

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département Biochimie-Microbiologie



MÉMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème :

Bio contrôle de la vigne (*Vitis vinifera*)

Présenté par :

AMLIK Ahlam
BOUNAR Hanane
BABACI Hayat

Soutenu le 08/09/2025

Devant le jury composé de :

Présidente	M^{me} OUALI ABDOUNE Samia	Maître Assistante à l'UMMTO
Promotrice	M^{me} BENAHMED DJILALI Adiba	Professeur à l'UMMTO
Examinatrice	M^{me} TALEB Karima	Maître de Conférences (A) à l'UMMTO

Année universitaire : 2024 – 2025

Remerciements

Au terme de ce présent travail, nous tenons à remercier :

Notre promotrice, Madame BENAHMED DJILALI Adiba, pour son encadrement rigoureux, sa disponibilité, ses conseils éclairés et son accompagnement tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions également l'agriculteur, Monsieur BENTCHAKAL Omar, pour son aide précieuse et sa collaboration, ainsi que pour nous avoir accompagnés sur son

Terrain lors de l'échantillonnage nécessaire à nos travaux.

Nos remerciements s'adressent aussi à Madame TALEEB Karima, examinatrice, ainsi qu'à Madame OUALI ABDOUNE Samia, présidente du jury, pour le temps accordé à

L'évaluation de notre mémoire et pour leurs remarques pertinentes.

Nous exprimons également notre gratitude envers les ingénieurs et le personnel des

Laboratoires de Microbiologie et de Physico-chimie de l'Université Mouloud

Mammeri de Tizi-Ouzou, pour leurs précieux conseils, leur assistance technique et leur soutien tout au long de nos analyses.

Enfin, nous adressons nos sincères remerciements à nos parents, pour leur soutien moral et financier, leur patience et leur confiance, qui ont été d'un grand réconfort durant tout notre parcours universitaire.

Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de ce travail.

Dédicaces

Nous dédions ce modeste travail à nos parents, pour leur amour inconditionnel, leur patience, leurs prières et leurs sacrifices inestimables. Ils ont été notre force silencieuse, notre source de courage et notre principal soutien tout au long de ce parcours.

À nos familles, pour leur bienveillance, leurs encouragements constants et leur confiance en nous.

À nos amis, pour leur soutien moral, leur écoute et leur présence réconfortante dans les moments de doute.

Cette dédicace est l'expression de notre profonde reconnaissance envers toutes celles et ceux qui nous ont accompagnées, soutenues et inspirées tout au long de cette belle aventure universitaire.

Ahlam, Hanane et Hayat

La vigne (*Vitis vinifera*), est une culture très influencée par des facteurs (biotiques et abiotiques), afin d'évaluer l'impact de certains facteurs sur cette culture de la vigne de deux échantillons à savoir une culture jeune de (un an) issus d'un terrain plat et une culture de (dix ans) traitée avec des pesticides, des caractérisations physicochimiques ; biochimiques et microbiologiques ont été réalisées.

Les résultats montrent que la vigne de dix ans présente des teneurs plus élevées en métabolites secondaires, corrélées à l'usage intensif de pesticides et à une réponse au stress environnemental. À l'inverse, les jeunes vignes de la culture d'un An enregistre des niveaux plus élevés de chlorophylle et caroténoïdes, qui témoignent une activité photosynthétique.

Sur le plan microbiologique, les feuilles de la culture jeune non traitées sont riches en *Bacillus spp.* Alors que celles de la culture de dix ans sont colonisées par *Candida spp.* Les résultats des antibiogrammes révèlent que les pesticides éliminent complètement les *Bacillus* utiles, tandis que l'extrait d'ail à 25 % inhibe les germes pathogènes tout en préservant les bactéries saprophytes. De plus, les extraits de feuilles de vigne ont montré une activité sélective contre les bactéries à Gram négatif *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, grâce à leur richesse en polyphénols. Ces résultats ouvrent des perspectives d'utilisation de l'ail et des extraits foliaires comme alternatives naturelles aux pesticides chimiques, contribuant à une viticulture durable et respectueuse de l'écosystème.

