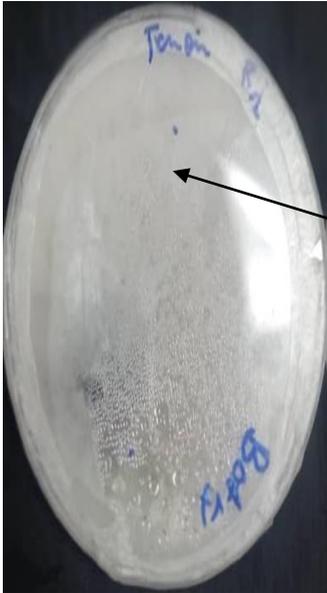
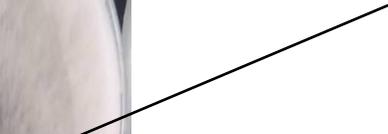
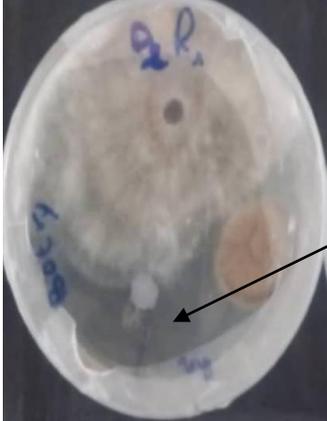


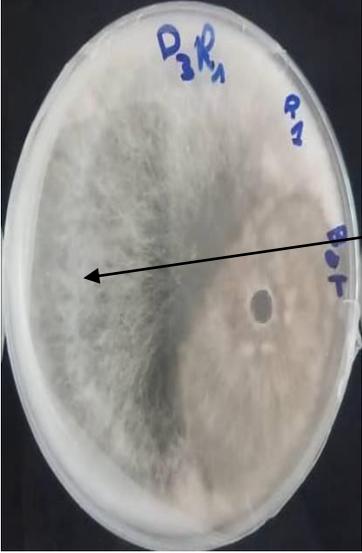
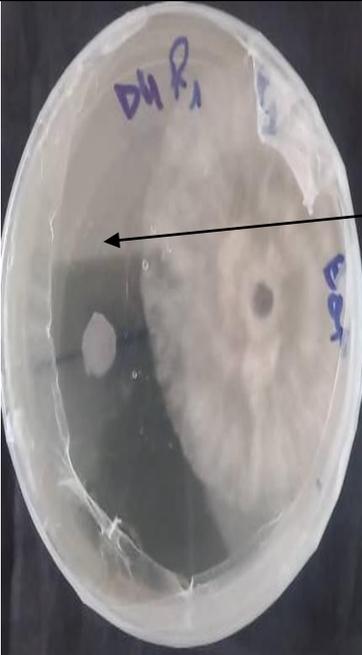
**Figure 59:** Evolution de la croissance mycélienne de *Botryosphaeria sp* en fonction d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis.L*,

La figure ci-dessus représente un graphique d'évolution de diamètre de colonie en (Centimètre) en fonction de temps (Jours).

A partir de ce graphique on peut classer le pouvoir antifongique d'HE *Rosmarinus officinalis.L*, le long de la période d'observation qui s'étale jusqu'à 4 jours d'incubation :  
La combinaison d'huile essentielle à l'état pure (dose4) : elle possède une inhibition totale, et dans cette situation l'espèce fongique *Botryosphaeria sp* est dite très sensible. Par ailleurs, l'inhibition n'est pas significative pour le reste des doses (d1, d2, d3) C'est ce qui semble expliquer leurs faibles efficacités vis-à-vis la croissance mycélienne du pathogène.

**Tableau 6:** Photos : Dernier jour de croissance du *Botryosphaeria sp* sur PDA en fonction des concentrations de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis.L*,

Doses	<i>Botryosphaeria sp</i>	
Témoin		 <div data-bbox="943 658 1399 779" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;">Croissance de champignon</div>
Dose1		 <div data-bbox="943 1173 1399 1294" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;">Croissance de champignon</div>
Dose2		 <div data-bbox="943 1697 1399 1818" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;">Zone d'inhibition</div>

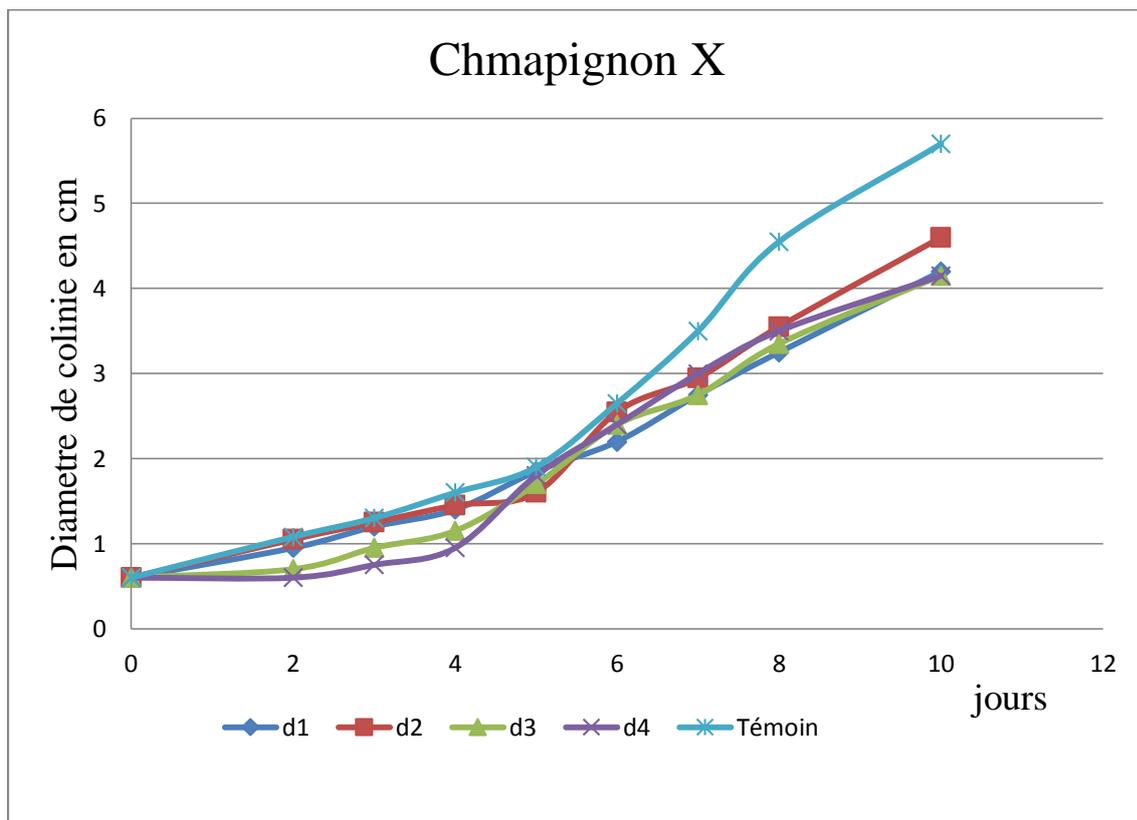
<p>Dose3</p>		<p>La croissance de champignon</p>
<p>Dose4</p>		<p>Zone d'inhibition</p>

Les résultats de l'effet de différente concentration d'huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* sur la croissance mycéliennes de champignon X sont présentés dans le tableau suivant07 :

❖ Champignon X

**Tableau 7:** Taux d'inhibition pour chaque dose de l'HE par la méthode de Confrontation directe sur le champignon X.

Doses	Taux d'inhibition(%)							
	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J10
D1	7.22	7.69	12.5	2.63	16.98	21.42	28.57	26.31
D2	2.77	3.84	9.37	16.78	3.77	15.71	21.97	19.29
D3	35.18	26.92	40.62	10.52	9.43	21.42	26.37	27.19
D4	44.44	42.30	40.62	5.26	9.43	14.28	23.07	27.19



**Figure 60:** Evolution de la croissance mycélienne de champignon X en fonction de différentes concentrations d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis.L*,

