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

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES
Département des sciences de la nature et de la vie



Filière : Agronomie

Spécialité : phytopathologie

Mémoire Présenté pour obtenir le diplôme de Master
Soutenu à distance

Etudes de l'activité antifongique des extraits aqueux de diverse plantes médicinales de la famille des *Lamiaceae* sur *Plasmopara viticola* : l'agent causal du mildiou de la vigne dans la région de Médéa

Présenter par : MAMI Bochra

Devant le jury composé de :

Mm TCHAKAR F/Z.	Grade : M.C.B. Médéa	U..MEDEA	Examinatrice
Mm BENDOUMIA H.	Grade : M.C.B. Médéa	U..MEDEA	Examinatrice
Mm CHAOUATI K.	Grade : M.A.A. Médéa	U..MEDEA	promotrice

Année universitaire: 2019/2020

Résumé

Etudes de l'activité antifongique des extraits aqueux de diverse plantes médicinales sur *Plasmopara viticola* : l'agent causal du mildiou de la vigne dans la région de Médéa

Nos travaux se sont focalisés sur deux espèces importantes *Thymus vulgaris* et *Lavandula angustifolia* Miller appartenant à la famille des Lamiaceae. L'objectif de cette étude est de caractérisé les métabolites secondaires et activités biologiques (antifongique).

Dans la présente étude nous avons tenté d'évaluer l'activité antifongique des extraits aqueux *Thymus vulgaris* et *Lavandula angustifolia* vis-à-vis l'agent causal de mildiou de la vigne (*Plasmopara viti*cola) après avoir une caractérisation phytochimique pour mettre en évidence la présence des composée phénolique (polyphénols, flavonoïdes, tanins, etc.), dans les deux plantes étudiées.

La crise sanitaire mondiale qui a été causé par le Covid-19, était un obstacle devant la réalisation de la partie pratique

Mots clés : *Thymus vulgaris* et *Lavandula angustifolia* Miller, Lamiaceae. *Plasmopara viti*cola et composés phénolique.

الملخص:

دراسات عن النشاط المضاد للفطريات للمستخلصات المائية لنباتات طبية مختلفة على :*Plasmopara viticola* العامل المسبب للعفن الفطري في منطقة المدية

ركز عملنا على نوعين مهمين من *Thymus vulgaris* و*Lavandula angustifolia Miller* ينتميان إلى عائلة Lamiaceae.
الهدف من هذه الدراسة هو توصيف المستقلبات الثانوية والأنشطة البيولوجية (مضاد للفطريات)

حاولنا في هذه الدراسة تقييم النشاط المضاد للفطريات للمستخلصات المائية *Thymus vulgaris* و *Lavandula angustifolia* ضد العامل المسبب للعفن الفطري الناعم للكرمة (*Plasmopara viticola*) بعد الحصول على توصيف كيميائي نباتي لتسليط الضوء على وجود المركبات الفينولية (البوليفينول ، الفلافونويد ، العفص ، إلخ) في النباتين المدروسين.

كانت الأزمة الصحية العالمية التي سببها فيروس كورونا ، عقبة أمام تحقيق الشق العملي

الكلمات الأساسية: *Thymus vulgaris* و *Lavandula angustifolia Miller* و *Plasmopara viticola* Lamiaceae.
والمركبات الفينولية.

Abstract

Studies of the antifungal activity of aqueous extracts of various medicinal plants on *Plasmopara viticola*: the causative agent of downy mildew in the region of Medea

Our work focused on two important species *Thymus vulgaris* and *Lavandula angustifolia Miller* belonging to the family Lamiaceae. The objective of this study is to characterize secondary metabolites and biological activities (antifungal).

In the present study we attempted to evaluate the antifungal activity of the aqueous extracts *Thymus vulgaris* and *Lavandula angustifolia* against the causative agent of downy mildew of the vine (*Plasmopara viticola*) after having a phytochemical characterization to highlight the presence of phenolic compounds (polyphenols, flavonoids, tannins, etc.), in the two plants studied.

The global health crisis which was caused by the Covid-19, was an obstacle in front of the realization of the practical part

Key words*: Thymus vulgaris* and *Lavandula angustifolia Miller,* Lamiaceae. *Plasmopara viticola* and phenolic compounds

Remerciements

Louange à ALLAH qui nous a fait musulmans et qui nous a donné pour guide le Coran, afin qu'on se rappelle de la vérité et que la paix et les bénédictions de Dieu soient sur notre prophète Mohammed.

Ensuite je présente mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à **Mme Chaouati Karima**. Maître assistant classe A à la faculté des sciences, Université Dr yahia farés de Médéa, de m'avoir faire l'honneur de diriger ce travail, avec sa rigueur scientifique, ses précieux conseils, sa gentillesse, ses encouragement ainsi que la confiance qu'elle m'a toujours témoignée, qui m'ont permis de mener à bon terme ce travail.

Je remercie vivement et sincèrement **Mme Akrour Fatma Zohra**. Ingénieur d'état en agronomie a l'institue national de l'arboriculture et des arbres fruitières (ITAFV) pour ses informations botaniques précieuses.

Je remercie qui me fait l'honneur de participer au jury.

Enfin, Au risque de me répéter, j'exprime mes vifs remerciements à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin, m'ont accordé un soutien, une aide technique ou un conseil, par une citation de **MARCEL PROUST :** « soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur ; elles sont des charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries »

Dédicace

A mes très chers parents

Mohamed et Cherifa

A ma petite sœur Amina.

A la mémoire de mes grand –pères

Allel et hacéne.

A mon cher époux Ferhat Abdelhakim.

Mami Bochra

Liste des abréviations

C.C.M : Chromatographie sur couche mince

D.M.S.O : diméthylsulfoxyde C_2H_6OS.

E.P.S : exopolysaccharide

E.R.O : espèces réactives d'oxygène

F.A.O : the Food and Agriculture Organization : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

I.T.A.F.V : institut technique de l'arboriculture et de la vigne

M.A.D.R : ministère de l'agriculture et de développement rural

McFarland : sont des normes utilisées comme référence pour ajuste la turbidité des suspensions bactériennes pour que le nombre de bactéries se situe dans une gamme de concentrations donnée afin de normaliser les tests microbien

Mill : Miller

P.D.A : Potato dextrose agar *(*La gélose dextrosée à la pomme de terre)

U.V : Ultra violet

Listes des figures

Figure 1: Classification phylogénétique des principales espèces de Vitis ……..……05

Figure 2: Morphologie d'un cep ……..……06

Figure 3 : rameau de la vigne ……...……..07

Figure 4: Morphologie d'une feuille de vigne ……..08

Figure 5 : Morphologie d'une fleur de vigne……..09

Figure 6 : Morphologie de l'inflorescence ……..09

Figure 7: les stades phénologiques du développement de la vigne……11

Figure 8 : Plusieurs oospores de *Plasmopara viticola* se sont récemment formées sur cette feuille de vigne……16

Figure 9 : Détail d'une oospore de *Plasmopara viticola* comparativement à deux sporanges situés à gauche sur la photo……..…..16

Figure 10 : Les oospores à paroi épaisse (20-120 µm de diamètre) de *Plasmopara viticola* ……17.

Figure 11 : Lorsque les conditions climatiques sont favorables, on peut observer aisément la sporulation de ***Plasmopara viticola*** à la surface des organes contaminés……..17

Figure 12 : Sporangiophores arbusculeux de ***Plasmopara viticola*** observés à la loupe binoculaire. …….17

Figure 13 : Détail des stérigmates présents à aux extrémités des sporangiophores arbusculeux et sur lesquels sont formés les sporanges. (Vue au microscope à balayage)……18

Figure 14 : Plusieurs stérigmates situés à l'extrémité de ce sporangiophore sont bien visibles. Ils portent des jeunes sporanges de ***Plasmopara viticola***……..18

Figure 15 : Présentation des cycles de reproduction asexuée et sexuée de P. viticola……...……20

Figure 16 :Structure de base des flavonoïdes ……29

Figure 17 : présentation de la plante de thym sauvage…….…..31

Figure 18 : Planche botanique de Lavandula angustifolia Miller ……..….33

Figure 19 : Cartes géographiques des stations d'étude ……..…...38

Figure 20: Protocole de préparation de l'extrait aqueux ……..…..40

Figure 21 : Les étapes d'obtention de l'extrait (A- macération / B- filtration / C- évaporation)……..40

Figure22: Conservation et multiplication de *Plasmopara viticola* sur disques de feuilles de vigne en survie …….…….44

Figure 23. Procédé du test anti-oomycète contre le mildiou de la vigne…**……45**

Tabledes matières

Résumé

الملخص

Abstract

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale ……..……01

Chapitre I : Généralités sur la plante hôte et leurs ravageurs

I.Plante hôtes : **La vigne**

I.1 L'importance économique de la culture …..…….……..……04

I.2.Systématique de la vigne ……..……..……04

I.3. Description morphologique de la vigne …….…….…….....05

I.4.Cycle de développement de la vigne …….……...…10

I.5.Les maladie et ravageurs de la vigne ……..…….12

I.5.1.Les maladie de la vigne …….12

I.5.1.1.Le Mildiou …….……12

I.5.1.2.L'oïdium …….……...12

I.5.1.3.La pourriture grise …….…….12

I.5.2.les ravageurs…….……...……..…….13

I.5.2.1.phylloxéra …….…….13

I.5.2.2. la pyrale (*Sparganothis pilleriana):* …….……13

I.5.2.3. Cochylis *(Eupoecilia ambiguella)* …….……..14

I.5.2.4.Les araignées rouges (*Panonycus ulmi*)…….……14

I.5.2.5. Les araignées jaunes ……..…...14

II. Le mildiou de la vigne (***Plasmopara viticola)***

II.1.Généralités sur l'agent causal de la maladie (*Plasmopara viticola*) ……..…….14

II.2.Taxonomie de *Plasmopara viticola*……..…….15

II.3.Caractéristiques morphologiques …….……15

II.4.Cycle biologique de *Plasmopara viticola*…….……...18

II.5.Les symptômes de la maladie sur la vigne…….……...21

II.6.Les pertes économiques dues au de mildiou de la vigne…….……...……21

II.7La lutte contre le mildiou …….……...22

II.7.1. Méthode de lutte ……...…….…22

II.7.2.La lutte chimique ……...…….…23

II.7.3.Les méthodes de lutte alternative ……..…..22

II.7.3.1. Choix des variétés résistantes ……..23

II.7.4.la lutte biologique……...……..23

II.7.4.1 Lutte microbiologie ……...……23

II.7.4.2.Les extraits de plantes ……...……23

Chapitre II : La lutte biologique : Utilisation des extraits de plante

I.1.Généralité sur la lutte biologique ……25

I.2.Les méthodes de luttes biologiques ……26

I.3.La lutte biologique par l'utilisation des biomolécule d'origines végétale …….……26

I.4..Généralité sur les métabolites secondaires ……26

I.4.1. Les huiles essentielles

II.4.1.1. Définitions…….……..27

II.4.1.2. Propriétés …….……..…….27

II.4.2.Les composé phénoliques

II.4.2.1. Définitions……..…….28.

II.4.2.2. Propriétés des composés phénoliques …….……..……..29

Chapitre III : Présentation des plantes étudiées

I. Thym sauvage (***Thymus vulgaris***)

I.1Description morphologique de la plante…….…….31.

I.2.Systématique ……..…….……32

I.3.Propriétés et utilisations…….……..32

II. Lavande sauvage (***Lavandula angustifolia***)

II.1. Description morphologique de la plante……..…….…….……33

II.2.Systématique ……..…..…….…..33

II.3.Propriétés et utilisations……..…….…….……..34

III. travaux antérieurs ……..……..……35

Chapitre IV : Matériels et méthodes

I. Objectif

I.2. le matériel végétale …….……..……38

I.2.1.présentation de la région étudiée ……..……38

I.4. le matériel biologique…….…..…..…40

I.3.1. Le champignons phytopathogène (*Plasmopara viticola*) ……..…….42

I.3.2. milieu de culture de la souche ……..……...40

II. Méthodes

II.1.1. préparation des extraits aqueux …….……40

II.1.2. Calcul du rendement ……..……..……..42

III. Les tests phytochimique ……...……..……42

III.1. Dosage des phénols totaux ……..……..……..…42

III.2.Dosage des flavonoïdes…….……..……...…42

III.3. Dosage des tanins …….……...…43

III.4. Chromatographie sur couche mince…….…….……..……..43

IV. Evaluation des activités antifongiques des extraits aqueux …….…….45

IV.1.Préparation des dilutions des extraits:……..……..45

IV.2. Conservation *du Plasmopara viticola*……..45

V. Teste d'activité antifongique ……45

Conclusion ……..48

Références bibliographiques ……49

Introduction générale

Introduction

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique. De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles **(Majinda R.*et al* . 2001 ; Mau J-L. et al .2004) .**

La recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles a conduit à la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines. L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaires des millénaires jusqu'à la récente civilisation chinoise, Indienne et du Proche-Orient. Elle est devenue certainement un art. **(Ogata, 2000)**

Par ailleurs, l'Algérie, de par sa gamme de climats très variée et sa situation géographique, possède un ensemble considérable d'espèces naturelles qui représentent un patrimoine phylogénétique de très grande importance vu leur mode de répartition spatiale et leur rôle dans l'équilibre écologique **(Senoussi *et al.*, 2003).** La valorisation de ces ressources est devenue indispensable. A cet effet, nous nous sommes intéressés à connaitre l'activité biologique des extraits aqueux issue de deux plantes aromatiques *Thymus vulgaris et de Lavandula angustifolia Mill* sur la croissance de l'agent pathogène du mildiou *plasmopara viticola*.

La crise sanitaire mondiale qui a été causée par le Covid-19, était un obstacle devant la réalisation de la partie pratique de ce mémoire de Master, pour ce fait, notre travail ne renferme que deux parties:

Notre travail sera réparti en deux parties :

- Une première partie relative à l'étude bibliographique d'agent responsable de mildiou de la vigne « ***Plasmopara viticola*** » , des deux plantes a testées et aussi l'exploitation des travaux antérieurs qui nous ont permis de choisir les deux plantes testés .

- Une autre partie réservée à l'étude expérimentale qui présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail qui ont été prévus pour nos études biologiques, activité antifongique, des espèces objet de cette recherche.

Chapitre I : Généralités sur les plantes hôte et leurs ravageurs

I. Plante hôtes : La vigne :

I.1 L'importance économique de la culture :

La viticulture en Algérie est le plus souvent associée à l'agriculture coloniale et aux tentatives de reconversion menées depuis 1962. La viticulture est cependant plus ancienne car plusieurs vestiges témoignent de la présence de la vigne et de ses produits avant l'antiquité. De nombreuses influences (phéniciennes, romaines et autres) ont contribué à l'introduction des cépages et à l'évolution de la culture.

La viticulture occupait durant la période coloniale l'ensemble des terroirs au niveau national mais localisé surtout dans la zone ouest où les sols sont pauvres et la pluviométrie n'excède pas 450 mm par an. (ABDELGUERFI, 2003**) IN ALLOUANI M ,2011)**

I.2.Systématique de la vigne :

Plante pérenne ligneuse, la vigne est une plante sarmenteuse qui appartient a l'ordre des Rhamnales, e la famille des vitacées une famille qui a était autrefois appelée Ampélidées **(Galet 2000)**.

Les plantes de cette famille sont des lianes à tiges parfois herbacés qui possèdent des vrilles avec une symétrie opposée aux feuilles (**REYNIER, 2007).**

Les vitacées sont des plantes phanérogames angiospermes appartenant a la classe des dicotylédones qui peuvent également être reconnues par leurs feuilles caduques stipulées avec des lames palmées composées, lobées ou nervurées et des dents souvent plutôt grossières. On distingue actuellement 14 genres déterminé parmi lesquels on trouve le genre Vitis qui constitue le genre agronomiquement le plus important et auquel appartiennent les vignes cultivée

Le genre Vitis est divisé en deux sous genre : les Euvitis (les vraies vignes) et Muscadinia dont Le sous-genre Muscadinia comprend trois espèces (*M.munsinia, M.popenoei et M.rotundifolia)*. Le sous-genre Euvitis contient les vraies vignes ainsi que la quasitotalité des vignes cultivées dont le nombre de base chromosomique est n= 19. Toutes les espèces de Vitis peuvent se croiser entres elles et donner des descendants viables et fertiles (REYNIER 2007).