Liste des abréviations

Mg EQ/g MS : milligrammes d'équivalent par gramme de matière sèche

GN : Gélose nutritive

HP : Hauteur de palissage

IR : Infra-Rouge

M.O : micro-organisme

Mg/g MS : milligramme/gramme de matière sèche

MH : Mueller-Hinton

Mha : Million hectares

OIV : Organisation Internationale de la Vigne et du Vin

ONM : l'Office National de Météorologie

Qx/ha : Quintaux par hectare

Tableau I : Matériel, réactifs et solutions chimiques utilisés	29
Tableau II : Origine et état sanitaire des échantillons.....	29
Tableau III : Souches microbiennes utilisées	30
Tableau IV : Caractéristiques des milieux de culture utilisés, échantillons analysés et conditions d'incubation.....	31
Tableau V : Différents extraits aqueux testés contre les souches <i>Bacillus</i> sp isolées de feuilles de vigne et les souches pathogènes de référence.....	32
Tableau VI : Analyses physico-chimiques des sols entre le milieu des deux terrains (plat et montagneux).....	35
Tableau VII : Analyses physico-chimiques des sols entre les zones périphériques vs zones cultivés.....	36
Tableau VIII : Résultat d'analyse de la variance des feuilles des paramètres physico-chimiques des feuilles de vigne des terrains cultivés (plat et montagneux).....	37
Tableau IX : Analyse de pH des trois pesticides utilisés dans la parcelle d'étude.....	39
Tableau X : Résultats d'analyse IR des feuilles de vigne des deux terrain (terrain plat et montagneux).....	39
Tableau XI : Analyse par Spectroscopie Infrarouge du pesticide "Aktuan"	40
Tableau XII : Résultats d'analyse IR du pesticide "Bellis"	40
Tableau XIII : Résultats d'analyse IR du pesticide "Thiovit jet"	41
Tableau XIV : Différence de diversité microbienne de sol et des feuilles de vigne collectées des terrains (plat et montagneux).....	41
Tableau XIV : Caractéristiques macroscopiques du tapis observé sur la géloseensemencée par l'extrait de feuilles de vigne collectées du terrain montagneux.....	42
Tableau XV : Caractéristiques macroscopiques des colonies isolées à partir des feuilles de vigne collectées du terrain plat.....	42
Tableau XVI : Caractéristiques morphologiques des colonies isolées du sol de terrain plat..	43
Tableau XVII : Caractéristiques morphologiques des colonies isolées du sol de terrain montagneux.....	43
Tableau XVIII : Tests biochimiques de base pour l'identification des bactéries isolées de sol et des feuilles de vigne.....	46
Tableau XIX : Diamètres d'inhibition de pesticides sur <i>Bacillus spp</i> isolée à partir des feuilles de terrain plat.....	47
Tableau XX : Effets de différents extraits sur <i>Bacillus spp</i> isolée à partir des feuilles du terrain plat.....	48

Liste des tableaux

Tableau XXI : Effet de l'extrait d'ail sur <i>Bacillus sp</i> isolée de feuilles de vigne terrain plat et sur la levures candida sp isolés par les feuilles de terrain montagneux.	50
Tableau XXII : Effets d'extait de feuilles de vigne sur les germes pathogènes de références.	52
Tableau XXIII : Effet d'extait d'ail sur les germes pathogènes de référence.	53