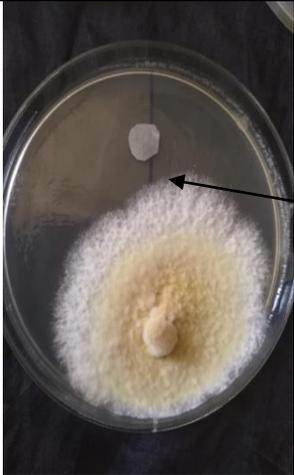
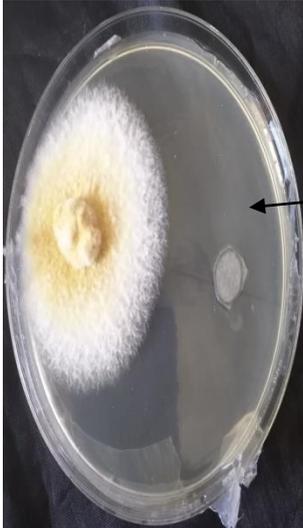
La figure ci-dessus représente un graphique d'évolution de diamètre de colonie en (Centimètre) en fonction de temps (Jours),

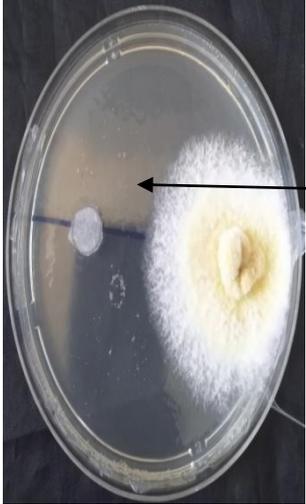
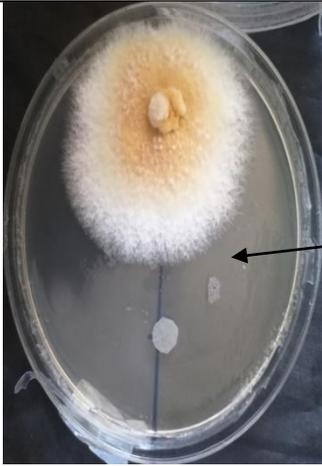
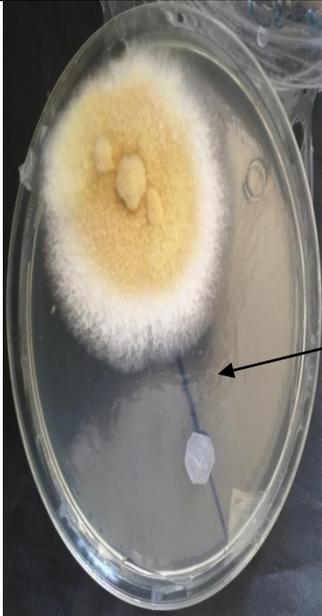
L'examen des résultats obtenus après la culture du champignon confronté à huiles testées, a permis de soulever les constatations suivantes :

La croissance mycélienne du champignon phytopathogène est similaire pour toutes les concentrations des doses utilisés pour l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis.L*, durant les premiers 4 jours.

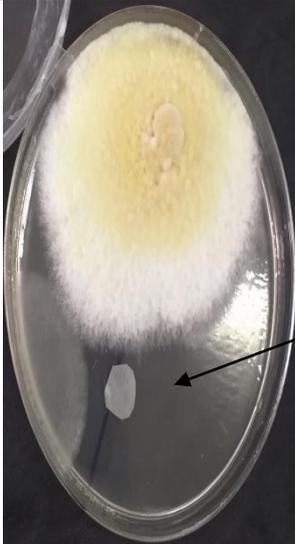
L'augmentation élevée de la croissance mycélienne du témoin a partir du 6<sup>ème</sup> de la période d'incubation montre l'absence d'inhibition de la croissance du champignon phytopathogène, alors l'inhibition est significative que pour les quatre doses (d1, d2, d3, d4), ce qui montre l'efficacité d'huile utilisée quel que soit la dose.

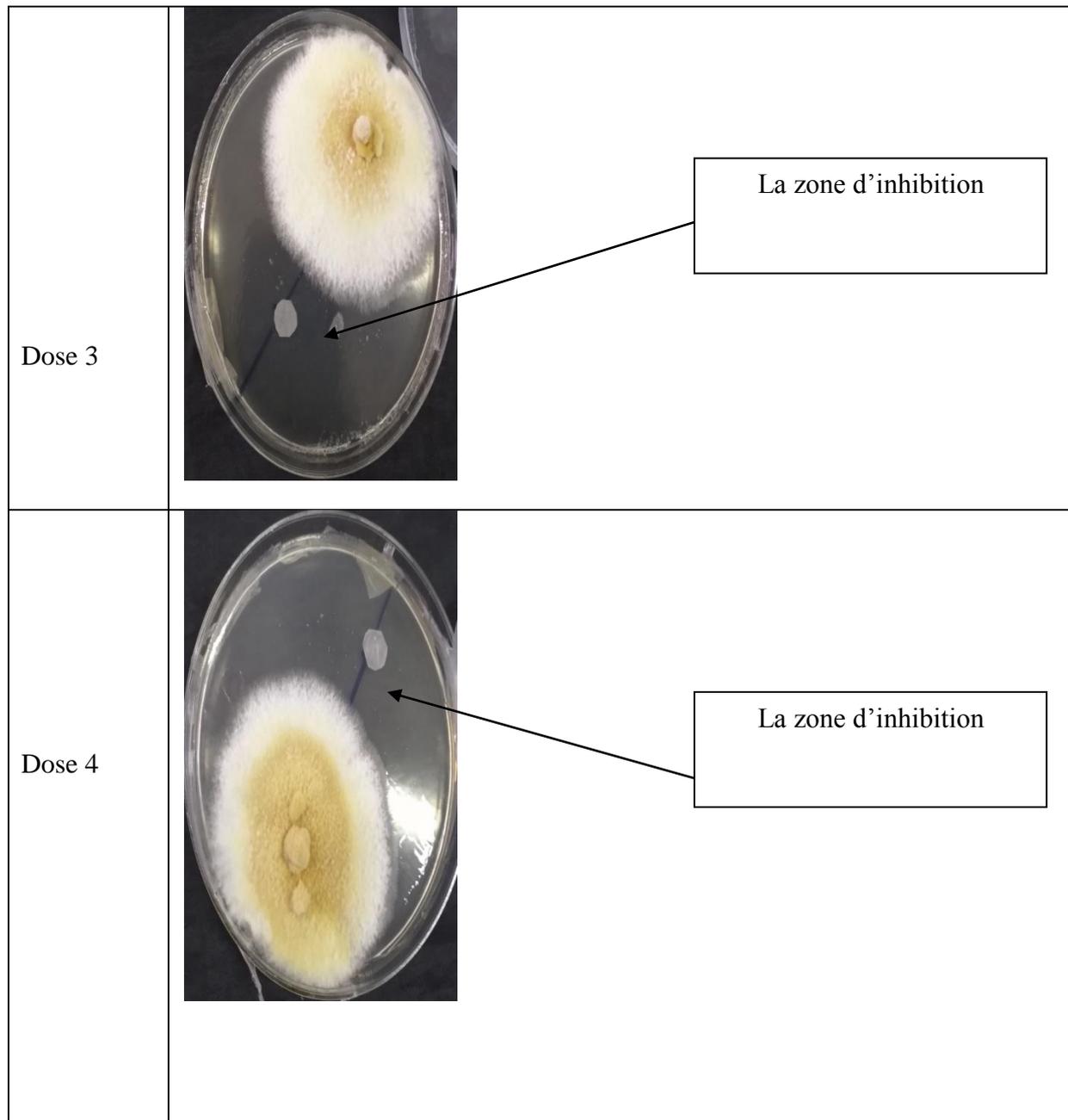
**Tableau 8:** Photos : 8 jours de croissance du champignon X sur PDA en fonction des concentrations de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L*.