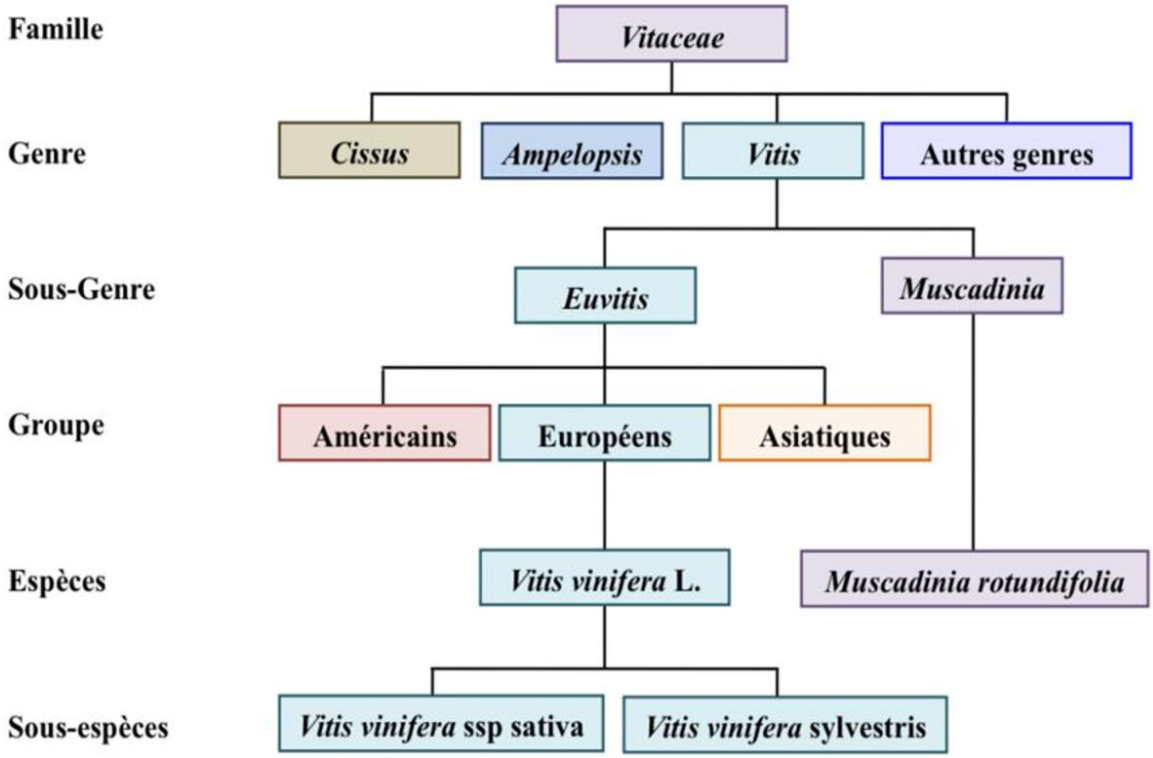


Figure 1: Classification phylogénétique des principales espèces de Vitis (From Zah-Bi, 2014)

I.3. Description morphologique de la vigne :

La vigne est une plante supérieure c'est-à-dire qu'elle comprend des racines, des tiges et des feuilles ainsi que d'autres organes tels que les bourgeons, les vrilles et les inflorescences

A- La racine :

La racine de la vigne est une racine adventive à une forme cylindrique qui constitue la partie de la tige enterrée dans le sol **(Galet ,2000)** mesurant 10 m, 15 m, 20 m de longueur.

B – la tige ou cep :

La tige de la vigne est plus au moins grêle mais reste flexueux, elle se ramifie en branche ou bras tondu autour des supports sur lesquels elle grimpe (**Galet, 2000)** et recouvert d'une écorce crevassée appeler « rhytidome » qui s'épaissit au fur et à mesure que la plante vieillisse.

Durant l'hiver et l'automne, la structure des tiges se diffère dont on observe les éléments suivants :

- le tronc et les bras (rameaux) constitués de vieux bois :

a – le bois taillés l'hiver précédent

b- le bois de l'année développé au cours du printemps et l'été **(REYNIER, 2005)**

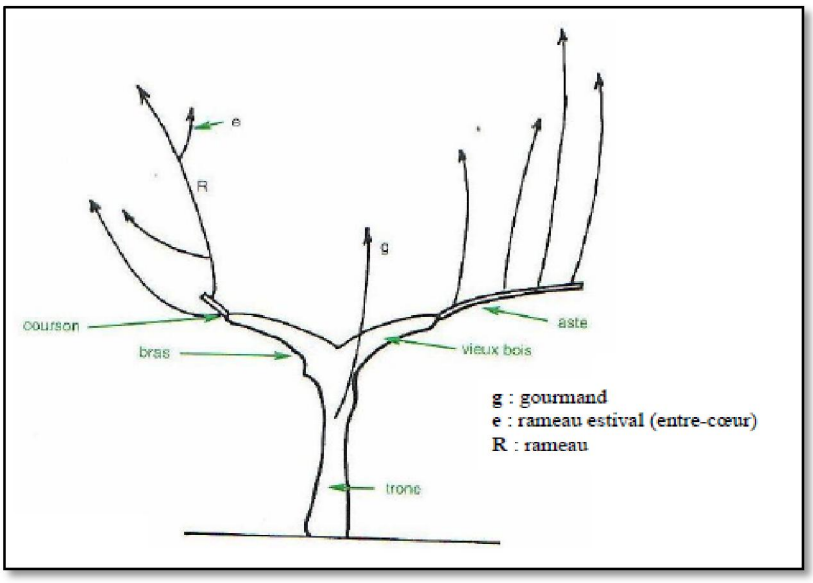
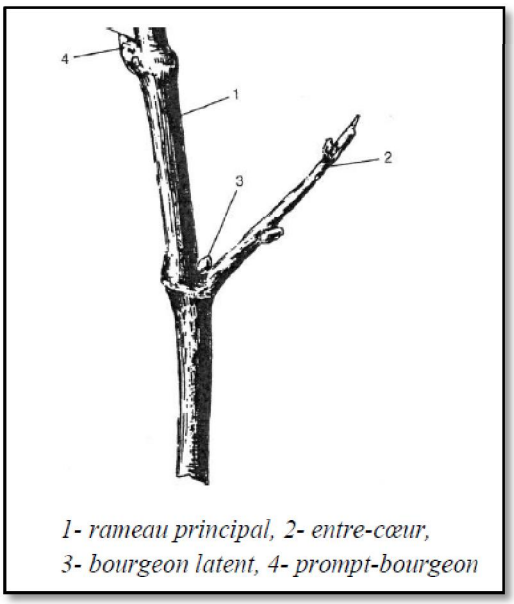


Figure 2 : Morphologie d'un cep (REYNIER, 2005).

C – Les rameaux :

Les bourgeons de la vigne donnent naissance à des rameaux qui peuvent atteindre plusieurs mètres de longueur, ces derniers sont utilisés pour la préparation des boutures et des greffes boutures (**RIBEREAU-GAYON et PEYNAUD, 1980 et GUILLAUME, 2001**).

La croissance de ces rameaux se poursuit jusqu'à l'été et il se produit un phénomène appelé aoûtement, qui aboutit à formation des sarments qui se présentent sous une forme plus dure, d'une couleur qui tend vers le marron foncé.



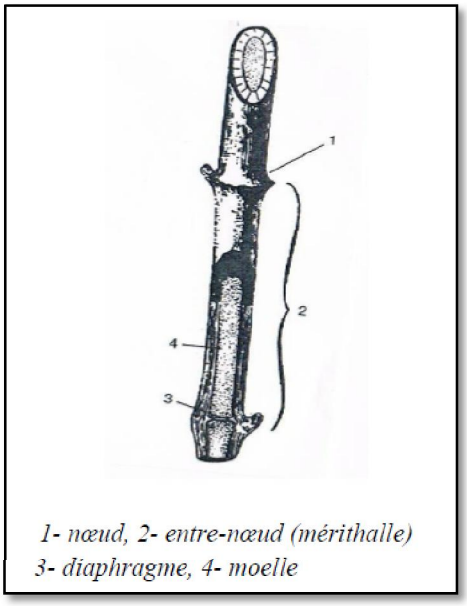


Figure 3 : rameau de la vigne (RIBEREAU-GAYON et PEYNAUD, 1980 et GUILLAUME, 2001).

D - Les bourgeons :

Un rameau feuillé embryonnaire, miniature constitué essentiellement par un petit axe très court, ont destinés à assurer la multiplication végétative (bouturage, marcottage et greffage) (**GALET, 2000**) et la pérennité de la vigne d'une année à l'autre (**Ribereau-Gayon et Peynaud ,1971**)

On observe plusieurs types de bourgeons sur le pied de la vigne :

- **le bourgeon terminal** qui assure la formation et la croissance de différents organes du rameau (**HUGLIN et SCHNEIDER, 1998**). Vers la fin de la période végétative, le méristème apical de ce bourgeon cesse de fonctionner et après un temps plus ou moins long, celui-ci se dessèche et tombe (**HUGLIN et SCHNEIDER, 1998**).

- À l'aisselle du pétiole des feuilles on distingue deux types de bourgeons :

- **un prompt– bourgeon** formé d'un seul bourgeon e qui se développer l'année même de sa formation.

- **le bourgeon latent** formé par l'assemblage principal de trois bourgeons distincts et qui n'évoluent jamais en pousse l'année de sa formation et Ils peuvent rester à l'état latent plusieurs années, il a une structure plus complexé que celles du prompt-bourgeon (**GALET, 1993 et JOLY, 2005**).

E – les feuilles :

Les feuilles de vigne jouent un rôle physiologique important ; la transpiration et la photosynthèse (**REYNIER, 2005**) constituée de deux parties : le pétiole et le limbe (RIBEREAUGAYON et PEYNAUD, 1980) où s'insère cinq nervures principales qui partent de point pétiolaire, insérées sur le rameau en disposition alterne **(Crespy 1992),** se colore vivement et diversement à l'automne (**Bretaudeau, 1964**)

La forme de la feuille est déterminée par la longueur des nervures (LI, L2, 1,3, 1,4) ainsi que les angles entre les nervures (u, J3, y). La taille de la feuille est déterminée à partir de sa longueur (L) et de sa largeur (1). On distingue un sinus pétiolaire (SP), un sinus latéral supérieur (SLS) et inférieur (SU), séparant les lobes (UT, LLS, LL1).

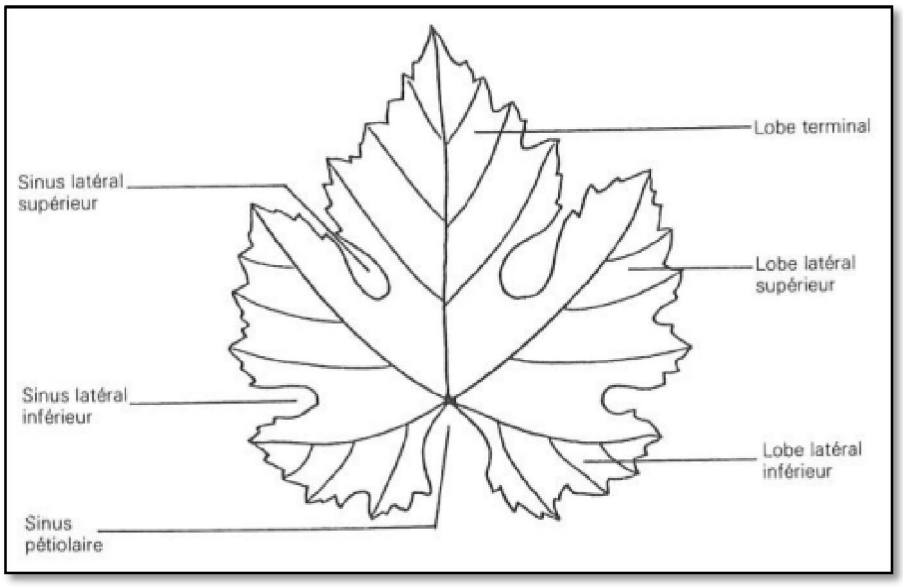


Figure 4: Morphologie d'une feuille de vigne **(Reynier, 1991)**

F- les fleurs :

La grande majorité des variétés à fruits possède des fleurs hermaphrodites (**HUGLIN et SCHNEIDER, 1998**) ces dernières sont typiquement pentamères composée de cinq pièce

- Le calice, qui comprend cinq sépales rudimentaires
- La corolle, constituée par cinq pétales qui alternent avec les sépales
- L'androcée, formés par cinq étamines opposées aux pétales. Leur filet est long et porte une

anthère à deux loges

- Le disque, est composé de cinq nectaires, alterne avec les étamines
- Le gynécée ou pistil, avec un ovaire à deux loges (**HUGLIN et SCHNEIDER, 1998**).

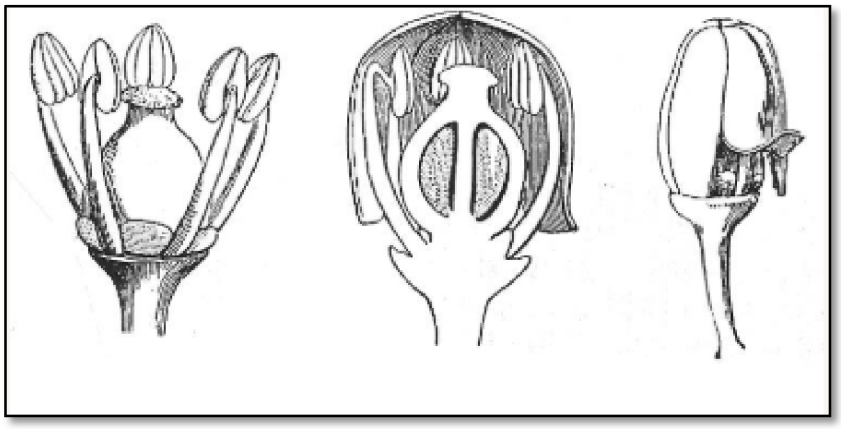


Figure 5 : Morphologie d'une fleur de vigne **(HUGLIN et SCHNEIDER, 1998)**

G- les inflorescences :

L'inflorescence est une grappe composée dont la dimension et la ramification dépend de l'espèce, de la variété, de sa position sur le rameau et de la vigueur (**REYNIER, 2005**)

Chez la majorité des variétés de Vitis. vinifera, elles sont en succession discontinue régulièrement sur deux nœuds successifs, elles s'enroulent rapidement autour de lui, permettant à la vigne de se fixer (**SIMON et al, 1992**).

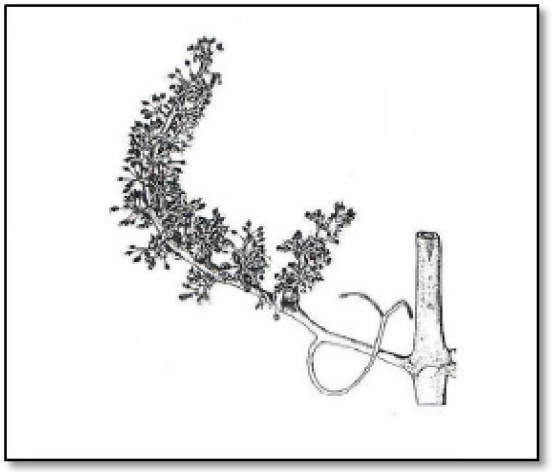


Figure 6 : Morphologie de l'inflorescence (REYNIER, 2005).

I.4.Cycle de développement de la vigne :

La vigne est une plante vivace, qui assurer trois fonctions indispensables a sa pérennité. Malgré n'entre pas en production qu'avant 3 ou 4 ans après sa plantation (LOUVIEAUX, 2004).

Chaque année, le cep assure un développement des parties végétatives (rameaux, feuilles, racines) : c'est le cycle végétatif. Le stockage des réserves afin de permettre un nouveau départ de la végétation l'année suivante : c'est l'aoûtement

La formation des fleurs puis des fruits assure un développement reproducteur qui commence l'année précédente par l'initiation des inflorescences dans les bourgeons latents : c'est le stade reproductif

Ces phases sont interdépendantes, chacune influant sur l'autre et sur celles des années suivantes (**GALET, 2000 in JOLY, 2005**)

BAGGIOLINI (1952) et **REYNIER (2000**) ont défini 16 stades phénologiques présentés par des lettres de (A à P) (annexe 2)

Les stades qui précèdent et définissent le débourrement sont :

Stade A « **Bourgeon d'hiver** » : Caractérisant la vigne dans son état de repos hivernale correspondant au bourgeon recouvert par deux écailles brunâtre

Stade B « **Bourgeon dans le coton** » : L'œil est gonflé, la bourre cotonneuse et brunâtre est visible, les écailles sont écartées.

Stade C « **Pointe verte** » : Lorsque le bourgeon fortement gonfler, laisse apparaître la pointe de la pousse.

Stade D « **Sortie des feuilles** » : Caractérisé par l'apparition des feuilles rudimentaires, qui demeurent pressées les unes contre les autres.

Stade E « **Feuilles étalées** » : Les jeunes feuilles vont s'étaler et el sommet végétatif est parfaitement dégagé, présentant ses caractéristiques ampélographiques.

Stade F « **Grappes visibles** » : Rudimentaires généralement de couleur rouge, qui appartiennent au sommet de la pousse, après trois à cinq feuilles étalées (**GALET, 1970**).

Les autres stades caractérisent essentiellement l'évolution de l'appareil reproducteur, qui est:

Stade G « **Grappes séparées** » : Les grappes s'espacent et s'allongent sur le rameau, mais les organes floraux restent encore agglomérés.

Stade H « **Boutons floraux séparés** » : Apparition de la forme typique de l'inflorescence, dans laquelle les boutons floraux sont nettement isolés.

Stade I « **La floraison** » : Correspond à l'épanouissement de la fleur.

Stade J « **La nouaison** » : Elle correspond à l'évolution des fleurs fécondées en fruits.

Stade K : Petit pois.

Stade L : Fermeture de la grappe

Stade M « **La véraison** » : Dans ce stade, les baies vertes perdent leur chlorophylle et deviennent rouges ou plus ou moins jaunes.

Stade N « **La maturation** » : C'est la maturation des grappes et des baies.

Stade O « **L'aoûtement** » : Ou la maturation du bois, dans ce stade se produit l'accumulation de réserves, en particulier la lignine et l'amidon.

Stade P « **La chute des feuilles** » : Vers la fin de l'aoûtement, les feuilles prennent les couleurs automnales et tombent, la plante entre dans la phase de repos végétatif (**REYNIER, 2000**).