Figure 1 : Production de raisin de table par wilaya d’Algérie en 2019.....	5
Figure 2 : Organisation botanique des Vitacées.....	5
Figure 3 : Illustration descriptive de la plante de vigne.....	6
Figure 4 :Symptômes de la vigne.....	10
Figure 5 : Situation géographique de Tadmaït.....	12
Figure 6 : Localisation géographique de la zone d’étude.....	13
Figure 7 : Présentation du vignoble expérimental de Tilmattine.....	13
Figure 8 : Températures moyennes, minimales et maximales de la région de Tadmaït sur une période allant de 2017 à 2025.....	14
Figure 9 : Précipitations mensuelles enregistrées dans la région de Tademaït sur une période allant de 2017 à 2025.....	15
Figure 10 : Nombre d’heures d’ensoleillement enregistrées dans la région de Tadmaït (2017-2025).....	16
Figure 11 : Vitesses moyennes du vent par heure de la région de Tadmaït (2017-2025).....	16
Figure 12 : Humidité relative (en %) enregistrée dans la région de Tadmaït (2017-2025).....	17
Figure 13 : Schéma représentant les points de prélèvement du sol.....	18
Figure 14 : Prélèvement des feuilles.....	18
Figure 15 : Aspect des feuilles de vigne séchées à l’abri de la lumière.....	19
Figure 16 : Présentation des pesticides utilisés dans la parcelle viticole (a) :Aktuan b) :Bellis , et c) :Thiovit jet.....	20
Figure 17 : Mesure du pH des solutions aqueuses.....	23
Figure 18 : Cultures microbiennes sur gélose nutritive (Dilution 10^{-3}) des feuilles de vigne (a : terrain plat ; b : terrain montagneux).....	42
Figure 19 : Cultures microbiennes sur gélose nutritive (dilution 10^{-3} de sol (a : terrain plat ; b : terrain montagneux).....	43
Figure 20 : Aspect macroscopique des colonies purifiées à partir des échantillons analysés (jeunes feuilles collectées de terrain plat) : a : colonie blanche, b : colonie jaune, c : colonie orange-rosé ; feuilles âgées collectées de terrain montagneux : d : tapis microbien ; sol de terrain plat : e et f : colonie blanche, g : colonie jaune pâle transparente.....	44
Figure 21 : Aspect microscopique des colonies isolées des jeunes feuilles de terrain plat a : colonie blanche en chaîne courtes b : colonie jaune-cocci en tétrade c : colonie Orange-cocci en amas.....	44
Figure 22 : Aspect microscopique de colonies isolées de sol de terrain plat a et b : colonie blanche a crème ; c : colonie jaune pâle transparente.....	45

Figure 23 : Aspect microscopique des colonies de levures sur gélose Sabouraud.	45
Figure 24 : AntibioGramme des pesticides sur <i>Bacillus</i> spp., isolée à partir de feuilles de terrain plat.	48
Figure 25 : AntibioGramme de différents extraits végétaux contre <i>Bacillus</i> sp des feuilles.	49
Figure 26 : AntibioGramme de l'extrait d'ail à différentes concentrations contre <i>Bacillus</i> spp des feuilles de terrain plat.....	49
Figure 27 : AntibioGramme d'extrait d'ail à différentes concentrations contre <i>Candida</i> spp isolée des feuilles de vigne.....	50
Figure 28 : AntibioGramme de l'extrait de feuilles de vigne sur les souches de références. ...	51
Figure 29 : AntibioGramme d'ail à différentes concentrations sur les germes pathogènes de références.	52

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Sommaire	
Introduction	1
Chapitre I : Généralités sur la vigne.....	4
1-Généralités.....	4
2 Répartition géographique.....	4
3. Modes de culture.....	4
3.1. Dans le monde.....	4
3.2. Culture de la vigne en Algérie.....	4
4. Présentation génétique et systématique.....	5
5. Morphologie	5
6. Cycle végétatif et reproducteur	6
7. Cépages et porte-greffe	7
8. Facteurs qui influencent la culture de vigne.....	7
8.1 Facteurs abiotiques.....	7
9. Facteurs biotiques.....	10
9.1 Principales maladies	10
10. Méthodes de lutte	11
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	12
1. Cadre de l'étude	12
2. Matériel	12
3. Présentation de la zone d'étude.....	12
3.1. Situation géographique.....	12
3.2. Localisation	12
3.3. Représentation du site d'échantillonnage.....	13
3.4. Profil climatique.....	14
3.5 Méthodes de prélèvement des échantillons.....	17
3.5 Conservation des échantillons.....	19
3.6 Pesticides utilisés dans la parcelle.....	19
4. Méthodes d'analyses physico-chimiques	20