Doses	Champignon X	
Témoin		 <div data-bbox="932 949 1500 1070" style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">La zone d'inhibition</div>
Dose 1		 <div data-bbox="948 1406 1500 1532" style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">La zone d'inhibition</div>

Dose 2		<p>Zone d'inhibition</p>
Dose 3		<p>Zone d'inhibition</p>
Dose4		<p>Zone d'inhibition</p>

**Tableau 9:** Photos: 10 jours de croissance du champignon X sur PDA en fonction des concentrations de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis.L*,

Doses	Champignon X	
Témoin		<div data-bbox="943 555 1385 674" style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">La zone d'inhibition</div> 
Dose1		<div data-bbox="963 1117 1402 1249" style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">La zone d'inhibition</div> 
Dose 2		<div data-bbox="983 1594 1402 1727" style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">La zone d'inhibition</div> 



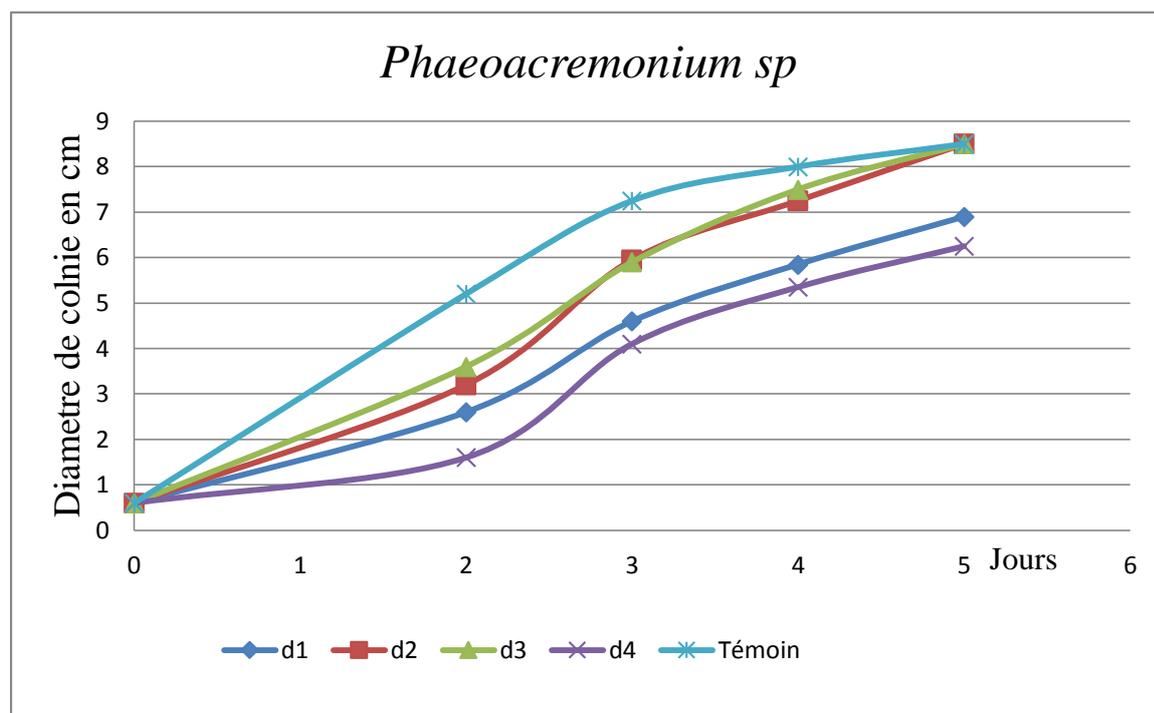
Les résultats de l'effet de différente concentration d'huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis.L*, sur la croissance mycélienne de *Phaeocremunium sp* sont présentés dans le tableau suivant:

❖ *Phaeocremonium sp***Tableau 10:** Taux d'inhibition pour chaque dose de l'HE par la méthode de Confrontation directe sur le champignon *Phaeocremonium sp*

Doses	Taux d'inhibition (%)			
	J1	J2	J3	J4
D1	50	36.55	26.87	18.82
D2	38.46	17.93	9.37	14.70
D3	30.76	18.62	6.25	1.17
D4	69.23	43.44	33.12	26.47

En effet les premières observations indiquent une légère augmentation de la croissance fongique dans les milieux contenant les doses 1 et 2 d'huile essentielles par rapport au témoin. Au-delà de cette période, l'augmentation devient, de plus en plus, significative.

Il semble que l'HE de *Rosmarinus officinalis.L*, présente un effet inhibiteur sur la croissance du *Phaeocremonium sp* D'autre part, l'effet inhibiteur devient important selon la dose et dans le temps.



**Figure 61:** Evolution de la croissance mycélienne de *Phaeoacremonium sp* en fonction d'huiles essentielles *Rosmarinus officinalis.L*,

La figure ci-dessus représente un graphique d'évolution de diamètre de colonie en (Centimètre) en fonction de temps (Jours),

Les résultats obtenus pour ce test de l'activité d'huile essentielle testée sur la croissance mycélienne de champignon phytopathogène *Phaeoacremonium sp* varie considérablement en fonction des concentrations des doses utilisées pour l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis.L*, L'examen des résultats obtenus après la culture du champignon confronté à huiles testées, a permis de soulever les constatations suivantes :

La croissance mycélienne du champignon phytopathogène *Phaeoacremonium sp* est similaire pour toutes les concentrations de doses utilisées pour l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis.L*,

Le long de la période d'incubation de notre test on observe une augmentation de la croissance mycélienne de champignon phytopathogène *Phaeoacremonium sp*  
Les résultats montrent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis.L*, Exerce un effet inhibiteur de la croissance du *Phaeoacremonium sp*.

## V.2. La Discussion

L'analyse des résultats obtenus de notre diagnostic symptomatologique de vignoble étudié et de principaux isolaments fongiques liés à l'Esca et non liés effectués au laboratoire.

### V.2.1. L'évaluation de la symptomatologie interne et externe de cep de vigne

Les résultats des enquêtes sur le terrain ont confirmé la présence de la maladie de dépérissement de la vigne : l'Esca.

Sur le terrain nous avons observés les deux formes de l'Esca. Ces altérations ont été localisées sur une partie et parfois sur la totalité du cep. Les ceps qui manifestent la forme lente caractérisée par des feuilles montrant des dessiccations internervaires, donnant un aspect marbré au feuillage. Les nécroses sont entourées d'un liseré rouge chez les cépages noirs comme a été observé par (Mugnai et al., 1999), Et un flétrissement ou un dessèchement des grappes, ces flétrissements s'étendent à l'ensemble du rameau, la forme foudroyante caractérisée par un dessèchement des ceps totalement et soudainement et ce, pendant les températures très élevées à laquelle nous avons assisté fin de juillet, cette manifestation déjà signalée par Berraf et Peros (2005) lors des enquêtes réalisées dans différentes régions viticoles de l'Algérie telle que Médéa, Tlemcen, Ain Tmouchente, Alger. Et observées dans les vignobles français par (Iarigo, 2009), Afrique de sud (White et al., 2011).

Divers types de lésion du bois, notamment, une nécrose irrégulière du bois, une nécrose centrale, des taches noires et la pourriture blanche du bois. Ont également été observés et enregistrés dans des coupes transversales du tronc et des branches collectés. Elles sont identiques à celles décrites par Mugnai et al. (1996), Péros et al. (2008)

En plus de ces symptômes nous ajoutons une mortalité assez importante des ceps qu'ils sont arrachés plutôt. Ce phénomène a déjà été rapporté par Mur et Branas, (1991) ; Berraf et Peros (2005) et White et al. (2011) dans différents vignobles à travers le monde.

### V.2.2. Les isolats fongiques responsables de l'esca de la vigne

D'après (Larignon et Dubos, 1997) considèrent que l'Esca est due à une succession fongique impliquant des espèces pionnières, comme *Phaeomoniella chlamydospora* et *Phaeoacremonium aleophilum*, suivies d'un cortège d'espèces appartenant à différents groupes de champignons suivant les régions géographiques: *Cephalosporium spp.*, *Eutypa lata*, *Phialophora spp.*, *Acremonium spp.*, *Botryosphaeria spp.*, *Phomopsis viticola* et *Fomitiporia mediterranea*.

Les résultats de cette étude ont montré que les vignes de la région de BIR TOTA sont infectées par deux champignons connus provoquant la maladie de l'Esca, les données morphologiques fournies ont prouvé qu'au moins *phaeocromonium sp*, *botryosphaeria sp* sont présents sur les vignes de cette région. En plus de ces taxons plusieurs isolats *pinicilium sp*, *fusarium spp*, *tkicoderma sp*, *aspergillus niger*, *alternaria sp*, *chladosporium sp*, ont été isolés des vignes symptomatiques. Des études réalisées par (Mugnai et al., 1996) ont expliqué que cette microflore a été rapportée comme flore d'accompagnement associée aux isolations réalisées sur les ceps de vigne.