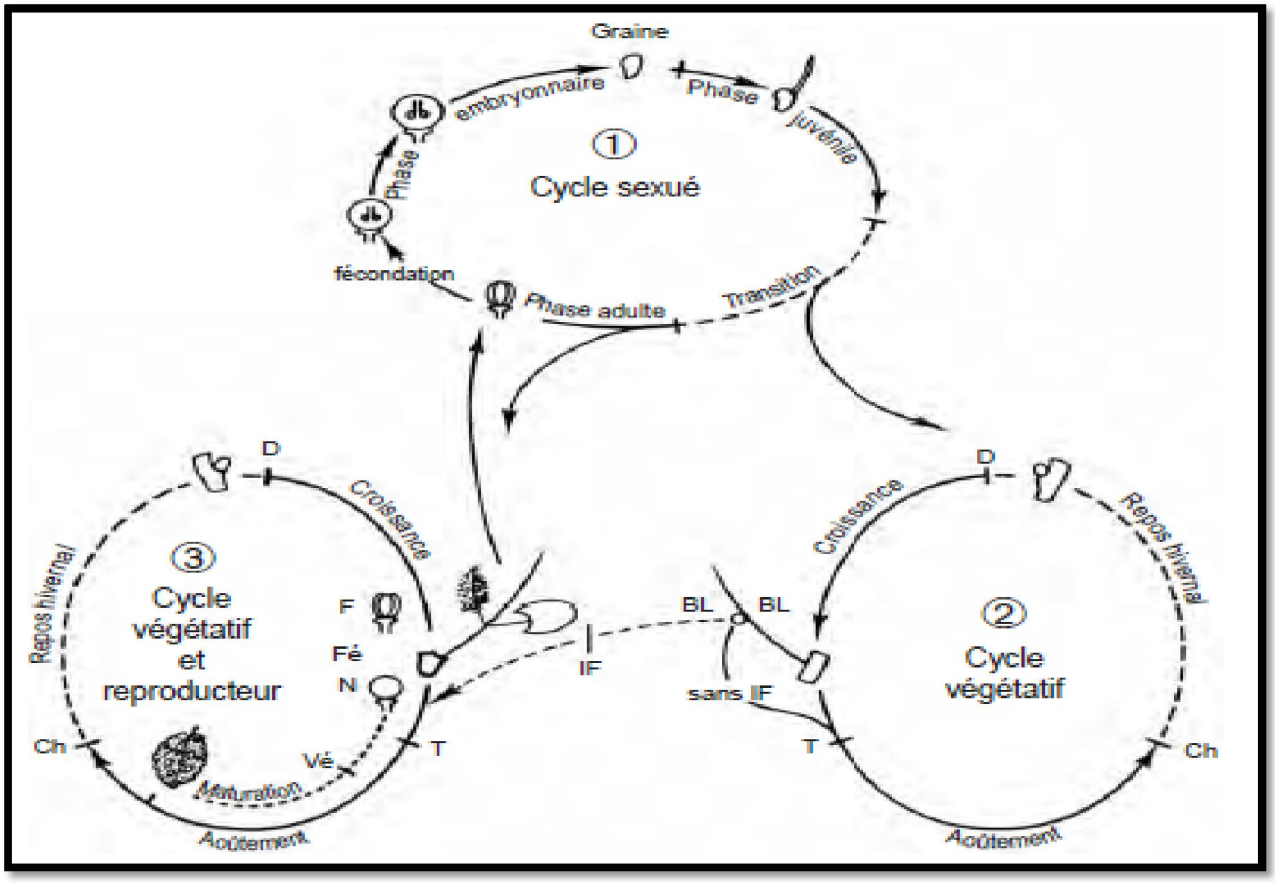


Figure 7: les stades phénologiques du développement de la vigne

I.5.Les maladie et ravageurs de la vigne :

I.5.1.Les maladie de la vigne :

La vigne est une culture sensible aux maladies. Le mildiou, l'oïdium la pourriture grise sont les principales maladies de la vigne.

I.5.1.1.Le Mildiou :

Le champignon *Plasmopara viticola* est un parasite obligatoire qui ne peut se développer que sur les tissus vivants. **La** pluie (présence d'eau libre) constitue le principal facteur de développement de la maladie. Lors de fortes pluies, les éclaboussures de terre et d'eau transporteront les spores sur les feuilles. *P. viticola* produit alors un autre type de spores zoospores) qui infectent les tissus en croissance (**Karthick M, et al 2019)**

I.5.1.2.L'oïdium :

Erysiphe necator est un parasite obligatoire de la vigne; il ne peut se développer que sur les tissus vivants de la vigne. Sous nos conditions climatiques, *E. necator* hiverne sous forme de cléistothèces, organes contenant les ascospores (spores sexuées). Au printemps, les ascospores mûrissent puis infectent les feuilles situées à proximité de l'écorce. Suite à ces infections, des taches recouvertes de spores asexuées, les conidies, se développent sur les feuilles. Les conidies de *E. necator* n'ont pas besoin d'eau libre sur la feuille pour l'infecter. Par contre, une humidité relative élevée favorise la germination des conidies et donc, les infections. Le blanc de la vigne est favorisé par un temps chaud (température optimale 25 °C) et sans pluie, l'eau inhibant la germination des conidies (www.agro.basf.fr)

I.5.1.3.La pourriture grise :

Le champignon hiverne sous forme de sclérotes (masse compacte de mycélium) logées dans les débris de culture. Au printemps, des spores (conidies) se formeront sur les sclérotes et causeront des lésions sur les tissus. L'infection des feuilles est favorisée par la durée de mouillure et la présence de blessures. De nouvelles spores seront produites sur ces lésions.

Ces spores dispersées par le vent causeront plusieurs nouveaux cycles d'infection permettant au champignon de se maintenir dans le vignoble. Les baies peuvent être infectées peu après la floraison mais rester sans symptôme jusqu'à la véraison. Les baies sont plus sensibles lorsque leur contenu en sucre augmente et, à ce stade, *B. cinerea* peut les infecter en l'absence de blessures (porte d'entrée).(staats et.,al 2005)

I.5.2..Les ravageurs:

I.5.2.1.phylloxéra :

Les ravages du phylloxéra ont été considérables, car aucun moyen de destruction ne s'est avéré totalement efficace, malgré une étude minutieuse de l'insecte; les insectes mâles et femelles s'accouplent à la fin de l'été. La femelle pond sur les souches œuf unique, appelé œuf d'hiver. Celui-ci éclot au printemps et donne naissance au phylloxéra aptère, ou sans ailes, qui

descend sur les racines aux dépens desquelles il vit, d'où son autre nom phylloxéra radicicole. Il se reproduit alors dans des proportions considérables, et ses innombrables colonies finissent par épuiser la vigne et par la tuer. A noter que le phylloxéra aptère est toujours une femelle.

En été, certains des phylloxéras aptères se transforment en nymphes, puis en phylloxéras ailés, qui à l'aide de leurs ailes étendues et du vent, propagent le mal au loin. Ils pondent à nouveau, mais donnent cette fois ci naissance à des femelles et à des mâles, qui ne vivent que quelques jours et sont uniquement destinés à la reproduction, assurant la ponte de l'œuf d'hiver, qui recommence le cycle.

I.5.2.2. la pyrale (*Sparganothis pilleriana):*

La Pyrale est un papillon dont chenille peut causer de graves dégâts. Le papillon mesure 20à 25 mm ailes déployées. Ses ailes antérieures, de couleur jaunes paille, présentent trois bandes transversales brun rougeâtre. La chenille qui peut atteindre 30 mm est de couleur grise, vert sal Ou rougeâtre, avec une tête noire et brillante. Elle est très agile et se laisse choir au bout d'un fil lorsqu'on la dérange. La chenille de la Pyrale dévore débourrement, les ébauches de feuilles qu'elle réunit entre elles par des fils soyeux. Elle peut s'attaquer ensuite aux jeunes grappes sur les quelles elle tisse des toiles.

I.5.2.3. Cochylis *(Eupoecilia ambiguella)***:**

L'adulte est un papillon de 7 à 8mm d'envergure, ses ailes antérieures, sont de couleur jaune ocre, et sont traversées par une large bande transversale brunâtre. La chenille (10 mm de long), de couleur lie de vin avec une tête noire brillante, a des mouvements lents. Au printemps, les chenilles de première génération perforent et dévirent les boutons floraux, qu'elles réunissent au préalable par des filaments soyeux formant des sortes de nids dans la grappe. Cette destruction des fleurs qui se traduit par de la coulure est d'autant plus importante que la floraison est longue. Parfois les chenilles pénètrent dans le pédoncule des jeunes grappes dont elles provoquent le desséchement.

En été, les dégâts des chenilles de deuxième génération apparaissent sur les grains de raisin encore vert, qui se dessèchent ou pourrissent en période humide. Elle se reconnaît facilement par sa façon de sauter qui lui vaut le surnom de puce de la vigne. Ses cuises sont fortes lui permettant le saut. Son corps ovale, long de 4 à 5mm est bleu-vert métallisé. Les larves noires, à tête brillante atteignent 8mm en in d'évolution. Les œufs de l'Altise sont pondus sur les feuilles; les larves se développent jusqu'à la nymphose.

L'adulte de l'Altise, après avoir passé l'hiver sur le sol, se dirige vers les jeunes pousses. Les dégâts causés par l'altise : la surface foliaire est diminuée; les ceps dépouillés de leurs feuilles en

cas d'attaque grave, ne peuvent plus assurer une production normale. Les raisins ne murissent pas.

I.5.2.4.Les araignées rouges (*Panonycus ulmi*):

Les araignées rouges peuvent causer des dégâts importants sur la vigne, en particulier en début de saison, la reprise d'activité du ravageur coïncide avec le départ en végétation. A la fin de l'été, des dégâts redeviennent visibles, les feuilles prenant une teinte jaune sale; cet aspect plombé est dû aux pullulations de fin d'été, les nombreuses piqûres d'araignées vidant les cellules végétales, qui se remplissent d'air, et provoquant le flétrissement des feuilles.

La chute prématurée des feuilles nuit à la maturation des raisins et au bon aoûtement des sarments. Les dégâts d'araignées rouges nuisent donc non seulement à la récolte de l'année, mais souvent aussi à l'année suivante.

I.5.2.5. Les araignées jaunes:

Très répondues dans le vignoble, les femelles actives sont légèrement allongées, jaunes clair, avec quelques petits points noirs sur le côté. Les femelles hivernantes sont entièrement jaunes et les œufs sont ronds, lisses et incolores.

II. Le mildiou de la vigne *Plasmopara viticola :*

II.1.Généralités sur *Plasmopara viticola :*

L'agent responsable du mildiou de la vigne est le champignon *Plasmopara viticola* **(Berk. & M.A. Curtis) Berlese et De Toni, (1888)** .Il est de la famille des Oomycètes. Jusqu'en 1995.Les oomycètes étaient considérés comme faisant partie du règne des champignons mais des études sur la structure des flagelles des zoospores ont souligné leur appartenance phylogénétique au règne des Chromistes **(Gamm, 2011).**

Il s'agit d'un endoparasite obligatoire hétérothallique **(Wong et al, 2001)**, inféodé au genre des Vitacées, originaire d'Amérique du Nord et importé en Europe à la fin du XIXe siècle. Cet agent pathogène s'attaque à tous les organes herbacés de la vigne **(Dubos 2002)** et tout particulièrement à ceux qui sont en pleine croissance car à forte teneur en eau, sans atteindre les parties racinaires **(Galet, 1977)**. Ce champignon ne peut contaminer les feuilles qu'en pénétrant par les stomates ou par des ouvertures accidentelles **(Gessler et al.2011)**.

Les zones touchées des jeunes feuilles arborent le faciès « tache d'huile » qui sera amené soit à se nécroser par temps sec, soit à se recouvrir de fructifications blanches sur la face inférieure par temps humide.

II.2.Taxonomie :

Selon Berk. & M.A.Curtis Berl. & De Toni, (1888) :

Domaine : Eukaryota

Règne : Chromalveolata

Embranchement : Oomycota

Classe: Oomycetes

Ordre: Peronosporales

Famille: Peronosporaceae

Genre: plasmopara

Espèce: *plasmopara viticola*

II.3.Caractéristiques morphologiques :

Plasmopara viticola n'est pas un champignon, mais un stramenopile (chromiste), microorganisme classé avec les algues brunes. C'est un parasite obligatoire que l'on est actuellement incapable de cultiver sur un milieu de culture synthétique.

Il se développe dans les tissus de son hôte grâce a son **mycélium** siphonné intercellulaire, et forme des *haustoria* globulaires qui pénètrent dans les cellules, par invagination de la membrane de celle-ci. Ces structures lui permettent de se nourrir au détriment de son hôte.

Ce stramenopile se multiplie et se conserve grâce à deux types de structures qu'il forme sur et dans les organes affectés, et qui le caractérisent. **(Toffolatti *et al.*2016)**

Les **oospores** (figures 8,9) matérialisent sa forme sexuée (téléomorphe) et assurent sa conservation hivernale dans les tissus foliaires. De couleur jaune, elles mesurent entre 25 et 40 µm de diamètre. Elles germent au printemps et donnent naissance à une **macroconidie** (figure 8) se formant à l'extrémité d'un filament mycélien. Plutôt piriforme, cette macroconidie mesure 23-27 x 30-41 µm et produit plusieurs dizaines de **zoospores** piriformes à ovoïdes (figure 9), mesurant 4-5 x 6-10 µm, et mobiles grâce à deux flagelles (www.euphytia.inra.fr)

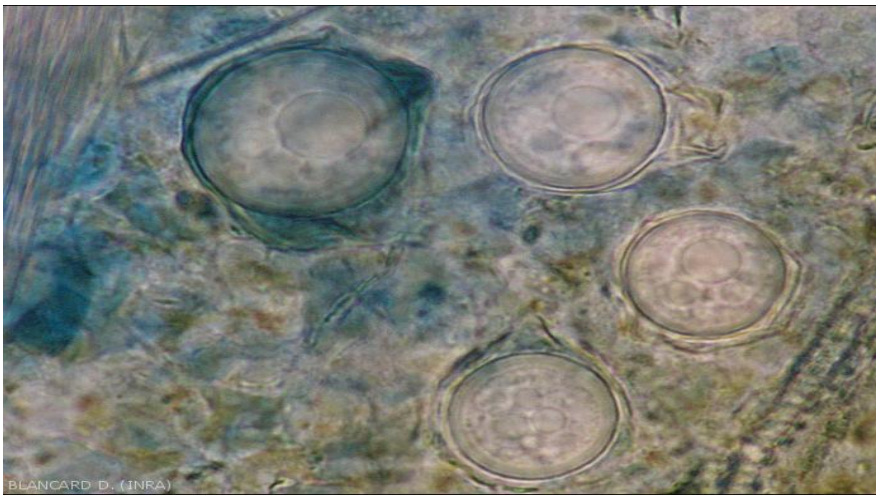


Figure 8 : Plusieurs oospores de *Plasmopara viticola* se sont récemment formées sur cette feuille de vigne (www.euphytia.inra.fr)

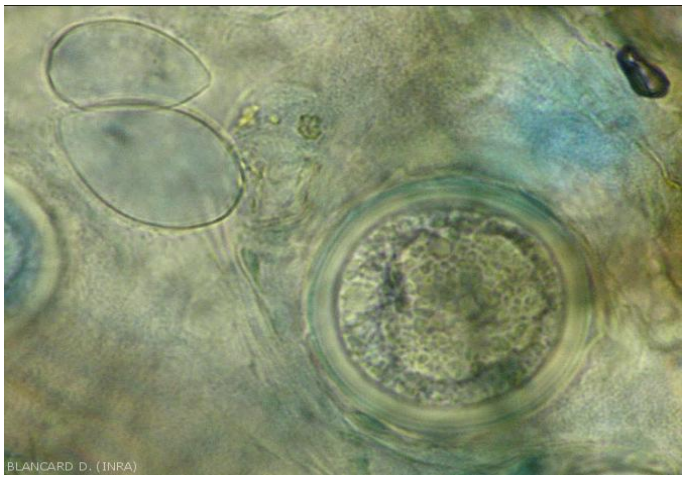


Figure 9 : Détail d'une oospore de *Plasmopara viticola* comparativement à deux sporanges situés à gauche sur la photo (www.euphytia.inra.fr)

Les **sporangiophores** (figures), sortant par les stomates, sont des arbuscules ramifiés perpendiculairement et longs de plusieurs centaines de microns. Leurs extrémités se terminent par des stérigmates pointus (figure 7) qui portent des **sporanges** hyalins (figure 8) , ovoïdes à piriformes, mesurant 10-16 x 15-25 µm. Entre 3 et 8 zoospores (6-8 x 4-5µm) , comparables à celles se formant dans les oospores, apparaissent à maturité à l'intérieur de ces sporanges.