4.1 Analyses physico-chimiques de sol.....	20
4.2 Analyses physico-chimiques des poudres de feuilles de vigne et des pesticides.....	23
5. Analyse des groupements fonctionnels par la Spectroscopie Infra-Rouge (IR)	28
6. Analyses microbiologiques	28
6.1 Origine et état sanitaire des échantillons	29
6.2 Milieux d'isolement utilisés	29
6.3. Souches microbiennes utilisées	30
6.4. Isolement des souches à partir des feuilles de vigne et lu sol	30
6.5 Préparation des dilutions	30
6.6 Conditions d'ensemencement et d'Incubation	31
6.7 Purification et caractérisation morphologique des colonies.....	31
6.9 Activité antimicrobienne	31
Chapitre III : Résultats et discussion.....	35
1. Analyses physico-chimiques	35
1.1. Sols des deux terrains (plat et montagneux).....	35
1.2. Sols situés entre les zones périphériques et le centre des terrains cultivés (plat et montagneux).....	36
1.3 Feuilles de vigne (Jeunes et âgées)	37
1.4 Pesticides.....	38
1.5 Analyse des groupements fonctionnels	39
2. Analyses microbiologiques	41
2.1. Recherche de la flore microbienne totale des feuilles de vigne	41
2.2. Caractérisation des isolats après coloration de Gram.....	44
2.3 Caractérisation des isolats après coloration au bleu de méthylène	45
3. Tests d'identification biochimique.....	45
4. Antibiogrammes	47
4.1. Antibiogramme des pesticides sur la souche <i>Bacillus</i> isolée à partir des feuilles de terrain plat.....	47
4.2 Antibiogramme de différents extraits végétaux sur la souche <i>Bacillus</i> isolée à partir des feuilles de terrain plat.....	48
III.3.2. Effet de l'extrait d'ail sur les <i>Bacillus spp</i> isolées à partir des feuilles de terrain plat.	49
III.3.3. Effet des extraits végétaux (ail et feuilles de vigne) sur les germes pathogènes de référence	51
Conclusion	53
Références bibliographiques	55
Annexes.....	64

Introduction

L'agriculture est un pilier essentiel du développement économique et social, en particulier la région méditerranéenne où les conditions climatiques influencent la culture.

Vitis vinifera L. l'espèce la plus cultivée au monde, est une liane et relève de la viticulture et une discipline spécifique de la culture de vigne, c'est l'origine de la quasi-totalité des raisins utilisés pour la vinification et elle est cultivée à cette fin depuis millénaires (Kaila, 2024). Le raisin est principalement consommé sous différentes formes sous forme d'un fruit frais, en jus, en confitures, en raisin sec, ainsi que sous forme fermentée (Alston et Sambucci, 2019 ; Songy et al., 2019 ; Somogy et al., 2021).

Selon Bouby et al., (2010), *Vitis vinifera* occupe une place prépondérante dans le paysage agro écologique des régions à climat tempéré et qui se classe au 14^{ème} rang des cultures les plus répandues au niveau mondial (Carrier, 2011). Cependant figurant parmi les cultures les plus anciennes de l'Afrique du Nord, en particulier l'Algérie.

Au niveau national, la wilaya de Boumerdès se distingue en concentrant près de la moitié de la production (50,94%) suivie de la wilaya de Tipaza. De son côté, La wilaya de Tizi-Ouzou contribue à hauteur de 2,67% de la production nationale du raisin de table avec un rendement de 200,3 quintaux par hectare (Qx/ha) pour l'année 2019 (Sahali, 2023).

Aujourd'hui la viticulture dans la Kabylie joue un rôle important dans l'économie locale. L'espèce qui appartient à la famille de *Vitacées* : *Vitis vinifera* cultivée dans la région de Tadmait est fortement influencée par des facteurs biotiques (agents pathogènes) et abiotiques (climat, type de sol...) (Macary et Coord, 2023). Ces contraintes peuvent engendrer l'apparition des maladies, altérer la qualité des feuilles (Prashant et al., 2018), face à ces menaces les viticulteurs ont souvent recours à l'usage intensif de pesticides chimiques sans questionnement sur leurs impacts, qui bien qu'efficaces à court terme, présentent des risques pour la santé humaine, l'environnement et surtout pour la microflore bénéfique associée à la vigne (Macary et Coord, 2023).

Cette étude a pour objectif d'identifier et de caractériser la flore totale et les bactéries lactiques isolées associées aux jeunes cultures et âgées de la vigne, ainsi que l'évaluation de l'impact des pesticides sur la microflore utile. L'effet des biopesticides utilisés dans la culture de vigne a été évalué contre des souches microbiennes pathogènes.

Le travail réalisé comporte deux parties, une partie bibliographique et l'autre expérimentale, avec une introduction, une conclusion et perspectives.