### V.2.3. Localisation des champignons dans les différents nécroses

Nous avons isolé ces champignons à partir de type de nécrose différent, En effet, plusieurs chercheurs (FISCHER et KASSEMEYER, 2003) rapportent que l'isolement systématique de champignon à partir de bois décoloré indique une relation étroite entre les différents stades de détérioration du bois et des taxons fongiques particulières.

#### ❖ *botryosphaeria sp*

Ce champignon a été isolé à partir de tous les types de nécrose tendre et claire ou brune et dure de bois de collet. Sa s'explique par Larignon (1991), par sa capacité à se développer dans le bois sain sans avoir un effet appréciable sur celui-ci. Ou encore, par le fait qu'il soit parmi les envahisseurs tardifs de la colonisation du bois.

Ce champignon a été isolé à partir des vignes infectées à travers le monde, en Egypte (El-Goorani et El Meleigi, 1972). En Portugal (Phillips, 1998). En Italie (Rovesti L., and Montermini A. 1987).

#### ❖ *Phaeocromonium sp*

Le genre *phaeocromonium* est isolé à partir de nécrose dure et brune de bois de collet des ceps symptomatiques, Il convient aussi de noter, que ce champignon intervient dans les toutes premières étapes de la colonisation du bois. D'où leur rôle de pionniers dans la maladie de l'esca (Jamaux-Després, 1997)

#### ❖ *phaeomoniella chlamydospora*

Il est nécessaire de noter l'absence de champignon dans les isolats obtenus malgré la présence de symptôme typique. et malgré la présence de ce champignon dans ce type de cépage (cardinal), selon l'étude de (BERRAF- TEBBAL A, 2004) qui a été faite en Algérie.

Selon FISCHER et KASSEMEYER (2003), Ce champignon est difficile à isoler en raison de la croissance lente des colonies, qui peut nécessiter plusieurs semaines avant de sortir du bois chips sur des plaques de gélose.

#### V.2.4. Evaluation de l'activité antifongique

Après l'interdiction de l'arsénite de sodium en 2001, seul traitement chimique capable de limiter l'esca de la vigne (**Hewitt, 1952 et Desaché et al., 1995**).

Les huiles essentielles démontrent une grande efficacité en tant qu'agents antifongiques grâce à leur capacité à cibler plusieurs mécanismes simultanément, résultant de leur diversité de composés photochimiques (**Bakkali et al., 2008**). Cette efficacité antifongique est attribuable aux composants actifs présents dans ces huiles, notamment les terpènes, qui influent non seulement sur la perméabilité des membranes mais également sur d'autres fonctions cellulaires (**Omidbeygi et al., 2007 ; Cristani et al., 2007**). De plus, l'efficacité antifongique des huiles essentielles peut être expliquée par l'effet synergique résultant de l'interaction entre divers composés.

L'objectif de cette partie de notre travail consiste à faire une évaluation de l'activité antifongique des HEs de *Rosmarinus officinalis L* vis-à-vis de *botryosphaeria sp* et *phaeocromonium sp* ainsi que d'autres champignons non identifiés mais c'est intéressant pour cette maladie.

La valeur du rendement moyen en HE de la partie aérienne de la plante étudiée était importante de 0,5 % après 120 min pour 200g par rapport à 0,35% obtenue par **Bousbia, 2013** après 180 minutes pour 500 g de la matière végétale, et inférieure à celle citée par les auteurs : Biljana et al., 2007 (1,18%)

**AFNOR, (1992)**, signale que la variabilité du rendement est probablement liée à la variation des facteurs suivants : le stade de croissance, les conditions pédo-climatiques, la période de la récolte, le temps de la récolte, séchage ....

À la limite de nos connaissances, aucune étude n'a été identifiée concernant l'utilisation de l'huile essentielle de romarin en tant que biocide pour inhiber la croissance mycélienne des champignons responsables de la maladie de l'esca de la vigne. Nous avons été contraints de rechercher d'autres champignons infectant la vigne pour notre discussion. Dans ce travail, nous avons examiné des études réalisées sur le *botrytis cinerea*.

Concernant le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de romarin vis-à-vis du *botryosphaeria sp*, ne montre pas des résultats prometteurs. En effet, seule la deuxième dose et la solution mère, ont montré une réponse significative en termes d'inhibition de la croissance mycélienne. Aucun des dilutions de cette solution n'a eu d'effet observable sur le pathogène. Mais l'inhibition n'a été pas totale dans les tests avec la concentration faible.

Étant donné l'importance de *Botrytis cinerea* en phytopathologie, elle a fait l'objet de plusieurs autres études. En Turquie **Soylu et al. (2010)** a testé l'effet de l'huile essentielle de

d'origan, *Rosmarinus officinalis. L* et de *Lavandula angustifolia* sur *Botrytis cinerea*. Les huiles essentielles de romarin ont montré une inhibition significative (élevées) à une concentration de 25,6 µg/ml.

L'effet de l'huile essentiel de *Rosmarinus officinalis.L*, sur la croissance mycélienne de champignon *Phaeocremonium sp* a montré que ce champignon est sensible vis-à-vis cette huile avec des taux d'inhibition variés entre 18% 26% et 38%. D'autre part, Il semble que l'huile essentielle a exercé un effet inhibiteur sur la croissance de champignon comparé au témoin. Dans une étude similaire, (Laib, 2012) révèle que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis.L*, peut expliquer une activité antifongique contre *Botrytis cinerea*, champignon responsable de pourritures, ainsi que d'autres espèces fongiques.

Par comparaison des trois champignons étudiés en ce sujet : *Botryosphaeria sp*, Champignon X et *Phaeocremonium sp*, par l'effet d'huile essentielle utilisée comme une activité antifongique il semble que : le champignon phytopathogène *Botryosphaeria sp* le plus sensible par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis.L*,. par ailleurs l'inhibition est significative pour le champignon X quel que soit la dose d'huile utilisée, pour le champignon *Phaeocremonium sp* Il semble que l'HE de *Rosmarinus officinalis.L*, présente un effet inhibiteur sur la croissance du *Phaeocremonium sp*, D'autre part, l'effet inhibiteur devient important selon la dose et dans le temps.



# **Conclusion**

### Conclusion

Le travail présenté dans cette étude a mis en lumière la gravité de l'Esca, et du dépérissement de la vigne en général dans la région de BIR TOUTA

Dans l'objectif d'identifier les agents fongiques impliqués dans cette maladie, nous avons réalisé plusieurs visites au site d'étude pour l'observation de l'expression des symptômes, externes sur les ceps et pour les prélèvements des échantillons à partir de différents organes (racines, rameaux et collet) et à partir du sol.

À l'aide des méthodes d'isolements, nous avons réussi à constituer une collection de 140 isolats de 24 ceps examinés permettant d'identifier les agents phytopathogènes suivants : *phaeocromonium sp* et *Botryosphaeria sp*. En plus de ces taxons, plusieurs champignons ont été isolés et rapportés comme une flore d'accompagnement associée aux isolements réalisés sur les ceps de vigne : *pinicilium sp*, *fusarium spp*, *trichoderma sp*, *aspergillus niger*, *alternaria sp*, *chladosporium sp*. Et nous avons obtenu plusieurs isolats d'un champignon isolé à partir de la pourriture blanche, mais la caractérisation morphologique de cet agent fongique s'est avérée insuffisante pour une discrimination fiable de l'espèce.

pour le but de trouver des solutions biologiques et alternatives de l'arsénite de sodium pour faire face à la maladie de dépérissement cas d'Esca de la vigne de la région de BIR TOTA nous avons testé l'efficacité d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* la croissance mycélienne des trois champignons causaux de la maladie, les résultats de l'analyse ont montré une activité de cette huile essentielle sur la croissance mycélienne des trois champignons responsables d'Esca de la vigne. En effet, le champignon X a montré une croissance limitée seulement à de faibles doses, tandis que les *phaeocromonium sp* et *botryosphaeria sp* ont montré un effet presque similaire sur la croissance, mais nécessitaient des doses plus élevées pour être inhibés.

Cette étude réalisée sur l'Esca ouvre de nombreuses pistes de recherches. Mais plusieurs aspects fondamentaux restent encore à clarifier. L'analyse plus précise de chacun des facteurs susceptibles d'influencer ces maladies (cépage, porte-greffe, mode de conduite, âge ainsi que les conditions climatiques) permettrait de dégager un ensemble de pratiques à adopter pour éviter leur développement. Aussi, l'élaboration d'une lutte rationnelle dirigée contre les champignons pionniers est indispensable pour limiter la progression dans le bois des différents cryptogames responsables de la dégradation des tissus ligneux.