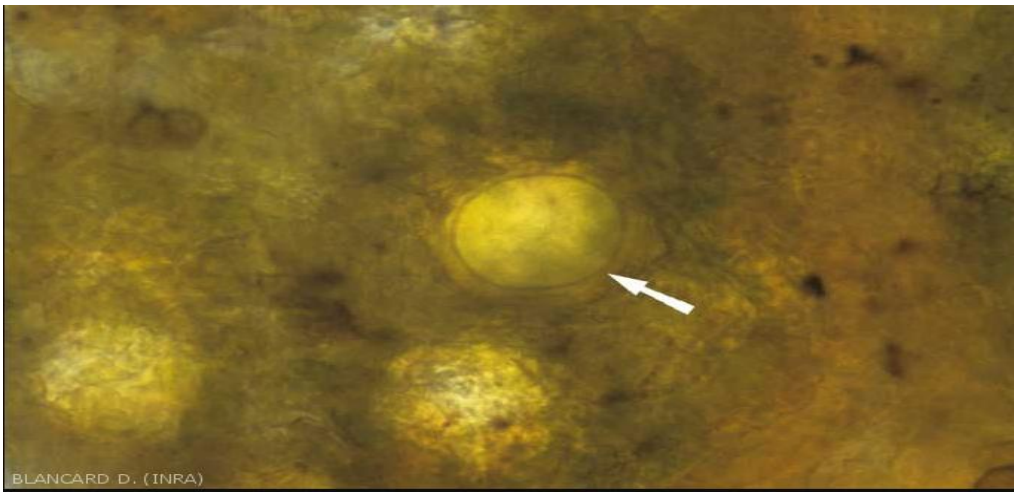
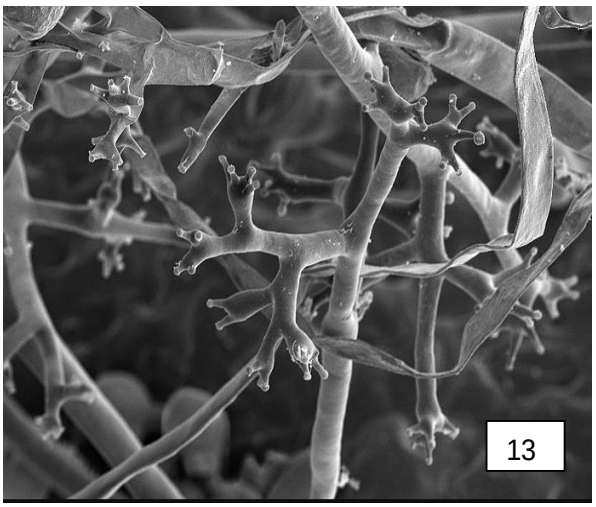


Figure 10 : Les oospores à paroi épaisse (20-120 µm de diamètre) de *Plasmopara viticola* peuvent être observées dans les tissus contaminés en fin de saison. Elles ont une couleur jaune et matérialisent la reproduction sexuée du **Mildiou de la vigne**. (www.euphytia.inra.fr)







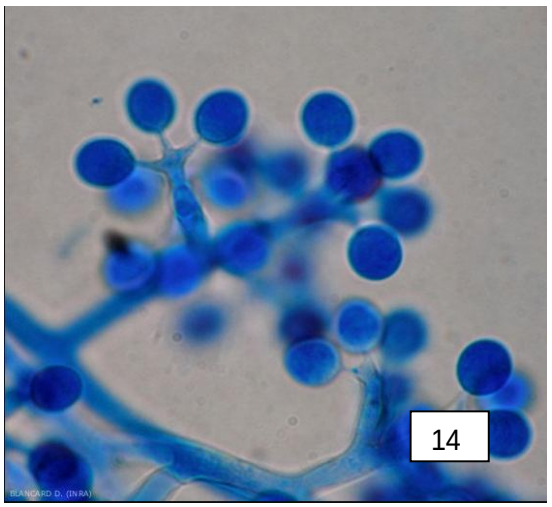


Figure 11 : Lorsque les conditions climatiques sont favorables, on peut observer aisément la sporulation de ***Plasmopara viticola*** à la surface des organes contaminés.

Figure 12 : Sporangiophores arbusculeux de ***Plasmopara viticola*** observés à la loupe binoculaire.

Figure 13 : Détail des stérigmates présents à aux extrémités des sporangiophores arbusculeux et sur lesquels sont formés les sporanges. (Vue au microscope à balayage)

Figure 14 : Plusieurs stérigmates situés à l'extrémité de ce sporangiophore sont bien visibles. Ils portent des jeunes sporanges de ***Plasmopara viticola***. **(www.euphytia.inra.fr)**

II.4. Cycle biologique de la maladie de mildiou de la vigne :

Comme décrit par **De Bary en 1863**, le développement de P. viticola se fait suivant un cycle sexué et un cycle asexué ce qui assure sa préservation et sa dissémination. Le cycle sexué démarre dès l'automne où les filaments mycéliens forment les organes sexuels avec une évolution du contenu génétique en gamètes par méiose. Il y a ensuite un croisement entre deux thalles ; le spermatocyste (ou anthéridie) qui contient les gamètes mâles et l'oogone qui contient les gamètes femelles également appelées oosphères. Ce croisement hétérothallique entre deux mycéliums génétiquement différents se déroule dans le mésophylle des feuilles. Il est également possible dans certains cas d'assister à des formes de croisement homothallique **(Wong et al. 2001**). Les phénomènes de plasmogamie (fusion des cytoplasmes) et de caryogamie (fusion des noyaux) aboutissent à la formation de l'oospore.

Les oospores également appelées œufs d'hiver, assurent la survie de P. viticola pendant la période hivernale en se maintenant en phase dormante dans les feuilles ou sur le sol. La présence d'une double paroi permet à ces structures de survivre dans des conditions extrêmes, pouvant supporter des températures allant jusqu'à -20°C (**Vercesi et al. 1999**). En outre, même dans des conditions optimales de température (20 ° C) et d'humidité (> 95%) précoces, les oospores ne germent pas avant Janvier (**Burruano 2000**).

Au printemps, lorsque les températures avoisinent les 12-13°C et une humidité suffisante, les oospores germent et donnent naissance à un filament duquel se forme une cavité piriforme appelée macroconidie (ou macrosporange ou sporocyste). A l'intérieur de cette structure, les noyaux se multiplient par mitose produisant plusieurs dizaines de zoospores. Les précipitations entrainent la dissémination de ces structures via les éclaboussures de pluie. Les zoospores possèdent deux flagelles qui leur permettent de se déplacer dans l'eau et ainsi trouver un stomate par lequel pénétrer. Cette infection constitue la contamination primaire (**Gobbin 2004**).

Une fois présentes sur leurs tissus cibles, les zoospores perdent leurs flagelles et vont venir s'accrocher au niveau des stomates. Ce phénomène d'enkystation très rapide (<10min) est suivi par la formation d'un tube germinatif à partir des zoospores qui va grandir à travers les stomates jusqu'aux tissus internes (**Kiefer et al. 2002**). De nombreux hyphes mycéliens se développent et forment des haustoria (ou suçoirs) qui permettent de s'alimenter aux dépens de la vigne (**Unger et al. 2007**). Après 4 à 5 jours d'incubation, les premiers symptômes sont visibles sur la face adaxiale de la feuille avec la formation de « tâches d'huiles » ((Figure 07)((**Allègre et al. 2007**) .

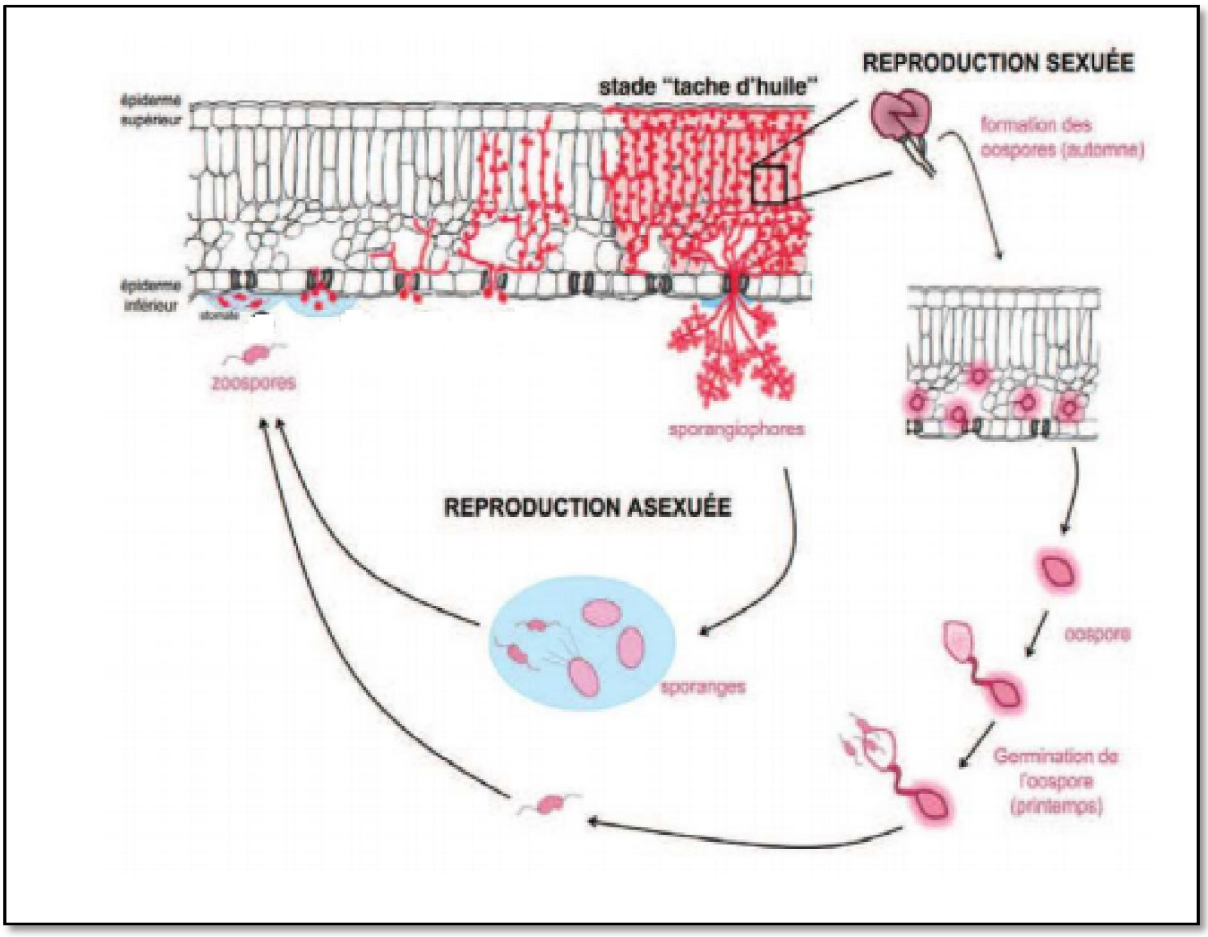


Figure 15 : Présentation des cycles de reproduction asexuée et sexuée de P. viticola.(**Allegre *et al.*, 2009).**

En effet, après 4 à 6 jours d'infection et si les conditions sont fortement humides, le mycélium peut sporuler et émettre des arbuscules à travers les stomates que l'on appelle Sporangiophores (**Bellow et al. 2018).** Ces structures possèdent plusieurs ramifications portant à leurs extrémités des sporanges. La formation de ces structures a la particularité de se développer seulement la nuit (**Rumbolz et al. 2002**). Cette phase de sporulation est visible à l'œil nu avec la manifestation d'un duvet blanc sur la face abaxiale des feuilles.

Les sporanges matures vont subir des divisions mitotiques et se différencier en plusieurs parties. Chacune de ses parties va devenir caduque après 14h et sera capable de libérer des zoospores (Burruano 2000). Les sporanges ainsi que les zoospores vont se disséminer à la faveur d'éclaboussures de pluie ou par le vent. Ainsi, le cycle de reproduction asexuée se termine par la germination des zoospores qui marque donc la contamination secondaire (annexe 1) .

II.5.Les symptômes de la maladie sur la vigne :

Sur feuilles, on peut observer sur la face supérieure une tache jaunâtre communément appelée **« tache d'huile ».**

Dans les conditions où le climat est sec, les zones atteintes se nécrosent et se déchirent. Par temps humide, un feutrage blanchâtre apparaît sur la face inférieure des feuilles : ce sont des **fructifications** du champignon.

L'attaque de mildiou sur feuilles engendre alors une diminution de la surface foliaire « efficace » et donc une **baisse de l'activité photosynthétique**. Cette baisse d'activité aura deux principales conséquences :

- **Diminuer le remplissage des raisins en cours de maturation**
- **Diminuer la mise en réserve dans les bois**

Sur rameaux (verts), le mycélium peut se développer avec deux conséquences majeures :

- Une multiplication cellulaire limitée en cas de forte attaque qui conduit à la **formation de rameaux de petite taille**
- Un moins bon aoûtement des bois qui rendra la **taille plus délicate** et **ne facilitera pas le passage de l'hiver** dans les meilleures conditions

Sur grappes, les symptômes du mildiou sont différents selon les stades touchés :

- **Avant la floraison de la vigne**, on observe une coulure dite pathologique se traduisant par le dessèchement des boutons floraux (inflorescences) et donc une perte de récolte assurée.
- Lorsque les contaminations ont lieu sur les fleurs ou les jeunes grappes **avant le stade « fermeture de la grappe »**, on observe alors la formation de rot gris correspondant à l'apparition d'un feutrage blanchâtre sur les jeunes baies.
- **Les attaques sur grappes plus tardives** ont lieu de façon « systémique ». En effet, les stomates des baies ne sont plus fonctionnels à ce stade et ne peuvent donc servir ni de porte d'entrée au champignon, ni de porte de sortie pour les fructifications. Le mycélium déjà présent dans les rafles ou le pédicelle peut en revanche aller se développer dans les baies ce qui donnera alors les symptômes dits de rot brun. Les baies prennent une couleur brun-rouge à violacé et se dessèchent. (**Aegerter *et al.*, 2003**).

- **Après la véraison**, on considère que les grappes ne sont plus sensibles au mildiou.

II.6.Les pertes économiques dues aux mildious de la vigne:

La culture de la vigne est exposée à une panoplie de champignons occasionnant des maladies qui sont dommageables à la récolte, dont l'un des principales est le mildiou,

Les cultures dans cette région de Médéa, essentiellement des vignobles, enregistrent d'importantes pertes causées par le mildiou, le parasite qui a provoqué le plus de dégâts.

Le parasite, qui a profité la forte pluviométrie enregistrées dans la région, rend la tâche du traitement très difficile, pour ne pas dire impossible,

L'ampleur de cette invasion est surtout due aux pluies printanières incessantes qui ont fait le lit du mildiou, il est possible d'observer à la fois des zones intactes et, quelques mètres plus loin, des zones comprenant des dégâts importants **(MADR, 2015)**

II.7.. La lutte contre le mildiou :

La lutte contre le mildiou s'organise principalement par des mesures préventives. Car s'il est possible de stopper une attaque, les dégâts une fois occasionnés sur les inflorescences et les grappes, sont par contre irrémédiables.

Quelques précautions sont importantes pour éviter l'installation de foyers primaires pouvant provenir d'oospores ayant passé l'hiver au niveau du sol et qui après germination produisent des zoospores contaminants :

- éviter l'accumulation d'eau dans les creux ou en bout de rang ; cela suppose d'assainir le terrain par drainage avant la plantation et de faciliter chaque année, l'écoulement des eaux de ruissellement ;
- éliminer les gourmands à la base du tronc ;
- effectuer des relevages précoces.

II.7.1.La lutte chimique

Plusieurs « fongicides » de synthèse systémiques ont montré des activités particulières contre le mildiou et notamment les phosphonates ou phosphites ($H_2PO_3^-$). Dans cette classe de « fongicides », le fosétyl-Al présente une mobilité acropète et basipète dans la plante et est actif contre les oomycètes, préférentiellement de manière curative. Outre son activité « fongicide », le fosétyl-Al est également décrit comme ayant un mécanisme activant la résistance aux maladies,

comme la production de phytoalexines chez les plantes (**Dufour & Corio-Costet 2013).** Ce « fongicide » singulier ne présente à l'heure actuelle aucune résistance chez *P. viticola*.

II.7.2.Les méthodes de lutte alternative

Aujourd'hui, il est possible de développer des alternatives aux méthodes conventionnelles afin de limiter l'apparition de résistance et éviter les problèmes environnementaux

II.7.2.1. Choix des variétés résistantes :

L'objectif de ces nouvelles variétés de vigne est de combiner une résistance durable au mildiou et une qualité de baie adaptée à la production de vin de haute qualité. Pour cela, des programmes génétiques ont vu le jour basés sur de nombreuses sources de résistance disponibles, avec plusieurs traits génétiques quantitatifs ou QTL (quantitative trait locus) de résistance ayant des effets divers et des stratégies de croisement permettant une résistance durable chez la vigne (**Merdinoglu et al. 2014)**

II.7.3. lutte biologique

II.7.3.1. Lutte microbiologie :

En ce sens, plusieurs travaux se sont intéressés à l'action directe de certains micro-organismes et composés naturels contre le mildiou de la vigne. Les bactéries du genre Bacillus ont notamment attiré l'attention de par leur stabilité sur les plantes et de leur habilité à produire différents antibiotiques avec un large spectre d'action **(Boubakri et al. 2015).** Une étude réalisée trois années de suite en vignoble a notamment montré l'effet anti-mildiou de B. subtilis KS1, isolé à partir de baies de raisins. Un des mécanismes pour expliquer son activité est la production d'un antibiotique antifongique, l'iturine A. Ce lipopeptide a notamment montré des activités toxiques contre plusieurs champignons de la vigne **(Furuya et al. 2011**)

D'autres micro-organismes ont fait l'objet d'études pour contrôler le mildiou de la vigne, tels que les champignons. Si la plupart des traitements en biocontrôle sont préventifs, l'application de *Fusarium proliferatum* en post-infection offre de nouvelles perspectives de lutte contre *P. viticola*. En effet, l'utilisation de ce champignon a permis une réduction de la production de sporanges de 97% sur disques foliaires et a empêché la resporulation.