*Généralités sur
la vigne*

1. Généralités

La vigne, l'une des plantes fruitières les plus cultivées et utilisée pour produire du vin, du vinaigre, des fruits secs et des jus (Meng et *al.*, 2017). Pour bien se développer, elle nécessite un sol meuble, aéré et bien drainé, et riche en azote, potassium, magnésium et en zinc. Ce dernier étant essentiel à un feuillage sain et donc à la croissance et à la production de fruits (Douglas, 2019). Elle pousse idéalement dans un sol au pH compris entre 5,0 et 6,0, souvent sur des pentes favorisant un bon drainage de l'eau (Douglas, 2019).

2 Répartition géographique

Les angiospermes, apparues il y a environ cent millions d'années après les gymnospermes, incluent la famille des Vitacées à laquelle appartient la vigne. La découverte de graines fossilisées datant de l'Éocène au Pliocène atteste de la présence de cette famille depuis le début de tertiaire (WINKLER, 1965 ; HUGLIN, 1986 et VILLA, 2005). La répartition actuelle de la vigne a été influencée par des événements géologiques majeurs, tels que la séparation des continents, qui ont conduit à l'isolement des populations et à la spéciation (Peros et *al.*, 2010).

3. Modes de culture

3.1. Dans le monde

Un grand nombre d'espèces de *Vitis* ont évolué dans le monde, notamment en Asie de l'Est, au Proche-Orient et en Amérique du Nord, considérés comme centres d'origine majeurs (Galet, 2000). Grâce à la domestication, la vigne s'est largement répandue dans les régions à climat tempéré. Depuis 2016, *Vitis vinifera* est l'espèce la plus cultivée.

En 2020, la superficie mondiale du vignoble était estimée à 7,3 millions d'hectares, pour une production d'environ 74 millions de tonnes (Meng et *al.*, 2017 ; OIV, 2020) (Fig.1).

3.2. Culture de la vigne en Algérie

La viticulture en Algérie, a connu un essor sous la colonisation française, atteignant 360 000 ha (Levadoux et *al.*, 1971 ; Belaid, 2017). Après un déclin, elle couvrait 75 000 ha en 2017, plaçant l'Algérie au 22^e rang mondial (OIV, 2018). Les principales régions viticoles se situent au nord, notamment Oran, Tlemcen, Médéa, la Kabylie et Tipaza, avec une grande diversité de cépages (Fodil, 1989 ; Bendjilali, 1980). En 2018, la production a diminué de 3 %

pour la vigne en général et de 12 % pour la vigne de table (MADR, 2018). En 2019, Boumerdès assurait plus de 50 % de la production nationale de raisin de table (Fig.1).

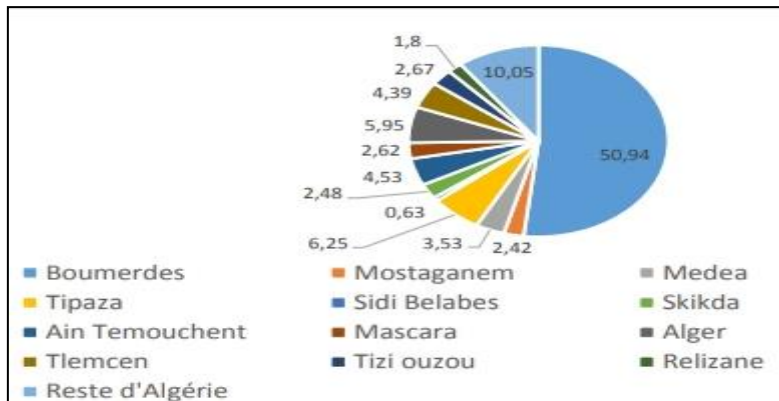


Figure 1 : Production de raisin de table par wilaya d'Algérie en 2019. (OIV, 2020)

4. Présentation génétique et systématique

La vigne appartient à la famille des *Vitacées* (Fig.2), qui regroupe 12 genres et plus de 700 espèces, principalement des plantes grimpantes comme *Vitis*, *Ampelocissus* ou *Parthenocissus*.

L'espèce la plus utilisée dans l'industrie viticole est *Vitis vinifera*, divisée en deux sous-espèces : *V. vinifera* subsp. *Sylvestris* (sauvage) et *V. vinifera* subsp. *Sativa* (cultivée) (Meng et al., 2017 ; Riaz et al., 2018).