## **Références bibliographiques**

**Références bibliographiques**

1. **A.M. Denizot., (2007).** Note nationale : Les maladies du bois : ENTAV-ITV France, inra, ENITAB
2. **AFNOR. (1992).** Recueil des normes françaises ; huiles essentielles.
3. **Agenis-nevers M., (2005).** Impact de changement climatique sur les activités vitivinicole, Note technique n°3.
4. **Aigrain P., Duchêne E., Garcia I., Gautier j., Giraud-Heraud E., Hannin H., Ollat N., Touzard J., (2020).** Adaptation au changement climatique : l'intérêt d'une démarche prospective, BIO Web of Conferences, inPress, 7,10.1051,p2.
5. **Amreen T., Kumar VBS., (2012).** In vitro evaluation of native *Trichoderma harzianum* against major fungal pathogen of flower and fruit crops. *Environment and Ecology* 30: 1039- 1041
6. **ANONYME 1., (2006).** Viticulture: notions de base. [Altervinoinwww.google.fr](http://www.google.fr).
7. **Bakkali F., Averbek S., Averbek D. and Idamar M., (2008).** Biological effects of essential oils. *Review. Food Chem. Toxicol* 46: pp. 446-475.
8. **Barnes I., Roux J., Wingfield M. J., Coetzee M. P. A., Wingfield, B. D., (2001).** Characterization of *Seiridium* spp. associated with cypress canker based on  $\beta$ -tubulin and Histone sequences. *Plant Disease* 85: 317–321.
9. **Bassini F., (2002).** Les maladies de dégénérescence de la vigne, Etude bibliographique, étude de terrain et hypothèses d'amélioration, Certificat de spécialisation à l'agriculture biologique. <https://www.soin-de-la-terre.org/wp-content/uploads/Les-maladies-de-degenerescnce-de-la-vigne>
10. **Becart V., et Iacroux R., (2022).** le débourrement c'est pour quand. Le UIGNERON le magazine des cotes du Rhône et du sud-est. Institut rhodanier viticulture .
11. **Benard-Gellon M., Farine S., Goddard M L., Schmitt M., Stempien E., Pensec F., Laloue H., Mazet-Kieffer F., Fontaine F., Laringo, P. Chong, J. Tamus,C. Bertsch,C. (2015).** Toxicity of extracellular proteins from *Diplodia seriata* and *Neofusicoccum parvum* involved in grapevine botryosphaeria dieback. *Protoplasma* 252:679-687.
12. **Bénard-Gellon M., Stempien E., Laloue H., Farine S., MazetKieffer F., Bertsch b.,et Chong J., (2015).** Réactions de défenses induites par les composés extracellulaires des *Botryosphaeriaceae* sur des cultures cellulaires de *Vitis*, les maladies du bois de la vigne, Colmar ,Université Haute-Alsace, institut de vigne et de vin .

13. **Benarous K., (2006).** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales. Mémoire d'ingénieur Univ Amar Telidji, Laghouat Algérie. pp 1-33
14. **Beraff T. A., (2004).** INCIDENCE DE L'ESCA ET DE L'EUTYPIOSE DANS QUELQUES VIGNOBLES ALGERIENS ET IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS PATHOGENES ASSOCIES, ehese, universite UNIVERSITE SAAD DAHLEB – BLIDA.
15. **BERRAF A., et PÉROS J-P., (2005).** Importance de l'eutypiose et de l'esca en Algérie et structure de la communauté fongique associée. Université de Blida et UMR DGPC Équipe Vigne, INRA, 2 place Viala, 34060 Montpellier cedex 1, France. n°3, 2005.
16. **Bertrand L., (2016).** Approche éco-anatomique du bois de vigne (*Vitis vinifera L.*) pour une meilleure connaissance de l'histoire de la viticulture en Méditerranée nordoccidentale, mémoire pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études, ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES Sciences de la Vie et de la Terre.
17. **Bertsch, C., Ramírez-Suero M., Magnin-Rober,t M. Larignon P., Chong J., AbouMansour E., Spagnolo A., Clément C., et Fontaine F., (2013).** Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood. *Plant Pathology* 62, 243–265.
18. **Blancard D., Yanitch A., (2018).** principaux symptômes <http://ephytia.inra.fr/>
19. **Blancard D., Corio-Costet M. (2016).** Principaux symptôme <http://ephytia.inra.fr/>
20. **Blancard D., (2016).** Elsinoëampelina. <http://ephytia.inra.fr/fr/C/7124/> Vigne- Principaux symptômes
21. **Bonthond G., Sandoval-Denis M., Groenewald J.Z., Crous P.W., (2018):** Seiridium (Sporocadaceae): An important genus of plant pathogenic fungi. *Persoonia*, 40: 96–118.
22. **Bostock, J. M. D., Riley, F. . R. S. H. T., and Esq., B. A., (1855).** The Natural History. Pliny the Elder. :Book 17, Chapter 37 Available at: <http://www.perseus.tufts.edu/hopper/text?doc=Perseus%3Atext%3A1999.02.0137%3Abook%3D17%3Achapter%3D37> [Accessed October 1, 2012].
23. **Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J P., Raymond P., Anglier J., Vayssier Y., Veau P., (1990).** Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Ed. Masson, Paris.

24. **Bourgeois C M., Leveau J.Y., 1980** - Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire. Tome 3. Contrôle microbiologique. Ed. technique et documentation .Lavoisier. Paris.
25. **Bousbia N, (2013)**. Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires, thèse doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El Harrach, Alger.
26. **Bruez E., (2013)**. Étude comparative des communautés fongique et bactériennes colonisant le bois de ceps de vigne ayant exprime ou non des symptômes desca, thèse, université de bordeaux 2.
27. **Bruez E., Vallance J., Gerbore J., Lecomte P., Guerin-Dubrana L., Rey P., (2011)**.Characterization of endophytic microflora colonizing wood tissues of healthy and Esca-diseased vines. *Phytopathology*. 101(6): 21
28. **CARISSEO.,BACONR.,LASNIERJ.etMCFADDEN-SMITHW., (2006)**. Guided'identification des principales maladies de la vigne.Agricultueet Agroalimentaire.Canada.29p.
29. **Champion R., (1997)**. Identifier les champignons transmis par les semences. INRA, 1 ere Edition, Paris.400p.Danti, R., Barberini, S., Pecchioli, A., Di Lonardo, V., and Della Rocca, G. 2014. The epidemic spread of *Seiridium cardinale* on Leyland cypress severely limits its use in the Mediterranean. *Plant Dis*. 98:1081-1087.
30. **CHIARAPPA L., (1997)**. *Phellinus ignarius*: the cause of spongy wood decay of black measles ("esca") disease of grapevine. *Phytopathol. Mediterr.*, 36, 109-111.
31. **Chiarappa L., (2000)**. Esca (black measles) of grapevine. An overview. *Phytopath. Médit.*, N°39, 11-15.
32. **Christelle S., (2019)**. La saison de la vigne démarre de manière précoce. [www.charlois.com](http://www.charlois.com)
33. **Ciccarone C., Schiaffino A., Marras F.S., Graniti A., (2004)**. Molecular Analysis of Fomitiporia mediterranea Isolates from Esca-Affected Grapevines in Southern Italy,*Phytopathol. Mediterr.* (2004) 43, 268–272
34. **Cournut B., (1984)**. Le genre *Trichoderma* hyphomycètes. Th: Pharmacie: Marseille : 77 p.
35. **Crespy A., Pott A., (2003)**. Fonctionnement des terroirs et savoir-faire viticole: les clés de la qualité. *Oenoplurimédia*.