II.7.3.2.Les extraits de plantes :

Depuis un peu plus d'une décennie, la recherche s'intéresse désormais à l'utilisation d'extraits de plantes comme oomycide naturel. Ces sources potentielles de composés antimicrobiens ont l'avantage d'être biodégradables, respectueux de l'environnement et potentiellement peu ou pas néfastes pour la santé humaine. Ainsi, les extraits végétaux exercent globalement une activité oomycide significative contre le mildiou de la vigne (Tableau 2). Si l'on compare les résultats de la littérature, on observe une inhibition totale du mildiou sur disques foliaires et in planta à des concentrations aux alentours de 1000 mg/L **(Thuerig et al. ,2018)**

Chapitre II : La lutte biologique :

Utilisation des extraits de plante

II.1.Généralité sur la lutte biologique :

Dans le domaine agronomique, la lutte biologique est toute forme d'utilisation d'organismes vivants ayant pour but de limiter la pullulation et/ou la nocivité des divers ennemis des cultures. Rongeurs, Insectes et Acariens, Nématodes, agents des maladies des plantes et mauvaises herbes sont justiciables d'une telle lutte, qui est basée sur des relations naturelles entre individus ou entre espèces, mises à profit par l'Homme de diverses manières. (**Huffacker, 1976; Baker et Dunn, 1990**)

L'agronomie moderne est devenue de plus en plus dépendante des plante, le laboratoire de la biologie et e la phytopathologie spécialement à travers le monde ont emboité le pas à l médecine traditionnelle pour la recherche des voies et des moyens de venir a bout des pathologies diverses qui touches les cultures, ceci par la recherches de nouveaux principes actifs et la compréhension de leurs mode d'action et d'emploie (Clausen, 1972)

Les propriété des plantes médicinales figurent dans de nombreux livres et permettent à tous un chacun choisir en connaissance de cause la plante dont il a besoin. Le plus souvent, ces propriétés n'ont pas été découvertes par les recherches modernes, mais font partie d'un savoir ancien, accumulé pendant plusieurs millénaires

Le but de la lutte biologique est de proposer des méthodes utilisant l'introduction volontaire par l'homme de prédateurs, de parasites ou de microorganismes pour réduire ou supprimer des espèces considérées comme nuisibles. En effet, en milieu naturel, chaque espèce vivante a un ou plusieurs ennemis ou compétiteurs naturels qui contribuent à maintenir cette espèce à des niveaux de population en équilibre relativement stable. Toute modification du milieu, naturelle ou provoquée, peut avoir des conséquences sur ces populations. La lutte biologique est une discipline scientifique basée sur les connaissances de la biologie de chacun des organismes impliqués mais aussi sur la prise en compte des relations complexes qui s'instaurent entre ces organismes. Pour mettre en place des programmes de lutte biologique, il est donc nécessaire de comprendre et évaluer les interactions entre organismes vivants ainsi que les interactions environnementales. Il faut aussi améliorer la connaissance de la biodiversité et des spécificités d'hôte et apprendre à gérer les diverses populations en présence. Toute introduction d'un auxiliaire de lutte biologique devrait se faire après une évaluation préalable des répercussions potentielles de cette introduction sur le milieu. La lutte biologique nécessite donc une approche pluridisciplinaire qui va mêler la biologie (microbiologie, biologie végétale, biologie animale), la génétique, la dynamique des populations, l'écologie et la pathologie, en

particulier la phytopathologie (Agarwala et Saha, 1984; Bishop et al., 1986, Clausen, 1972; Debach, 1973)

II.2.Les méthodes de luttes biologiques :

En agriculture biologique, les produits agricoles doivent être obtenus sans utilisation de produits chimiques de synthèse. Ainsi, en ce qui concerne la défense des végétaux, seuls les moyens biologiques, les moyens culturaux et les pesticides à base de substances naturelles sont autorisés (**Eliane, 2010**).

la lutte biologique peut être définie par l'usage d'organismes vivants ou de leurs produits pour empêcher ou réduire les pertes ou les dommages causé par des organismes nuisibles, s'appuie sur une stratégie de défense écologique et durable. Les organismes vivants utilisés, communément appelés auxiliaires, antagonismes ou agents de lutte, peuvent être parasitoïdes (parasites vivantes aux dépens d'une hôte qui meurt après leur développement), des prédateurs (insectes, acariens, nématodes) ou bien des pathogènes (virus, bactéries, champignons). **Vanhui (1991).**

II.3.La lutte biologique par l'utilisation des biomolécule d'origines végétale :

Les cultures sont attaquées ou concurrencées par divers parasites et ravageurs : insectes, champignons, bactéries, virus et adventices. Les solutions de protection des plantes, qu'elles soient d'origine naturelle ou issues de leurs dérivés, sont indispensables pour sécuriser les rendements et la qualité des productions. Elles contribuent à relever l'un des défis majeurs de notre siècle : offrir une alimentation saine et accessible pour tous. (**P. Jourdheuil, P. Grison et A. Fraval**)

Certaines substances naturelles peuvent être utilisées comme produit de biocontrôle. Ce sont des substances présentes dans le milieu naturel et pouvant être d'origine végétale, Ces substances peuvent se substituer à des pesticides de synthèse et ainsi limiter leur utilisation. Elles présentent en effet dans la plupart des cas un avantage en matière de durée de demi-vie assez courte ce qui limite les résidus dans les denrées alimentaires et leur persistance dans l'environnement. Leur utilisation est de plus intéressante dans le cadre de la gestion des résistances car leurs modes d'action sont généralement différents de ceux des pesticides de synthèse. Il est cependant souvent conseillé de les utiliser en combinaison avec d'autres méthodes alternatives. (Kutchan, 2001 ; Wink, 2003 ; Kliebenstein, 2004).

II.4..Généralité sur les métabolites secondaires :

De très nombreuses plantes médicinales, tinctoriales ou aromatiques contiennent des métabolites qui leur sont très spécifiques et à des teneurs parfois extrêmement élevées. Pour des raisons économiques, l'étude biochimique de ces composés a fait l'objet d'intenses efforts,

contribuant au développement de plusieurs pans entiers de la photochimie ayant des rapports étroits avec la pharmacie et l'industrie des colorants. Devant la quantité et la diversité des molécules caractérisées s'est rapidement posée la question de leur rôle biologique éventuel. Dans la mesure où ces molécules ne sont retrouvées que chez quelques espèces uniquement, on a d'abord pensé qu'elles ne pouvaient avoir aucun rôle réellement important en comparaison des métabolites universellement représentés comme les glucides, les protéines, les lipides ou les acides nucléiques et dont les fonctions biologiques commençaient déjà à être solidement établies. Une opposition s'est ainsi dessinée entre (**Bruneton, 2008**).

- d'un coté le métabolisme primaire, désignant un métabolisme à la fois universel et participant aux fonctions cellulaires,

et de l'autre le métabolisme secondaire, désignant un métabolisme dont la distribution taxonomique serait restreinte et dont la contribution au fonctionnement cellulaire ou au développement des plantes serait insignifiante.(Goudable et Favier, 1997 ; Pokorny *et al*., 2001).

II.4.1. Les huiles essentielles :

II.4.1.1. Définitions :

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique (**Kalemba, 2003**). Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (**Burt, 2004**), mais également à partir de gommes qui s'écoulent du tronc des arbres. Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation, expression à froid, comme les agrumes (**Burt, 2004**). De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression (**Santoyo et al., 2005**) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (**Kimbaris et al., 2006**).

II.4.1.2. Propriétés :

Les huiles essentielles utilisées pour leurs propriétés antifongiques sont les mêmes que celles citées précédemment cependant la durée du traitement sera plus longue..Les molécules aromatiques présent des les huiles essentielles possédant une activité antibactérienne la plus importante tels que les phénols contenus par exemple dans l'huile essentielle de clou de girofle. (**Duraffourd *et al.*, 1990).**

Les propriétés antiseptiques et désinfectantes sont souvent retrouvées dans les huiles essentielles possédant des fonctions aldéhydes ou des terpènes comme l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata.* (**Duraffourd *et al.*, 1990).** Certaines huiles essentielles sont insectifuges ou insecticides comme celles possédant des fonctions aldéhydes comme la citronnelle contenue dans l'*Eucalyptus citronné* ou la citronnelle.

II.4.2.Les composé phénoliques :

II.4.2.1. Définitions :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui constituent un des groupes le plus représenté et largement distribué dans le monde végétal avec plus de 8000 structures phénoliques.

L'élément structural fondamentale qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est lié directement au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction (éther, ester, hétéroside…etc.). Le phénol est le composé de base de ce groupe et les dérivés portant plus de deux noyaux benzéniques sont appelés les polyphénols **(Bruneton, 2015 ; Šaponjac *et al.*, 2016).**

Ces composés forment le principe actif de nombreuses plantes médicinales. Ils sont abondants chez plantes vasculaires et localisés dans : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruit.

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies de biosynthèse:

- La voie des phénylpropanoïdes (C6-C3) ou de l'acide shikimique qui conduit a la synthèse de certains acides aminés aromatiques comme la L-phénylalanine et/ou la L-tyrosine, puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs dérivés comme les coumarines.

- La voie des flavonoïdes, combinant la voie des phénylpropanoïdes et celle de l'acide acétique conduisant aux polyacétates. Les acides benzoïques, composés en C6-C1, sont issus de la dégradation oxydante des acides cinnamiques ou *p*-hydroxy-cinnamiques ce qui conduit a la formation d'acides hydroxybenzoiques. L'élaboration du squelette flavonoide en C6-C3-C6 est effectuée par la chalcone synthase. Pour que cette enzyme soit fonctionnelle, il faut que l'acide *p*-coumarique soit active sous la forme d'acide *p*-coumarique-Coenzyme A par une CoA-ligase non spécifique. Le précurseur ainsi activé pourra réagir avec trois molécules de malonyl-CoA. Par la suite, la cyclisation du triacetate s'effectue selon la reaction de Claisen et conduit à la formation d'une chalcone, la 4,2′,4′,6′-tetrahydroxychalcone **(Bruneton, 2015).** Une cyclisation conduira a l'obtention du noyau flavone, intermédiaire de la synthèse des flavonoïdes, des tanins condensés et des anthocyanes

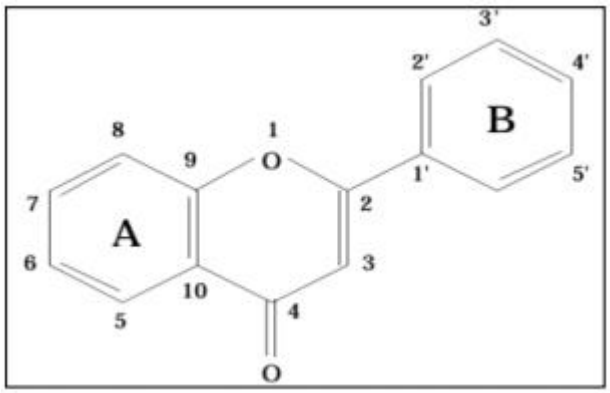


Figure 16 :Structure de base des flavonoïdes (Cowan, 1999).

II.4.2.2. Propriétés des composés phénoliques :

Les polyphénols sont connus pour leurs activités biologiques qui sont en relation directe avec la santé de l'être humain. Ainsi, **Halliwell (1994**) confirme que les polyphénols sont connus par leurs activités anti-oxydantes. En effet, en conditions physiologiques, le dioxygèn produit au niveau des mitochondries des espèces réactives de l'oxygène (ERO) est toxique pour l'intégralité de la cellule.

L'étude de Halliwell a montré que l'activité anti-oxydante des polyphénols est déterminée par leurs structures, en particulier la position des groupements hydroxyles sur les noyaux aromatiques et la capacité des composés aromatiques à supporter une délocalisation électronique. Par la suite **Fuchs** (**1998**) a montré que les polyphénols sont connus dans la protection contre le stress photo-oxydant cutané induit par les rayons solaires, raisons pour les quelles les polyphénols sont présents comme ingrédients dans plusieurs préparations cosmétiques utilisées dans le traitement du vieillissement cellulaire et la protection de la peau (**Menaa *et al.* 2014**)

Des études plus récentes ont montré que les polyphénols présentent une activité antibactérienne importante (**Ferrazzano *et al.*, 2011**). Ces composés agissent par deux mécanismes d'actions : un premier consiste à l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique dans les bactéries (**Wu *et al.*, 2013**) et un deuxième provoquant l'endommagement des membranes cellulaires des bactéries (**Tsuchiya et Linuma, 2000**).

Chapitre III : Présentation des plantes étudiées

III. Description des plantes étudies :

III.1.Thym sauvage (*Thymus vulgaris*) :

III.1.1.Description morphologique de la plante :

Thymus vulgaris est un sous-arbrisseau touffu, vivace et aromatique pouvant atteindre de 20 à 30 cm de hauteur. Ses tiges sont dressées, ligneuses, rameuses et tortueuses à la base et ses racines sont assez robustes, ses branches sont minces, denses, ramifiées, blanchâtres et courtement velues, portant des feuilles persistantes de couleur vert grisâtre, subsessiles, opposées, oblongues-lancéolées à linéaires et mesurant de 3 à 12 mm de long et de 0.5 à 3 mm de large. Les marges de leurs limbes sont enroulées sur la face ventrale ce qui donne aux feuilles une forme générale d'aiguille. Les fleurs sont de petite taille (4 à 6 mm de long), de couleur blanche à rose, bilabiées, zygomorphes, regroupées par 2 ou 3 à l'aisselle des feuilles et rassemblées en glomérules ovoïdes.(**Prasanth et *al.*, 2014)**

Le calice est velu, hérissé de poils durs, vert, souvent avec des taches violettes, en forme de tube ventru à la base, mesurant de 3 à 4 mm de long. Il est formé de 5 sépales soudés en 2 lèvres inégales, celle du haut étant tridentée et celle du bas bilobée, ciliée et arquée La corolle est bilabiée, blanchâtre à violet pâle et de taille variable. Le fruit est un tétramère brun clair à brun foncé qui renferme à maturité 4 minuscules graines (1 mm). La période de floraison de de l'espèce a lieu, mai à août (**Prasanth et al. 2014**)





Figure 17 : présentation de la plante de thym sauvage

III.1.2.Systématique :

La situation botanique de l'espèce Thymus vulgaris L. est donnée ci-dessous (**Goetz et Ghédira ., 2012**):

Règne: Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe :Asteridae

Ordre:Lamiales

Famille:Lamiaceae

Genre: *Thymus*

Espèce : ***Thymus vulgaris***

III.1.3. propriété de Thym sauvage :

Thymus vulgaris est l'un des plus populaire plantes aromatique utilisé dans le monde entier, ces applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (**Adwan et al. 2009**). Le thym est consommé en tisane, condiment ou épice (**Stahl-Biskup et Sàez, 2002**). En raison de ses nombreuses propriétés ethno médicinales, il est utilisé comme stimulant, antiseptique, sédatif, stomachique, antitussive, antispasmodique, antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire, antiviral, carminatif, expectorant, anthelminthique, diaphorétique et diurétique (**Johnson, 1998**). En usage interne, les parties aériennes sont utilisées en décoction ou en infusion dans le traitement de la dyspepsie et autres troubles gastro-intestinaux, de la toux, des irritations de l'appareil respiratoire et des rhumes mais aussi, des infections des voies urinaires (**Polese, 2006**).

En usage externe, elles traitent les affections liées à l'inflammation telles que les rhumatismes, les gonflements musculaires, les piqûres d'insectes et les douleurs (**Namsa et al. 2009**). Elles peuvent s'employer en gargarismes, inhalations, bains de bouche et comme additif de bain pour stimuler la circulation sanguine soulageant de ce fait, la dépression nerveuse (**Özcan et Chalchat, 2004**)

Thymus vulgaris se situait parmi les fines herbes séchées contenant les plus grandes capacités antioxydants .Différant composant du thym lui permettent de posséder un tel statut, comme les phénols (**thymol et carvacrol**), les flavonoïdes, l'acide caféique et la vitamine E (**Guillén et Manzanos, 1998 ; Kulisic et al. ,2006**). Ces constituants inhibent la peroxydation

lipidique induite in vitro au niveau des mitochondries et des microsomes .Il inhibent également partiellement la production de l'anion super oxyde (**Bruneton, 1999**)

III.2.. lavande sauvage (*Lavandula angustifolia*)

III.2.1. Description morphologique de la plante :

La lavande officinale ou lavande vraie, Lavandula angustifolia Mill, est une espèce végétale de la famille des lamiacées. Elle pousse à l'état sauvage en Provence mais peut être cultivées dans des régions plus septentrionales. Les petits rameaux portent les feuilles à de couleur mauve pale à violette au sommet. On dénombre plus d'une centaine de variétés de lavande dont les propriétés sont très différentes. Les dénominations latines *Lavandula angustifolia Mill* et *Lavandula officinalis* désignent la même plante (**Toninolli et Meglioli., 2013**)

Le nom lavande vient du verbe latin lavo, le nom lavare est signifié se laver ou se nettoyer. La lavande est connue depuis l'Antiquité, comme en témoignent les travaux de Dioscorides intitulés « De Materia Medica», qui vante ses propriétés médicinales.



Figure 18 : Planche botanique de Lavandula angustifolia Miller (fr.wikipedia.org)

III.2.2. Systématique :

La situation botanique de l'espèce lavandula angustifolia Mill est donnée ci-dessous Selon **Quezel et Santa, 1963** :

- Règne : Plantae
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Sous-classe : Asteridae
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : Lavandula

- Espèce : *Lavandula angustifolia Mill.*

III.2.3. propriété de lavande sauvage :

La fleur de lavande, de qualité pharmaceutique est généralement composée d'au moins 0,8% à 3%huile volatile. L'Allemagne et la France ont des spécifications supplémentaires pour déterminer l'identité L. angustifolia Miller est composé de plus de 100 constituants, y compris des esters (monoterpényl): linalyleacétate (17,6% à 53%), acétate de lavandulyle (15,9%) et acétate de géranyl (5,0%); alcools (monoterpénols):linalol (26% à 49%), a-terpinéol (6,7%) et terpinène4-ol (0,03% à 6,4%); sesquiterpène: β-caryophyllène (2,6% à 7,6%); monoterpène: cis-β-ocimène(1,3% à 10,9%); oxyde (monoterpenoid):1,8-cinéole (0,5% à 2,5%). Le 2,4

L.angustifolia Miller comprend également environ 12% de tanins distinctifs de Lamiaceace, un atout dans les industries de la parfumerie et des cosmétiques. Le camphre, une cétone (monoterpénones), contient moins de 1%, ce qui est nettement inférieur aux autres espèces de Lavandula. Bien que l'acétate de linalyle en ait la plus grande proportion, le linalol est considéré comme le principal constituant actif.

Les propriétés anti-infectieuses des extraits aqueux de la lavande sauvage proviennent des monoterpénols qui sont des anti-infectieux polyvalents (antibactériens et antifongiques) doux et bien tolérés

Comme beaucoup d'extraits aqueux, celles de lavande possède une activité antibactérienne qui est rattachée a certains de ces composés oxygénés reconnus comme étant antiseptique, tels que le linalol. Cette activité microbicide a été mise en évidence par la réalisation d'aromatogrammes (Clareton, 1999).

III.3. travaux antérieurs de deux plantes étudies:

Le criblage phytochimique des extraits des deux espèces : *Thymus vulgaris* et *Lavandula angustifolia* Mill, montre quelles contiennent différents types de composés phénoliques et en des quantités considérables les flavonoïdes, les anthocyanes et les tannins **Singleton et Rosss (1965)**

Les résultats obtenus par (**Khedimallah Nouzha, Filali Imene Nihad, 2018)** ont montré que les extraits de thymus vulgaris contiennent une quantité importante de tannins gallique. Contrairement aux extraits de *Lavandula angustifolia* Mill qui sont moyennement riches en tanins catéchiques.