- 36. Crous PW., Gams W., Wingfield MJ., van Wyk PS., (1996).** Phaeoacremonium gen. nov. associated with wilt and decline disease of woody hosts and human infection. Mycologia 88: 786-796.
- 37. 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.
- 38. Cyril Jousse., (2006).** Contribution a la lutte contre les maladies du bois de la vigne, En particulier LESCA, thèse de doctorat, université de Poitier.
- 39. Davet P et rouxe F., (1997).** Detection et isolement des champignons du sol INRA, paris, 177p.
- 40. Debray F., (1892).** Apoplexie de la vigne. Prog. Agric. Vitic., 17, 528-531.
- 41. Desache F., Courlit Y., and MENARD E., (1995).** Optimiser la lutte chimique contre l'esca. Résultats de six années d'expérimentation en Charentes (1988-1993). Phytoma, n°470, 29-31
- 42. Díaz Gonzalo A., et Bernardo A. Latorre., (2013).** « Efficacy of Paste and Liquid Fungicide Formulations to Protect Pruning Wounds against Pathogens Associated with Grapevine Trunk Diseases in Chile ». Crop Protection 46 (avril): 106-12. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.01.001>
- 43. Dissanayake JD., Phillips AJL., hyde KU., (2016).** Botryosphaeriaceae :current statusof genera and species, 10.5943/mycosphere/si/1b/13.
- 44. Dubos B., (2002).** Les maladies cryptogamiques de la vigne. Champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne. Edition Ferret (2eme édition).
- 45. Dubos B., (2002).** Maladies cryptogamiques de la vigne : champignons parasites des organes herbacées et du bois de la vigne. Ed Féret, Bordeaux, 08p
- 46. Erkan M., (2000).** A general approach for esca disease in the vineyards of Turkey. Phytopath. Medit., N°39, N°1, 35-37
- 47. Eskalen A., Rooney Latham S., Felicianon A.J., Gubler W.D., (2004).** Epiphytic occurrence of esca and Petri disease pathogens on grapevine tissues. Phytopathologia Mediterranea 43, 154
- 48. and Phaeomoniella chlamydospora.** Plant Disease 91, 1100–1104.

49. **Estreicher S., (2014).** A Brief History of Wine in South Africa. *Eur. Rev.* 22:504–537.
50. **Farine S., Gellon M., Fuchs J., Perrin C., Pierron R., Tarnus C., et Berstch Ch.,** Mécanismes de dégradation non enzymatique du bois et Maladie Du Bois de la Vigne, Laboratoire Vigne, Biotechnologies et Environnement - EA 3991 – UHA, 33 rue de Herrlisheim – 68000 Colmar – France INSTITUT FRANÇAIS DE LA VIGNE ET DU VIN, COMPTE RENDU. <https://bourgognefranche-comte.chambres-agriculture.fr/>
51. **Ferreira J.H.S., Matthee F.N., Thomas A.C., (1989).** Fungi Associated With Dieback and Pruning Wounds of Grapevines in South Africa. *S. Afr. J. Vitic.*, N°2, 62-66.
52. **FISCHER M., (2002).** A new wood-decaying basidiomycete species associated with esca of grapevine: *Fomitiporia mediterranea* (Hymenochaetales). *Mycol. Prog.*, 1, 315-324.
53. **Fischer M., and kassemeyer H-H., (2003).** Fungi associated with esca disease of grapevine in Germany. *Vitis*, 42, 109-116.
54. **Fourie P., H halleen F., van Der vyver J., and Schrueder W., (2001).** Effect of *Trichoderma* treatments on the occurrence of decline pathogens on the roots and rootstocks of nursery plants. *Phytopathologia mediterranea* 40: S473-S478
55. **Fussler L., Kobes N., Bertrand F., Maumy M., Grosman J., & Savary S., (2008).** A characterization of grapevine trunk diseases in France from data generated by the National Grapevine Wood Diseases Survey. *Phytopathology*, 98(5), p.571–579.
56. **Galet P., (1999).** Précis de pathologie viticole. 3eme édition. 81-86.
57. **Galet P. 2000.** Dictionnaire encyclopédique des cépages. Hachette, Paris. 936 p.
58. **Galet P., (1988).** Cépages et vignobles de France. Tome : les vignes américaines. Imp. Dehan, Montpellier. 553p.
59. **Galet P., (1993).** Précis de viticulture. 6ème édition, Montpellier, 585p.
60. **Gindro K., Viret O., (2014).** Maladie fongique, route de duillier 50, 1260 Nyon 1 suisse .
61. **Grover R.K., Moore J.D., (1962).** Toximetric studies of fungicides against brown rot organism: *S. fructicola* and *S. laxa*, *Phytopathology* 52 (1962) 876–880
62. **Hewitt W.B., (1952).** Some responses of grapevines to sodium arsenite spray for black measles control. *Phytopathology*. 42, 158-161.

- 63. Hofstetter V., Dubuis P-H., Zufferey V., Fabre A-N., Viret O., et Gindro K., (2017).** Maladies du bois de la vigne: état des lieux et axes de recherche d'Agroscope, Institut des sciences en production végétale IPV, 1260 Nyon, Suisse P89.
- 64. Isman M.B., (2001).**, pesticides based on plant essential oils for management of plant pests and diseases. *In International symposium on development of natural pesticides from forest resources.* Korea forest research Institute Seoul.pp. 1-9.
- 65. Jousse C., (2006).** Contribution a la lutte contre les maladies du bois de la vigne, En particulier LESCA, thèse de doctorat, université de Poitier
- 66. Khalem A., (2017).** Evaluation des activités antioxydants et antimicrobiennes des extraits de lavignerouge *Vitis vinifera* sp au niveau de la wilaya de boumerdes, 4p
- 67. Kubicek C.P; Bissett J., Druzhinina I., Kullinig-Gradinger C., et Szakacs G.,(2003).** Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* sp.; a case study on south-east asian isolates. *Fungal Genet. Biol.*, 38 (3): 310-319.
- 68. Laib I., (2012).** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs. Revue « Nature & Technologie », N° 07, 44-52
- 69. LAMBERT, C. (2011).** Étude du rôle des stilbènes dans les défenses de la vigne contre les maladies du bois, thèse de doctorat n° 1910, Université Bordeaux Segalen.
- 70. Landreau, A., (2001).** Métabolites d'une souche de *Trichoderma Koningii* Oudemans isolée du milieu marin : Etude chimique, Biologie et risques pour les coquillages en culture. Th:Pharmacie : Nantes, 201p.
- 71. Larignon P., (2016).** Maladies cryptogamiques du bois de la vigne : symptomatologie et agents pathogènes. [Http://www.vignevin.com](http://www.vignevin.com), 2ème édition, janvier 2016.institut de vigne et de vin.
- 72. Larignon p., and Dubos B., (1997).** Fungi associated with esca disease in grapevine. *Eur. J. Plant Pathol.*, 103, 147-157.

- 73. Larignon P., Spagnolo A., Bertsch C., and Fontaine F., (2015).** First report of young grapevine decline caused by *Neofusicoccum parvum* in France. *Plant Disease*. Vol 99, n° 12: 1859. <https://doi.org/10.1094/PDIS03-15-0280-PDN>
- 74. Larignon P., et ITV France., (2004).** France, rencontre technique les maladies de bois en Midi-Pyrénées ESCA et BDA, Station Régionale ITV Midi-Pyrénées, Chambre Régionale d'Agriculture, p16. [https://www.vignevin-occitanie.com/wp-content/uploads/2018/11/COLLOQUE\\_Maladies-bois-integral](https://www.vignevin-occitanie.com/wp-content/uploads/2018/11/COLLOQUE_Maladies-bois-integral).
- 75. Larignon p., Fontaine F., Farine F., Clément C., Bertsch C., (2009).** Esca et Black Dead Arm : deux acteurs majeurs des maladies du bois chez la Vigne, compte rendu biologie, Volume 332, Issue 9, p765–783
- 76. Larignon P., (2009).** Matinée technique, le point sur les maladies du bois : symptomatologie, cycles biologiques, influence des facteurs environnementaux, bilan des recherches et perspectives mieux comprendre les maladies de bois, bureaux interprofessionnelle des vins de bourgogne, P 21/58. <https://extranet.bivb.com> .
- 77. Larignon P., (2016).** Maladies cryptogamiques du bois de la vigne : symptomatologie et agents pathogènes, Institut Français de la Vigne et du Vin. [http://www.vignevin.com2018/12/maladiesduboisdelavigne\\_janv2016](http://www.vignevin.com2018/12/maladiesduboisdelavigne_janv2016). Visiter le 21. 05. 2023.
- 78. Larignon P., and dubos B., (1997).** Fungi associated with esca disease in grapevine. *Eur. J. Plant Pathol.*, 103, 147-157
- 79. Larignon P., et Yobrégat O.,** Cahier pratique, Pôle Rhône-Méditerranée, 7 avenue Yves Cazeaux, 30230 Rodilhan, 2 V'Innopôle Sud-Ouest, BP 22, 81310 Lisle-sur-Tarn.institut de vigne et de vin.
- 80. laringon P., (1991).** Contribution a l'identification et au mode d'action des champignons associent au syndrome de l'esca de la vigne. Thèse de doctorat, université de bordeaux II, 238p
- 81. Lecompte P., Darrieutort G., comont G., Liminana J., (2014).** Symptomatologie de l'esca. Les enseignements de 10 années d'observations, - UNION GIRONDINE des vins de Bordeaux <https://www.researchgate.net/publication/341723698>.
- 82. Lecomte P., Darrieutort G., Limiñana J.M ., Comont G., Muruamendiaraz A., Legorburu F-J., Choueiri E., Pieri P., et Fermaud M., (2005).** Le Black dead arm, genèse des symptômes - Observations au vignoble en Bordelais et réflexions en lien avec l'Esca. *Phytoma-LDV* 587:29-37.

- 83. Lecomte P., (2009).** Lutte contre les maladies du bois (esca) : actualités et perspectives de solutions, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, Bordeaux-Aquitaine IFR103 - 71 ave. Edouard Boudreaux
- 84. Lee J., Huh N., Hong JH., Kim BS., Kim GH., Kim JJ., (2012).** The antagonistic properties of *Trichoderma* spp. inhabiting woods for potential biological control of wood-damaging fungi. *Holzforschung* 66: 883-887
- 85. Leslie J.F., and Summerell B.A., (2006).** The *Fusarium* Laboratory Manual (Ames, Iowa: Wiley-Blackwell).
- 86. M. ROMAIN PIERRON., (2015).** ESCA ET VIGNE: COMPREHENSION DES MECANISMES DE DEFENSE PRECOCES DU BOIS DE LA VIGNE VITIS VINIFERA L. SUITE A LA MALADIE, COLONISATION DES CHAMPIGNONS IN PLANTA ET PROPOSITION DE MOYENS DE LUTTE POUR UNE VITICULTURE DURABLE, thèse de doctorat, université de TOULOUSE.
- 87. Maher N., Piot J., Bastien S., Rey P., Guerin-Dubrana., (2012).** Wood necroses in Esca-affected vines: types, relation nuikkiships and possible links with foliar symptom expression. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 46, 15-27.
- 88. Mary S., Dewasme, C. Lecomte, P. Birebent, M. Roby, J-P. (2021).** Résumé des interventions dernières avancées sur le dépérissement de la vigne, rende vous technique
- 89. MAYAUD J.L., (1998).** Clio dans la vigne, collection de centre pierre Léon, Lyon, P 125. Historique de vigne.
- 90. McGovern P. E., Glusker D. L., Exner L. J., and Voigt M. M. (1996).** Neolithic resinated wine. *Nature*. 381:480-481.
- 91. Michel carol., (2007),** do grape vines cry ? [www.carolmichel.com](http://www.carolmichel.com)
- 92. Mimiague J., et Le Gall D. (1994).** Bilan sur les enquêtes eutyposie dans le vignoble européen. *Ann. A.N.P.P.*, 3, 1263-1270.
- 93. Mostert L., Groenewald JZ., Summerbell RC., (2006).** Taxonomy and pathology of *Togninia* (Diaporthales) and its *Phaeoacremonium* anamorphs. *Studies in Mycology* 54: 1-115
- 94. Mugnai L., Graniti A., and Surico G., (1999).** Esca (Black measles) and brown wood-streaking: Two old and elusive diseases of grapevines. *Plant Disease* 83: 404-418.
- 95. Mugnai L., Surico G., and Esposito A.; (1996).** Microflora associata al mal dell'esca della vite in Toscana. *Inform. Fitopatol.* N°46, 49-55.

- 96. Mugnai, L. Graniti, A. and Surico, G. (1999).** Esca (Black Measles) and brown wood-streaking: two old and elusive diseases of grapevine. *Plant Dis.*, 83, 404-418.
- 97. PEREZ MARIN J.L., (2007).** Champignons in les parasites de la vigne, stratégies de protection raisonnée. Ed. Lavigne. DUNOD. N°5100. Paris. 193, 205.
- 98. Péros J.P., Berger G. and Jamaux-Despreaux I., (2008).** Symptoms, wood lesions and fungi associated with esca in organic vineyards in Languedoc-Rousillon (France). *Journal of Phytopathology* 156: 297–303.
- 99. Péros J.P., Jamaux-Despreaux I., and Berger G., (2000).** Population genetics of fungi associated with esca disease in French vineyards. *Phytopathol. Mediterr.* N°39, 150-155.
- 100. Phillips A.J., Alves A., Abdollahzadeh J., Slippers B., Wingfield M.J., Groenewald J., Crous P.W., (2013).** The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Studies in Mycology*, 76, 51 - 167.
- 101. Planchon J.-E., (1878).** Ampelidae in DC. Suite au prodromus systematis Naturalis, monographiae Phanerogamarum, 5 : 305-654, Ed. Masson, paris.
- 102. POUZOULET j., (2012).** Développement d'une méthodologie PCR en temps réel pour la détection et la quantification in planta des principaux champignons pathogènes associés aux maladies du bois de la vigne, thèse, université de Toulouse.
- 103. Pu S., Ma H., Deng D., Xue Sh., Zhou Y., Xiong X., ( 2018).** Isolation, identification, and characterization of an *Aspergillus niger* bioflocculant-producing strain using potato starch wastewater as nutrilité and its application, **13(1): e0190236**
- 104. Putz F.E. et Mooney H.A.(1991).** *The Biology of Vines*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 323-324..
- 105. Ramírez-Suero M., Benard-Gellon M., Chong J., Laloue H., Stempien E., Abou-Mansour E., Fontain F., Laringo P., Maet-Kieffer F., Farine S., Bertsch C.,(2014).** Extracellular compounds produced by fungi associated with *Botryosphaeria dieback* induce differential defense gene expression patterns and necrosis in *Vitis vinifera* cv. Chardonnay cells. *Protoplasma* 251:1417-1426
- 106. Rançon F., (2019).** thèse, IMAGERIE COULEUR ET HYPERSPECTRALE POUR LA DÉTECTION ET LA CARACTÉRISATION DES MALADIES DU BOIS DE LA VIGNE, université de bordeaux,

- 107. Raven PH., Evert RF., Eichhorn SE., Bouharmont J., (2003).** Biologie végétale, traduction de la 7e édition américaine par J. Bouharmont avec la collaboration de CM Evrard. Evrard, 1 ère édition, De Boeck Université. 2003; 1
- 108. Reynier A., (2007).** Manuel de viticulture. Ed Lavoisier/Tec et Doc. Paris, 600p.
- 109. REZGUI A., (2016).**The microflora colonizing the wood tissues of *Vitis vinifera* : Development of biocontrol agents against a grapevine trunk diseases (GTDs), Esca, these, l'université de Tunis el manar et de l'université de Bordeaux.
- 110. Rocque Anastasia, 2022,** Régénérer la vigne : recépage, curetage ou greffage?, institut français de la vigne et de vin. <https://www.vignevin.com>
- 111. Romanazzi G., Murolo S., Pizzichini L., et Nardi S., (2009).**Esca in young and mature vineyards, and molecular diagnosis of the associated fungi. European Journal of Plant Pathology, 125(2), p.277–290.
- 112. Rotter A., Camps C., Lohse M., Kappel C., Pilati S., Hren M., Stitt M., Coutos-Thévenot P., Moser C., Usadel B., Delrot S., Gruden K., (2009).** Gene expression profiling in susceptible interaction of grapevine with its fungal pathogen *Eutypa lata*: extending MapMan ontology for grapevine. BMC Plant Biol. 9:104.
- 113. ROUSSILLON J.F., (2004).** Rencontre technique les maladies de bois en Midi-Pyrénées ESCA et BDA, Station Régionale ITV Midi-Pyrénées, Chambre Régionale d'Agriculture
- 114. Rovesti L., and Montermini A. (1987).** A grapevine decline caused by *Sphaeropsis malorum* widespread in the province of Reggio-Emilia. Inf. Fitopatol. 37:1-59.
- 115. Samaali B.M., (2012).** Etiologie de la maladie du court-noué dans les principales régions viticoles de la Tunisie. Mastère, à l'Institut National Agronomique de Tunisie : département de Protection des Plantes et Maladies Post-récoltes, 73 pages
- 116. Saraoui N., (2006).** Vision-perspective de développement de la viticulture. Revue : Green Algérie .Agriculture et destin commun os. 18-20p.
- 117. Sbaghi M., (2014).** Guide pratique de la viticulture, (Division Scientifique); INRA, Rabat (Maroc), 271 p
- 118. SCHNEE S., 2009.** Facteurs de résistance à oïdium (*Erysiphe necator* Schwein.) chez la vigne (*Vitis vinifera*L.). Thèse de doctorat de la Faculté des Sciences. Plants urvical National Centre Compétences in Research. Université de Neuchâtel. France.135p.