La CCM des extrait aqueux des deux plantes a révélé la présence des métabolites secondaires tel que les composés phénoliques (flavonoïdes, anthocyanes, tanins…), dans les différents extraits des deux espèces ce qui confirme les résultats obtenus lors des criblages phytochimiques. **(Abedini, 2013)**. (Voir annexe 4).

L'extrait aqueux de *Thymus vulgaris.* Et celui de *Lavandula angustifolia* Miller a un effet d'inhibition puissant sur la croissance de la souche fongique *Plasmopara viticola*, avec des zones d'inhibition supérieure. **(Rotsart et Courtejoie, 1984).**

Les flavonoïdes présentent dans les extraits des deux plantes étudié ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve : les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : *Staphylococcus aureus* ***(*****Babayi et.*****al,* 2004)**, *Escherichia coli* ***(*****Ulanowska et.*****al,* 2006).**

Des études réalisées par l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS, 1999)** et d'autres auteurs **(Dorman et Deans., 2000 ; El Ouali Lalami et *al.,* 2013)** ont montré que les composés phénoliques de *Thymus vulgaris* possède une forte activité antifongique contre de nombreuses espèces microbiennes, dont *Plasmopara viticola* .

Chapitre IV: Matériels et méthodes

Objectif :

Notre travail vise en particulier à extraire des composés bioactifs du *Thymus vulgaris et Lavandula angustifolia Mill* et l'évaluation de leurs activités antifongiques sur l'agent phytopathogène *Plasmopara viticola*.

IV.1.Matériel :

IV.1.1. Le matériel végétal:

Notre travail a porté sur les parties aériennes de deux espèces de plantes aromatiques et médicinales :

- Le thym sauvage
- La lavande sauvage

Ces deux espèces de plantes ont été choisies pour les raisons suivantes :

- Leur large utilisation en médecine traditionnelle (Préparation des tisanes et autres), pour le traitement de maladies et d'infection de nature microbienne.

- Leur large répartition, comme ressources botaniques naturelles dans plusieurs régions du pays notamment dans l'Est Algérien.

- Le manque de travaux de recherche sur les propriétés biopesticides, en particulier le pouvoir antifongique des huiles essentielles de ces espèces végétales.

Pour réaliser ce travail, nous avons prospecté les stations comprenant les deux espèces végétales avec un taux de recouvrement assez important. Le protocole expérimental réalisé est le même pour les différentes espèces végétales. Les échantillonnages sont réalisés pendant les mois de février – Mars dans la matinée. Pour récolter, nous utilisons des sachets en plastique où nous mettons les plantes, des ciseaux et des gans.

IV.1.2.Présentation de la région étudié ::

Les prélèvements des échantillons ont été faits en hiver en mois de février et Mars .Des tiges feuillées ont été récoltées à partir de la plantes médicinales (***Thymus vulgaris et lavandula angustifolia***) au hasard dans les localisations géographiques : boughar et ouled Anter de Médéa qui se trouve la wilaya au nord d'Algérie.

La commune est située dans les monts d'Ouarsenis à environ 147 km au sud-ouest d'Alger et à 71 km au sud de Médéa et à environ 12 km à l'ouest de Ksar El Boukhari et à 122 km au sud-est Ain Defla et à 111 km au nord-est de Tissemsilt et à 163 km au nord-ouest de Djelfa avec une superficie 122.95 Km² et une altitude de 952 m Au dessus du niveau de la mer.

Les localisations géographiques des régions dont l'échantillonnage a été réalisé est précisée par les coordonnées suivant :

1- N 35.91859° E 2.57704° **2- 35°55'05.0″N 2°40'33.7″E**

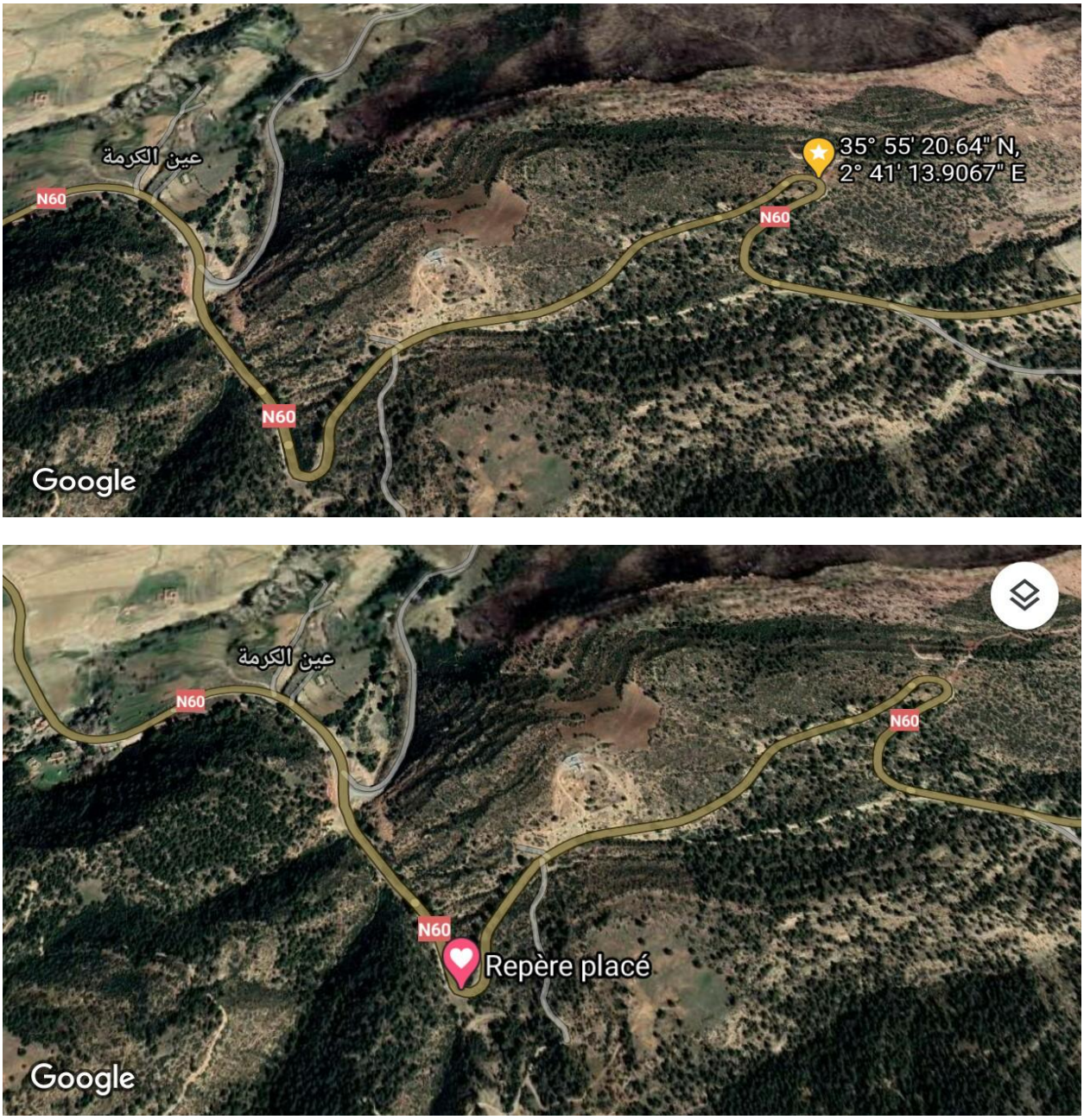


Figure 19 : Cartes géographiques des stations d'étude (Google Earth).

IV.1.3. le matériel biologique:

IV.1.3.1. Le champignons phytopathogène (*Plasmopara viticola*)

L'échantillonnage sur la souche fongique du mildiou de la vigne a été réalisé dans l'institue national de l'arboriculture et des arbres fruitières (ITAFV) a benchikaou sous la

supervision de Mrs hamidi durant le mois de janvier a février où des feuillées présentant des symptômes précises de la maladie du mildiou de la vigne ont été récoltées au hasard .

IV.1.3.2. milieu de culture de la souche

Le choix d'un milieu de culture est basé sur son adéquation pour un bon développement du pathogène. Etant donné qu'il s'agit des champignons hétérotrophes, un milieu de culture organique à été retenu. Il s'agit du milieu **PDA** (potato Dextrose Agar) (DAVET et ROUXET ,1997). (Annexe 3).

IV.2. Méthodes :

IV.2.1... Préparation de l'extrait aqueux:

Les extraits aqueux des deux plantes ont été obtenus à partir de 50g de poudre des feuilles infusée dans 1 litre d'eau distillée préalablement chauffée à 100°C. Ce mélange a été agité pendant 2 heures sur un agitateur magnétique. Après une période de décantation durant 24 heures, le surnageant a été filtrée sur du coton hydrophile puis sur papier Wattman (3mm). L'eau de la solution a été évaporée à 50°C à l'aide d'un rotavapor de type BÜCHI, puis à l'aide d'une étuve (45°C). L'extrait sec obtenu a été conservé au congélateur jusqu'à son utilisation

(**Soro et al. 2009a; Nene-Bi et al., 2009, avec modification**

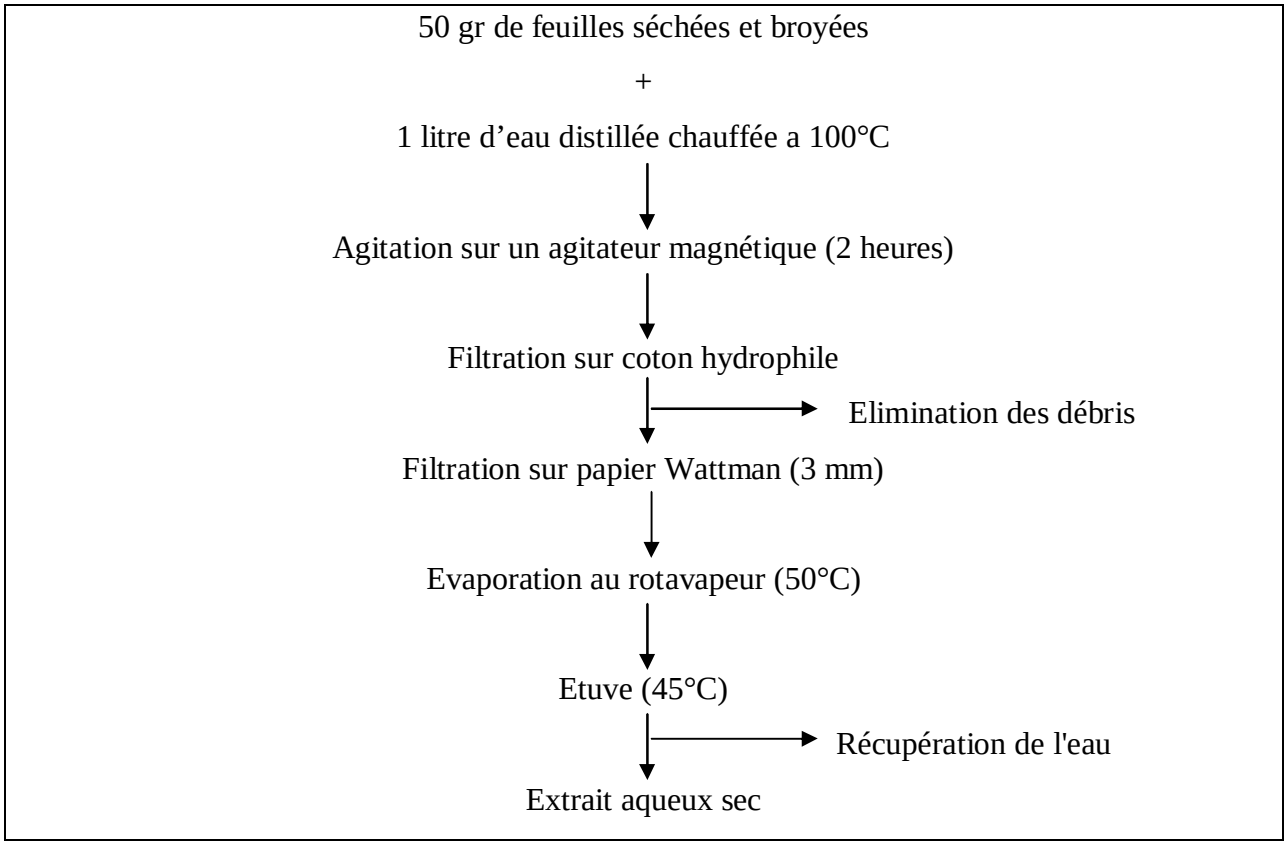


Figure 20: Protocole de préparation de l'extrait aqueux.

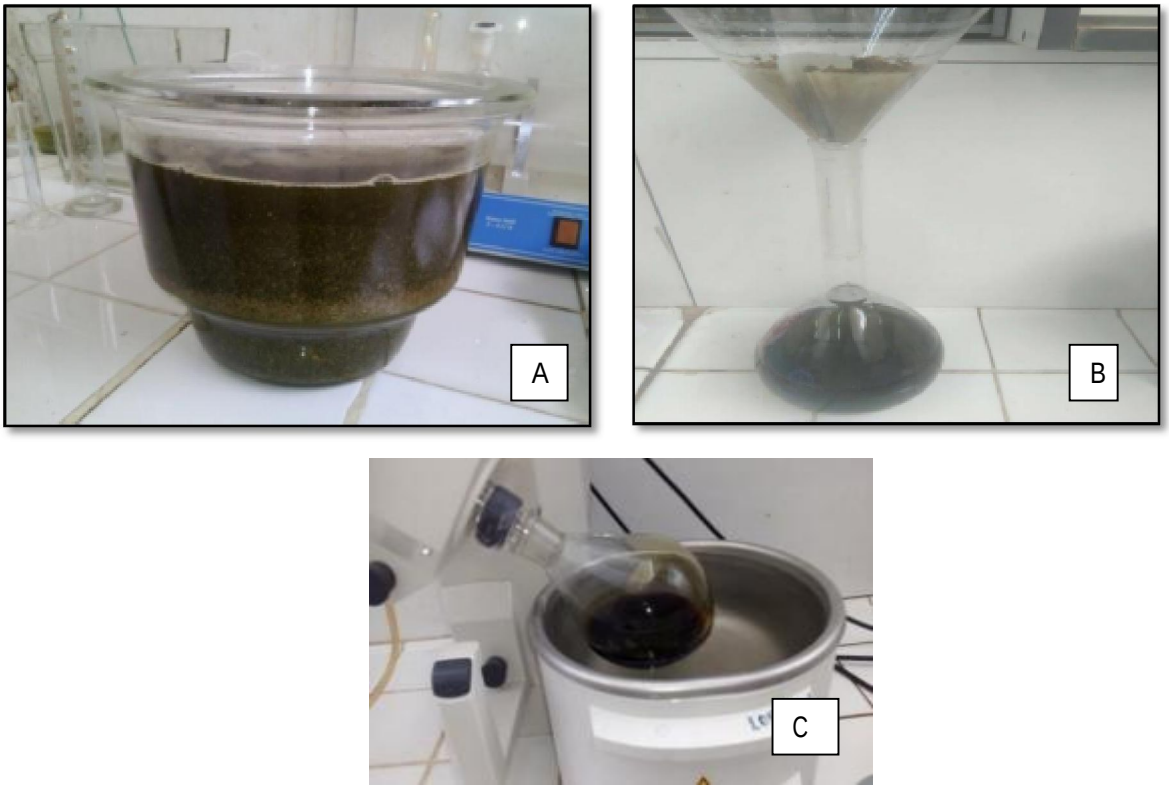


Figure 21 : Les étapes d'obtention de l'extrait (A- macération / B- filtration / C- évaporation)

IV.2..2. Calcul du rendement :

Le rendement de la plante en extraits est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter (Carré, 1953). Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante: **R= PE/PA x 100**.

Où

R= Rendement de l'extrait en pourcentage;

PE= Poids de l'extrait en gramme;

PA= Poids de la plante en gramme.

IV.2.3.. Les. tests phytochimique :

Nos études sont focalisées sur la recherche de principaux groupes chimiques existants dans les plantes ciblées (les phénols totaux, Tanins, Flavonoïdes.) par des réactifs spécifiques.

IV.2.3.1. Dosage des phénols totaux :

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de FolinCiocalteu. **Heilerová et.al, 2003).**

Protocol expérimental :

Une quantité de 200µl de l'extrait est mélangé avec 1ml du réactif de FolinCiocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué) et 0,8ml de Na2CO3 à 7,5%. L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 90 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm. **(Heilerová et.al, 2003)**

La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique a des concentrations variables de 50,100, 200, 300, 400, 500 mg.l-1 . Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière séche (mg/EAG.g1 MS). (**Singleton et.al, 1999) .**

IV.2.3..2.Dosage des flavonoïdes:

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$. En effet, le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxyles OH des phénols (Bouchouka, 2016).

Protocol expérimental :

Le dosage est décrit par Bahorun et *al* (1996). Un volume de 1 ml de chaque extrait et de standard (dissout dans le méthanol) est ajouté à 1 ml de la solution d'$AlCl_3$ (2 % dissout dans le méthanol). Ensuite, la solution est bien homogénéisée et l'absorbance a été mesurée à λ max =430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible après 10 min d'incubation. La teneur total en flavonoïdes (TTF) était exprimé en mg d'équivalent quercétine par 100 g de matière sèche (mg QE / 100 g de MS).

IV.2.3.3. Dosage des tanins :

Les tanins condensés sont dosés selon la méthode colorimétrique de Folin Denis, décrite par **Julkunen-Titto** (1985). En présence d'acide sulfurique concentré, les tannins condensés se dépolymérisent et par réaction avec la vanilline se transforment en anthocyanidols de couleur rouge spécifique, quantifiables par spectrophotométrie UV-visible (**Schofield et *al*., 2001).**

Protocol expérimental :

La teneur en tannins condensés est déterminée par la méthode de Julkunen-Titto (1985). Ainsi, 50 µl de l'échantillon à tester sont mis dans un tube à essai auxquels nous ajoutons 1,5 ml de vanilline 4% et 750 µl de HCl concentré. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 20 min

et les valeurs des densités optiques (DO) sont mesurées à 500 nm. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalents de catéchine par gramme d'échantillon sec (mg EC/g MS).

IV.2.3.4.. Chromatographie sur couche mince :

La chromatographie sur couche mince, ou sur plaque (CCM), est effectuée surtout en vue d'une analyse d'un mélange. C'est une technique d'analyse qualitative qui nous permet de fractionner les extraits des deux plantes étudiés afin d'avoir une idée sur leur composition chimique en utilisent certaines molécules pures comme témoins (acide gallique, myrcetine, catéchine et la quercétine)

La chromatographie sur couche mince repose sur les phénomènes d'adsorption, d'interactions et de polarité. Un mélange de composés est placé sur un support solide (phase stationnaire) plongé dans un solvant (phase mobile) qui se déplace par capillarité le long de la phase stationnaire. La phase mobile va entraîner les composés qui migreront à une hauteur variant en fonction de leur affinité pour la phase stationnai re et la phase mobile. On peut ainsi caractériser les composés selon leur Rf (**Abedini, 2013**).

Le principe de la chromatographie repose sur l'entrainement d'un échantillon dissous par une phase mobile à travers une phase stationnaire (**Wikipédia, 2008**)

- **Mode opératoire :**

A / Préparation de la phase stationnaire : La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur des plaques pré-étalées de gel de silice et sur des plaques de polyamide (DC6), quant à ces dernières sont préparées en mélangeant 10 g de poudre de polyamide dans 50 ml d'éthanol, après étalement du gel sur des plaques en verre et séchage, la phase stationnaire sera prête à l'utilisation.

B / Préparation de la phase mobile : La phase mobile est constituée par un mélange de solvants organiques. Pour cela, différents systèmes solvants ont été essayés pour définir ceux qui donnent les meilleures séparations.

C / Le dépôt : le dépôt se fait avec des tubes capillaires en verre à usage unique d'une façon perpendiculaire et linéairement. Chaque phase doit être déposée en solution diluée dans le méthanol, on peut effectuer plusieurs dépôts successifs du même analyte en même endroit, cette pratique permet de concentrer l'analyte (**Sine, 2003**)

D / Développement des plaques : chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entrainé par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque (**Sine, 2003**)

E / Révélation : si les constituants sont colorés, ils seront directement visible sur la plaque, sinon la révélation peut se faire soit aux UV ou bien par des méthodes chimiques :

***Révélation aux UV :** qui permet de mettre en évidence sous forme des taches des substances qui absorbent les UV entre 254 nm et 365 nm.

***Révélation par des méthodes chimiques :** ces méthodes consistent à mettre en contacte de la plaque un réactif plus ou moins spécifique qui donne un produit coloré par réaction chimique avec les substances à révéler (**Latifou, 2005**)

on détermine pour chaque constituant son Rapport frontal Rf :

$$Rf = \frac{\text{distance parcourue par l'especechimique}}{\text{distance parcourue par le front de l'eluant}}$$

IV. 2.4. Evaluation des activités antifongiques des extraits aqueux :

IV.2.4.1..Préparation des dilutions des extraits:

Pour le choix des doses, nous nous sommes basés sur la dose recommandée contre les lépidoptères, à partir de l'extrait initial (0, 50, 100, 200,300, 500 et 800 mg / L de chaque plante et extraits, Les concentrations sont préparées par dilution dans l'eau distillée. Le témoin est constitué uniquement d'eau distillée.

IV.2.4.2. Conservation *du Plasmopara viticola*

Plasmopara viticola est un parasite obligatoire que l'on est actuellement incapable de cultiver sur un milieu de culture synthétique Pour le conserver, le multiplier et l'étudier, on est obligé de le maintenir sur des feuilles ou des disques foliaires de vigne en survie (figure)



Figure22: Conservation et multiplication de *Plasmopara viticola* sur disques de feuilles de vigne en survie (Julien Gabaston et al ,2017)

IV.2.4.3..Teste d'activité antifongique :

Le test utilisé est « test fongicide direct » selon Julien Gabaston et al (2017) on suive les étapes suivantes :

-Les sporanges ont été obtenus comme décrit ci-dessus, récoltés et mis en suspension dans de l'eau stérile à 4 ° C avant l'inoculation sur la face supérieure des feuilles avec 20 gouttelettes de 15 µl.

-Les feuilles de vigne ont été conservées une nuit dans l'obscurité pendant ouverture des stomates et pénétration des zoospores. À l'aide d'une pompe à vide, les gouttelettes résiduelles ont été aspirées et les feuilles ont été incubées pendant 7 jours dans des conditions contrôlées (22 ° C) avec un jour de lumière de 16 h .

-Pour tests antifongiques, des disques de 25 mm de large ont été générés avec un emporte-pièce et disposés au hasard sur papier filtre humidifié dans des boîtes de Pétri. Huit répétitions ont été effectuées pour chaque concentration.

-Le différent les extraits ont été préparés dans de l'eau stérile avec 1% d'éthanol avec une gamme de sept concentrations (0, 50, 100, 200,300, 500 et 800 mg / L).

- Les dilutions ont été pulvérisées avec un microdiffuseur (0,7 mm) ayant une réserve de pression sur les disques à feuilles.

- Les témoins ont été effectués par pulvérisation l'eau stérile sur des disques de feuilles.

- Un jour plus tard, les surfaces des feuilles ont été séchées et 3 gouttelettes de 15µl par disque ont été déposées à partir d'une suspension de spores à 15x103 sporanges par ml.

-Les disques de feuilles ont été cultivés pendant 7 jours. Trois expériences indépendantes ont été réalisées (Figure ??).

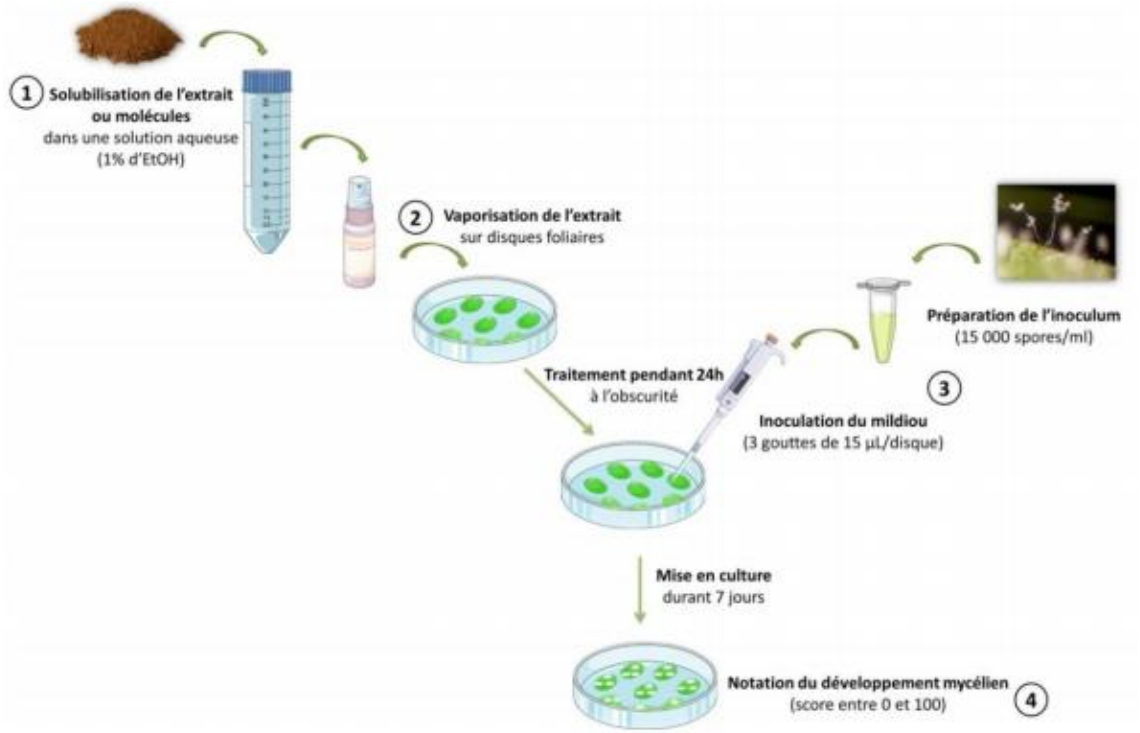


Figure 23. Procédé du test anti-oomycète contre le mildiou de la vigne. **(Julien Gabaston2017)**

-Mildiou le développement a été mesuré en fonction de la densité du mycélium et du nombre de sites de sporulation. Par en comparaison avec les disques témoins, une conversion en pourcentage d'inhibition a été réalisée.

Conclusion & Perspectives

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus il apparait que les extraits de *Thymus vulgaris et de Lavandula angustifolia Mill* récolté dans les deux régions d'étude (boghar et oulad antar) selon n'import quels type de solvants à différents polarités utilisés ont inhibé efficacement la croissance des différents agents pathogènes étudiés

D'après les recherches bibliographiques on constaté que les teneurs en composés phénoliques dans les extraits des deux espèces sont importants: Les deux plantes sont riches en flavonoïdes, anthocyanes, tanins, ce qui reflète sur leurs efficacités sur les agents étudiés

Ainsi, pour la mise en évidence de l'activité antifongique d'extraits de *Thymus vulgaris et de Lavandula angustifolia Mill* vis-à-vis certaines souches fongique testées.

Cependant, cette étude ne constitue qu'une première ébauche dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives de la plante.

D'autres recherches sont donc nécessaires pour compléter les informations déjà acquises. Les études doivent être orientées surtout :

Evaluer l'activité antifongique d'autre composés actifs de deux plantes étudies (huiles essentielles , les Alcaloïdes) vis-à-vis *Plasmopara viticola*

Evaluer l'activité antifongique d'autre plante vis-à-vis *Plasmopara viticola* .

Poursuivre notre étude par d'autre études chimiques pour l'identifier les composants actifs (chromatographiques).

Références bibliographiques

- A-

- **Abedini. A. (2013).** Évaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de doctorat. Universite du Droit et de la Sante, Lille II. *HAL*. 2014. p 84-85
- **Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K., Abu-Shanab F**, 2006, Antibacterial effects of nutraceutical plants growing in Palestine on Pseudomonas aéruginosa. Turk. J. Biol, 30, 239-242p.
- Agriculture du Maghreb, **mohamed sbaghi**,Les principales maladies cryptogamiques de la vigne, n50, Mars, 2011.
- **Agrios, G.N**. 1988. Plant diseases caused by Fungi. In Plant Pathology (Third Edition). G.N. Agrios (ed.). Academic Press, San Diego, California. p.396.
- **AGyours (2014)**. Insectes et maladies dans la pomme.http://www.agyours.com/?portfolio=insectesetmaladiesdans
- **Aldwinckle H S, Beer S V**(1979) Fire blight and its control. Hortic Rev 1:423-474.
- APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Apr. 2003, p. 2133–2138, Vol. 69, No. 4

- B -

- **Baggiolini M**., 1952. Les stades repères dans le développement annuel de la vigne et leur utilisation pratique. *Revue romande d'Agriculture et d'Arboriculture* **8** (1), 4–6.
- **Bellow, Sébastien et al**. "Optical detection of downy mildew in grapevine leaves: daily kinetics of autofluorescence upon infection." *Journal of experimental botany* vol. 64,1 (2013): 333-41. doi:10.1093/jxb/ers338
- **Bretaudeau J**., 1978 : Atlas d'arboriculture fruitière. Volume 02. Ed. J.B. Baillière& Fils. Paris, 173 P.
- **Bruneton J,** 1999, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3 ème édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 1120p
- **Bruneton, J.** (1993). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Technique et documentation Lavoisier, Paris, 915 p..
- **Bugert P and Geider K** (1995) Molecular analysis of the *ams* operon required for exopolysaccharide synthesis of *Erwinia amylovora*. Mol Microbiol 15:917-933.

- **Burrill,T.J** . (1882). les bacterie :un compte rendu de leur nature et leurs effets ,ainsi qu'une description systématique de l'espece .HW Rohker .
- **CHEVREAU, E. et MORISOT, D**. (1985). : Variabilité génétique d'une collection d'espèces des genres Malus et Pyrus, Analyse botanique et enzymatique .D.E.A. INRA. Station d'arboriculture fruitière1-8.

- C -

- **Clareton Nadine (1999)**, la lavande, Lavandula angustifolia Mill, thèse pour le diplôme d'etat de docteur en pharmacie, Montpellier.
- **COUTANCEAU M**., (1962): Arboriculture fruitière. Technique et économie des cultures de rosacées fruitières ligneuse. Ed. Baillère et fils, Paris, pp 46 47.
- **Cowan, M.M,** 1999, Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev, 12(4), 564- 582p .

- D -

- **Dorman HJD et Deans SG**. Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. : 2000, 88, 308-316.
- **Dubos, B**. Maladies cryptogamiques de la vigne. Bordeaux : Ed Féret 2002. **(2002)**, 174 pages
- **Dulger B., et Gonuz A**. (2004). Antimicrobial activity of some turkish medicinal plants. *Pakistan journal of biological sciences*, **7** (9) : 1559-1562.

- G-

- **Galet, P**. (1977). Mildiou. In P. Galet (Ed.), *Les maladies et les parasites de la vigne* (pp. 89–222). Montpellier: Paysan du midi.
- **Gessler, C.; Pertot, I.; Perazzolli, M**. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea* **(2011)**, *50*: 3-44
- **Goetz P., Ghédira K**, 2012, Phytothérapie anti-infectieuse. Springer Science & Business Media, 394p.
- **Guillén M. D., Manzanos M. J**. (1998) Study of the composition of the different parts of a Spanish Thymus Vulgaris L. plant. Food chemistry. 63 (3): 373-383. India. Journal of Ethno pharmacology, 125, 234-245p

- H -

- **HUGLIN P. et SCHNEIDER C**., 1998. Biologie et écologie de la vigne, 2eme éd.Lavoisier TEC & DOC. N° 260. Paris. 370p.

- J -

- **Jock, S., Rodoni, B., Gillings, M. *et al***. Screening of ornamental plants from the Botanic Gardens of Melbourne and Adelaide for the occurrence of *Erwinia amylovora*. *Australasian Plant Pathology* 29, 120–128 (2000). https://doi.org/10.1071/AP00020
- **Johnson H**. 2002. *Une histoire mondiale du vin de l'antiquité à nos jours*. [Paris]: Hachette.
- **Johnson T**, 1998, CRC ethno botany desk reference. CRC Press, 1224p
- **Julien Gabaston,† Emma Cantos-Villar,‡ Benoît Biais,† Pierre Waffo-Teguo,† Elodie Renouf,† Marie-France Corio-Costet, § Tristan Richard, † Jean-Michel Mérillon†** 2017 Stilbenes from Vitis vinifera L. Waste: A Sustainable Tool for Controlling Plasmopara viticola J Agric Food Chem. , 5;65(13):2711-2718.doi: 10.1021/acs.jafc.7b00241

- K -

- **Karthick M, Kamalakannan A, Malathi VG, Paranidharan V, Sivakumar U, Kavino M and Gowrisri N,** 2019 , Morphological characterization of *Plasmopara viticola*, the inciting agent of grapes downy mildew , p210-p213
- **Khedimallah Nouzha, Filali Imene Nihad,** 2018, Etude phytochimique et activités biologiques des deux espèces : *Ocimum basilicum* L et *Lavandula angustifolia* Miller
- **KORBAN, S. S. and Skirvin, R. M**. (1984). : Nomenclature of the cultivated apple. Hort. Science 19: 177- 180.
- **Kulisic T., Radonic A., Milos M**, 2005, Antioxidant properties of thyme (Thymus vulgaris L.) and wild thyme (Thymus serpyllum L.) essential oils. Italian J. Food Sci, 17(3), 1-10p

- L -

- **LAFAOUN, J.P., THARAUD-PAYER, C .et LEVY, G**. (1996). :Biologie des plants cultivées- 2eme édition.TomeI-organisation /physiologie de la nutrition. Ed. Lavoisier, Paris,227p
- Le monde merveilleux des Fleurs et plantes médicinales - *Matthias Hermann* - Solar.
- **Les bactéries phytopathogènes** - *Pr. Fatmi M'barek* - IAV Hassan II.

- M -

- **MADR 2016** : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.
- **Majinda R.R.T., Abegaz B.M., Bezabih M. et autres (2001)** Resent resultants from naturel product rescarch at the university of Botswana, Pure. Appl. Chem. 73 (7) : 1197-1208.
- **Mau J-L. Huang P-n. Huang S-J. and C-C. (2004)** Antioxydant properties of methanolic extracts from two kinds of Antrodia camphorata mycelia. Food Chemistry. 86 : 25-31.

- **Moller WJ, Beutel JA, Reil WO, Zoller BG**, Fire blight resistance to streptomycin in California. Phytopathology 62:779,1972
- **Molnoy ,M., faize ,M. ,Venisse ,J. S. ,Geider ,K., Chevreau ,E** .(2005). Exprission of Viral EPS –Depolymerase reduces fire blight susceptibility in transgenic pear ,plant Cell Rep, vol.23,p632-63 nécessaires a la conservation et l‟utilisation durable de biodiversité importante pour l‟agriculture. Projet ALG/97/g31
- **Momol, M. T., & Aldwinckle, H. S**. (2000). Genetic diversity and host range of Erwinia amylovora (pp.55-72). Wallingford, UK: CABI Publishing.