- 119. Shafi A., Ridgway H., Jaspers M., & Jones E., (2019).** Saprophytic colonization of the bark by *Neofusicoccum* species mediates subsequent infection of grapevines through wounds. *Phytopathologia Mediterranea*. 58, 406.
- 120. Simon J.L., Eggenberger W., Koblet W., Mischler M., Schwarzenbach J. (1992).** *Viticulture*. Ed. Payot, Lausanne/Paris. ISBN 10: 260103114X / ISBN 13: 9782601031140
- 121. Smith J., Sensibilité des vignes aux organismes pathogènes., (2022).** Champignons, Virus, bactéries et insectes, *journal of Vineyard Research*, V20, N3, p45-60
- 122. Soylu E. M., Kurt Ş., Soylu S., (2010).** In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International Journal of Food Microbiology* 143(3) : 183-189.
- 123. SPARAPANO L., BRUNO G., CICCARONE C., and GRANITIA., (2000).** Infection of grapevines by some fungi associated with esca. I. *Fomitiporia punctata* as a wood-rot inducer. *Phytopathol. Mediterr.*, 39, 46-52.
- 124. Spies CFJ, Moyo P, Halleen F, Mostert L. 2018.** *Phaeoacremonium* species diversity on woody hosts in the Western Cape province of South Africa. *Persoonia* 40: 26-62
- 125. Surico G., Mugnai L., and Marchi G., (2006).** Older and more recent observations on esca: a critical overview. *Phytopathologia mediterranea* 45: S68-S86.
- 126. Thibault, M. (2015).** *Les maladies du bois de la vigne, compte rendu*, Colmar Université Haute-Alsace institut français de la vigne et du vin
- 127. This P., Lacombe T., and Thomas M. R., (2006).** Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends Genet.* 22:511–519
- 128. Touzarda L., Ollatb N., Aigrainc P., Boisd B., Brugierec F., Duchenee E., Garcial I., de Cortazar-Ataurif., Gautierg,J., Hammonda,R., et Hanninch H., (2020).** *Lafilière vigne et vin face au changement climatique*, volume2.
- 129. Tuao Gava CA., Leal Menezes ME., (2012).** Efficiency of *Trichoderma* sp isolates on the control of soil-borne pathogens in the yellow melon. *Revista Ciencia Agronomica* 43: 633-640
- 130. Viret O., et gindro K., (2014),** maladie fongique de vigne, route de duillier 50, amtra.

131. visagie CM., Houbraken J., Frisvad JC., Hong S.B., Klaassen C. HW., Perrone G., Seifert KA., Varga J., Yaguchi T., Samson RA., (2014). Identification et nomenclature du genre *Penicillium* 78: 343-371.
132. Wan, Y.Z. schwaninger, H. DanLi, Simon, C.J. wang, Y.J. Zhang, C. H. (2008). A review of taxonomic research on Chinese wild grapes. 47(2), 81-88.
133. Wet J de., Slippers B., Preisig O., Wingfield BD., Tsopelas P., Wingfield MJ., (2009). Molecular and morphological characterization of *Dothiorella casuarinae* sp
134. Xavier G., (2021). Mildiou sur vigne et raisin (Jim budd/ flickr.com)
135. YACOUB A., (2015). Relation entre l'oomyète, (*Phytophthora oligandra*), et la vigne : étude de l'induction de résistance contre un agent pathogène du bois et impact sur les communautés microbiennes colonisant le bois, thèse de doctorat, université de Pau et des pays de l'Adour.
136. YOBREGAT O., (2010). Les fiches pratiques : La production de plants de vigne en pépinières. Institut Français de la Vigne et du Vin de Midi Pyrénées. France. 6p
137. Zuffery V., Gindro K ; Verdenal T., Murisier F., Viret O. (2022). Anatomie et physiologie : Alimentation et carences, accidents physiologiques et climatiques. AMTRA. La vigne (Vol. 4), 2022, 564 S.

## المخلص

أمراض تدهور الكروم، وبخاصة مرض الإسكا، تُصنف ضمن أخطر الأمراض التي تصيب الكروم نظرًا لتأثيرها السلبي على إنتاج الكروم واستدامة الكروم. في الجزائر، هناك معرفة محدودة بشأن مدى وأسباب هذا المرض. تركز هذه الدراسة على عزل وتحديد العوامل الفطرية المسببة للإسكا في كروم بير توتا. تم عزل وتحديد الفطريات من خلال دراسة مورفولوجية (بصرية ومجهريّة) وفقًا لمفاتيح التعرف المعترف بها. أشارت العوامل المعزولة إلى وجود *Botryosphaera sp* و *Phaeocromonium sp* ككروم الكروم، وهي *Penicillium sp*، *Trichoderma sp*، *Alternaria sp*، *Fusarium sp*، *Cladosporium sp*، و *Aspergillus niger*. أظهر التقييم في المختبر لتأثير زيت الإكليل الأساسي *Rosmarinus officinalis L* تشييطاً كبيراً لـ *Botryosphaera sp* و *Phaeocromonium sp* بجرعات عالية، بينما احتاج الفطر X إلى جرعات منخفضة لتثبيط نموه

الكلمات الرئيسية: الإسكا، بير توتا، الجزائر، فطر، تدهور

## Abstract

Grapevine dieback diseases, including esca are ranked among the most serious vine ailments, as they have a negative impact on the productivity and sustainability of vineyards. In Algeria, there is little knowledge about the extent and causes of this disease. This study focuses on the isolation and identification of esca causal fungal agents infected with the BIR TOTA vineyard. The fungi were isolated and identified by morphological study (macroscopic and microscopic) according to recognized identification keys, The isolates obtained indicate the presence of *phaeocromonium sp* and *botreospharea sp*, as well as other fungi has been reported as accompanying flora associated with the isolates carried out on vine stocks, namely *pinicilium sp*, *trikoderma sp*, *alternaria sp*, *Fusarium sp*, *Chladosporium sp*, *Aspergilus niger*, in vitro evaluation of the antifungal effect of *Rosmarinus officinalis L* essential oil showed significant inhibition rates for *phaeacromonium sp* and *botryosphaera sp* at high doses, while fungus X required low doses to inhibit its growth.

**Key words:** esca, bir tota, Alger, fungus, diebach.

## Résumé

Les maladies de dépérissement de la vigne, notamment l'esca est classée parmi les affections les plus graves de la vigne, car elle a un impact négatif sur la productivité et la durabilité des vignobles. En Algérie, il existe peu de connaissance sur l'ampleur et les causes de cette maladie. La présente étude porte sur l'isolement et l'identification des agents fongiques causals de l'esca infectant le vignoble de la région BIR TOUTA. Les champignons ont été isolés et identifiés par étude morphologique (macroscopique et microscopique) suivant les clés d'identification reconnues, Les isolats obtenus indiquent la présence de *phaeocromonium sp* et *botreospharea sp*, et un champignon non identifié nommée champignon X. ainsi que d'autres champignons a été rapportée comme flore d'accompagnement associée aux isolements réalisés sur les ceps de vigne, a savoir *pinicilium sp*, *trikoderma sp*, *alternaria sp*, *fusarium sp*, *chladosporium sp*, *aspergilus niger*, L'évaluation in vitro de l'effet antifongique d'huile essentielle *rosmarinus officinallis L*

montré des taux d'inhibition importants pour *phaeacromonium sp* et *botreospharea sp* par des dose élevées, tandis que le champignons X nécessite des faibles doses pour inhiber leur croissance.

**Les mots clés:** l'esca, BIR TOTA, ALGERIE, champignon, dépérissement