- N -

- **Namsa N.D., Tag H., Mandal M., Kalita P., Das A.K**, 2009, an ethno botanical study of traditional anti-inflammatory plants used by the Lohit Community of Arunachal Pradesh,

- O -

- **Ogata, M. Hoshi, M., Urano S., Endo T., 2000.** Antioxidant activity of eugenol and related monomeric and dimeric compounds. Chem. Pharm. Bull., 48 (10): 1467-1469.
- **Özcan M., J.-C. Chalchat** (2004) Aroma profile of Thymus vulgaris L. Growing Wild in Turkey. Bulg. J. Plant Physiol. 30 (4) : 68-73.

- P -

- **Parekh J., et Chanda S. V**. (2007). *In vitro* antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plant. *Turkish journal of biology*, 31 : 53-58.
- **Philion V.** (2014). Fiches 104 - 106, Le feu bactérien. In : Guide de référence en production fruitière intégrée pour les producteurs de pommes du Québec. Edition CFP, Pageau C. F. ; IRDA, Poulin D., Québec, pp ; 403-422
- Phytothérapie la santé par les plantes - *Sélection du Reader's Digest* - VIDAL.
- Prasanth, R, Ravi, V.K, Varsha, P.V, Satyam S. 2014; Review on Thymus vulgaris traditional uses and pharmacological properties. Med Aromat Plants. 3 (4):1-3.
- **Psalidas .**(1990) .chemicale contrôle of fir blight .In :Vanneste ,J.L. (Ed .), fire blight :The Disease and Its Causative Agent , Erwinia amylovora .CAB International ,Wallingford ,UK,pp.199-234.

- R -

- **R. Kenneth Horst** ,Westcott’s Plant Disease Handbook, Eighth Edition, Department of Plant Pathology and Plant-Microbe Biology Cornell University, Ithaca, NY, USA.
- **RAT- MORRIS, E**. (1994). Analyse des relations entre Dysaphis plantaginea passerini (Insecta,Auchenorrhyncha) et sa plante hôte Malus X domestica Borkh: étude de la

résistance du cultivar Florina.Thèse de Doctorat en sciences de la vie. Université François Rabelais de Tours, France, 132 p.

- **REHDER, A.** (1956). : Manual of cultivated tress and shrubs ; Rehderedition -2nd, ed.New- York, the Macmillan Company, 996 p. Revue suisse Viticulture, Arboriculture : Horticulture | Vol. 45 (2): 128–131, 2013.
- Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture | V II ol. 40 (6): I–IV, 2008
- **REYNIER A**., 2000. Manuel de viticulture. 8ème édition., Paris., 514 p.
- **REYNIER A**., 2007. Manuel de viticulture. 10éme éd. Lavoisier Tec & Doc. Paris.600p
- **Rota M. C., Herrera A., Martinez R. M., Sotomayor J. A., et Jordán M. J**. (2008). Antimicro-bial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food control*, 19 : 681-687.
- **Rotsart. H et coll, (1984)**. *Notions de pharmacologie pour les régions tropicales*, Kangu/mayumbe (Zaïre). BERPS. p 277.

- S-

- **SIMON J-L., EGGENBERGER W., KOBLET W., MISCHLER M. et SCHWARZENBA CH. J**., 1992. Viticulture. 3ème Ed. Payot Lausanne la Maison Rustique. Paris. 223p.
- **Sine J. P**. (2003). Séparation et analyse des biomolécules : méthodes physicochimiques cours et exercices. Ellipses éditions marketing S A. p 99-101.
- **Singleton V.L. and Rossi J.A**. 1965- Colorimetry of total phenolics with pho sphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture; 16: pp. 144-153.
- **Stahl-Biskup E., Sàez F**, 2002, Thyme: The genus Thymus. CRC Press, 346p
- **Suty, Lydie**. « Chapitre 2. La lutte biologique : définitions et concepts généraux », , *La lutte biologique. Vers de nouveaux équilibres écologiques*, sous la direction de Suty Lydie. Éducagri éditions, 2010, pp. 43-63
- **Svircev A.M., Kim WS., Lehman S.M., Castle A.J**. (2009) *Erwinia amylovora*: Modern Methods for Detection and Differentiation. In: Burns R. (eds) Plant Pathology. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols), vol 508. Humana Press, Totowa, NJ. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-062-1_10

- T -

- **Thomson SV** (2000) Epidemiology of fire blight. In: Vanneste JL (ed) Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CAB International, Wallingford, pp9-36.

- **Toffolatti SL, Maddalena G, Salomoni D, Maghradze D, Bianco PA, Failla O.** Evidence of resistance to the downy mildew agent *Plasmopara viticola* in the Georgian *Vitis vinifera* germplasm. Vitis. 2002-2016; 55:121-128.

- U -

- **Ungureanu, C.; Soare, L.C.; Vizitiu, D.; Calinescu, M.; Fierascu, I.; Fierascu, R.C**. Isolation of *Plasmopara viticola* from Grapevine Leaves. *Proceedings* 2019, *29*, 34.

- V -

- **Van der Zwet T, Beer SV** (1995) Fire blight: its nature, prevention and control: a practical guide to integrated disease management, 2nd edn. United States Departement of Agriculture Bulletin 631, Washington.
- **Van der Zwet T, Keil HL** (1979) Fire blight, a bacterial disease of rosaceous plants. USDA Agriculture Handbook 510, Sciences and Administration USDA, Washington
- **Van der Zwet, T., Orolaza-Halbrendt, N., Zeller, W.** (2012). Fire Blight, History, Biology, and Management. Journal of Phytopathology, 160, 460 p., pp. 83-91.
- **Vanneste JL** (2000) What is fire blight? Who is *Erwinia amylovora*? How to control it? Epidemiology of fire blight. In: Vanneste JL (ed) Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CAB International, Wallingford, pp 1-6.

- Z -

- **Zah-Bi IC**. 2014. Génomique comparative entre Muscadinia rotundifolia et Vitis vinifera pour faciliter l'identification de gènes de résistance. Ph-D, Evry-Val d'Essone, 272

Les sites consulter :

- http://ephytia.inra.fr/fr/C/6094/Vigne-Mildiou-Plasmopara-viticola

les livres consulter :

- La vérité sur ces plantes qui soignent - *Franck Gigon* - L'EXPRESS
- Lutter bio contre les parasites du jardin - *Isabelle Calmets* - Artémis éditions.

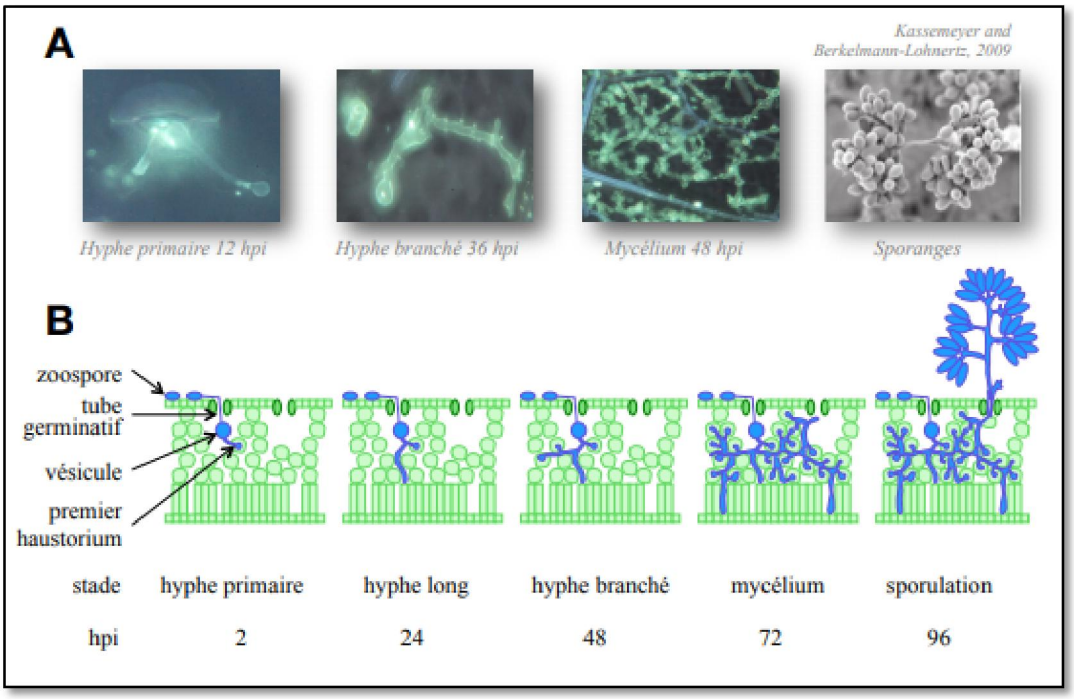
- Lycée Valentine Labbé (59) • Classe préparatoire TB • SVT • Partie 4 • TP 4.2. Les ‘mycètes’ dans les écosystèmes

ANNEXE

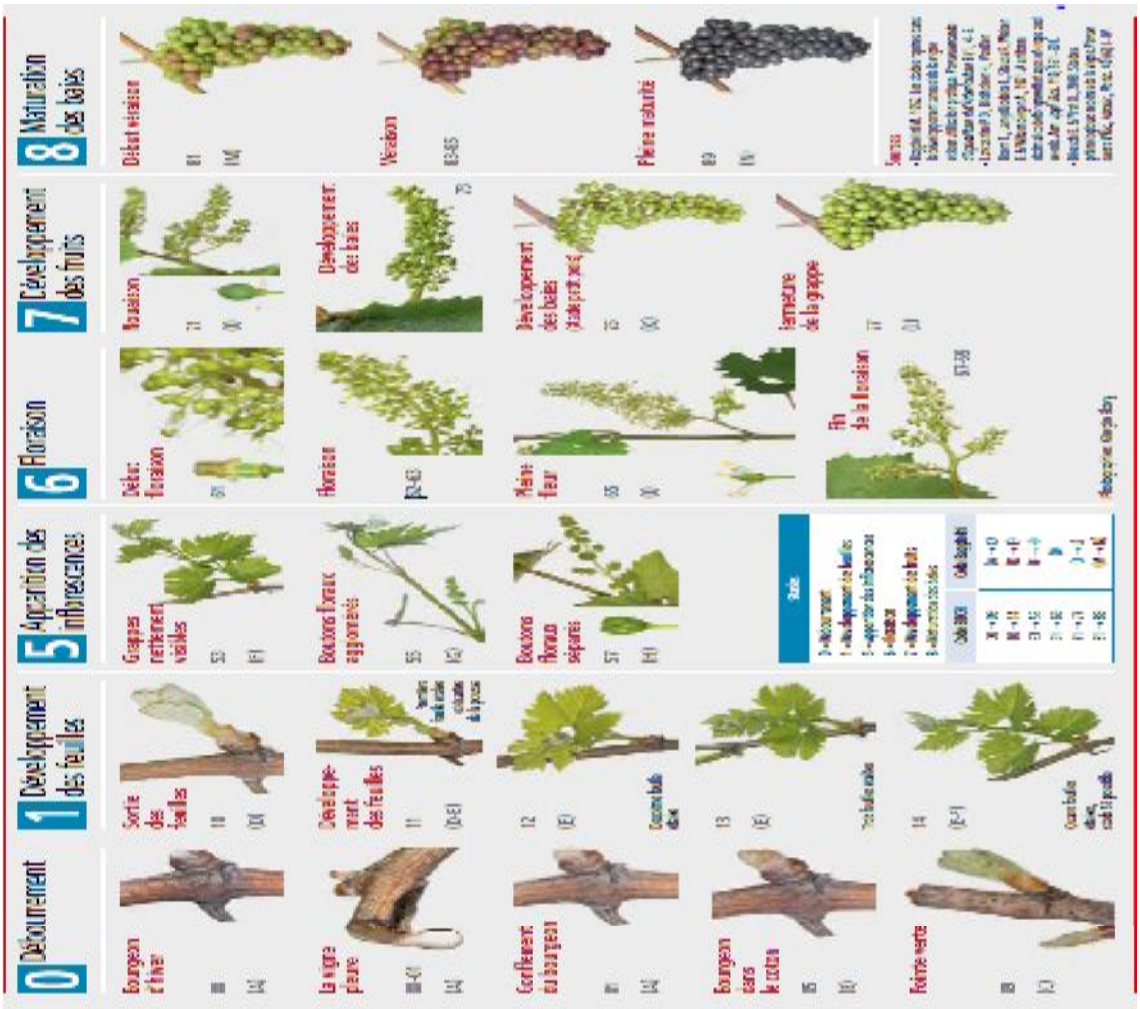
Annexe 1

A) observation microscopique du développement du mildiou après une coloration par un bleu d'aniline

B) schéma représentant la propagation du mildiou dans les feuilles infectées durant le cycle de reproduction asexuée



Annexe 2 :

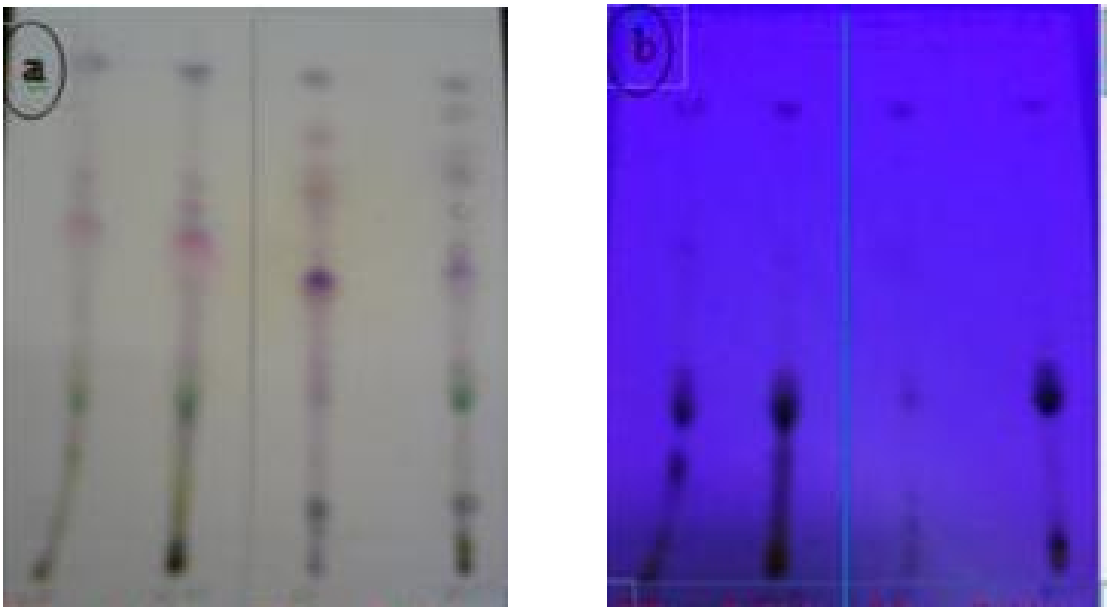


Annexe 3 :

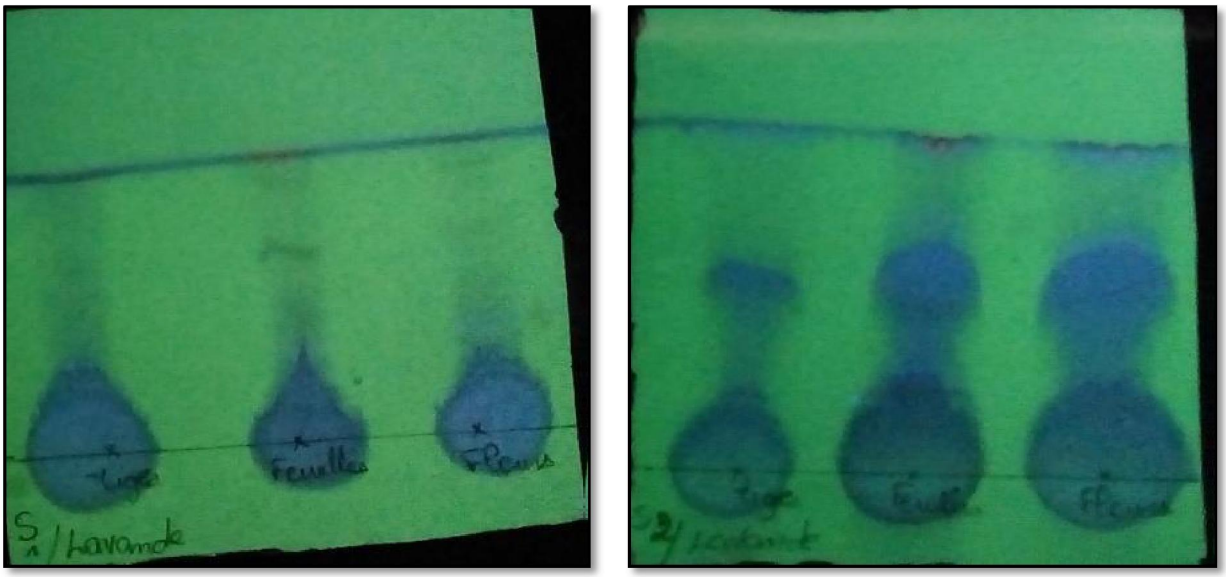
Milieu PDA (pomme de terre glucosée et gélosée) selon (DAVET et ROUXET ,1997) :

- Faire cuire 200 g de pomme de terre pelées, lavées et coupées en tranches fines dans 1 L d'eau pendant 1 h.
- Filtrer puis presser pour exprimer le liquide restant.
- Ajouter 20 g de glucose et 15 à 20 g de gélose.
- Compléter à 1 l si nécessaire. Stériliser à l'autoclave 15 minutes à 120°C.

Annexe 4



Photos des chromatogrammes résultant de l'analyse des extraits de *Thymus vulgaris* par CCM (dans le système solvant : Ether de pétrole - Acétate d'éthyle80 : 20).



Résultats des plaques de CCM prise après la révélation à lumière UV (366 nm) pour des extraits de *Lavandula angustifolia* Mill.