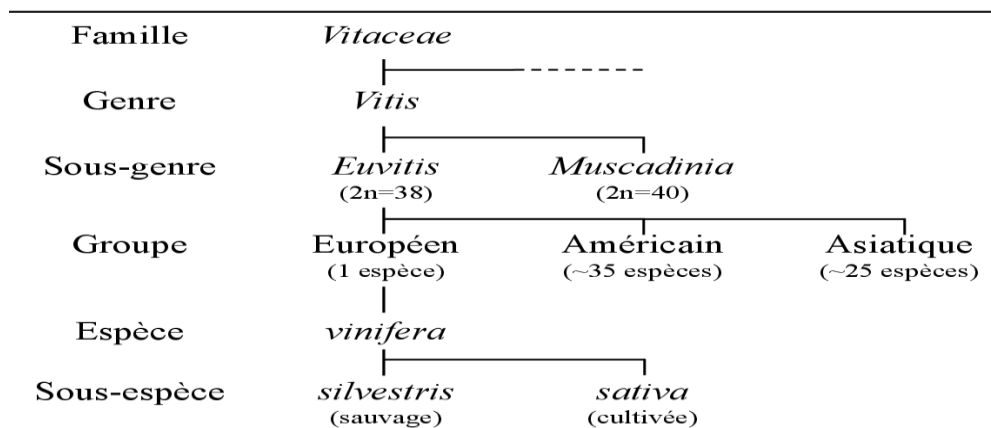


Figure 2 : Organisation botanique des Vitacées. (Reynier, 2007)

5. Morphologie de la vigne

La vigne est un arbuste grimpant et sarmenteux, doté d'une forte vigueur végétative, avec des rameaux pouvant atteindre jusqu'à 30 mètres dans des conditions favorables

(Bertaudeau, 1990). Comme toutes les plantes supérieures, elle se compose d'un système racinaire et d'un appareil aérien comprenant un tronc, des bras, et des bois de taille variable (longs ou courts) appelés sarments, qui portent des bourgeons à l'origine des rameaux feuillés ou fructifères (Reynier, 2007). Ses organes reproducteurs sont des fleurs regroupées en inflorescences, qui, après fécondation, produisent des baies contenant les grains (Ribereau-Gayon et Peynaud, 1980).

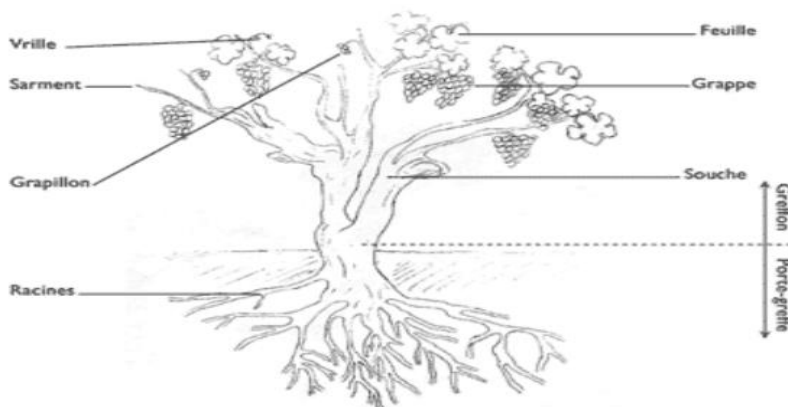


Figure 3 : Illustration descriptive de la plante de vigne. (Reynier, 2007)

6. Cycle végétatif et reproducteur

La vigne se caractérise par un cycle annuel de deux phases principales, végétative et reproductrice, qui peuvent partiellement se chevaucher.

La phase végétative commence à la fin de l'hiver avec les « pleurs de la vigne », signe de la reprise d'activité racinaire sous l'effet de la température du sol (Reynier, 2005), et cesse lorsque les vaisseaux se bouchent par développement bactérien (Louvieaux, 2004). Elle se poursuit par le débourrement, l'allongement des rameaux et le développement des feuilles jusqu'à l'aoûtement, marqué par la lignification des tissus (Huglin & Schneider, 1998 ; Kappel, 2010).

La phase reproductrice débute peu après le débourrement avec l'apparition des inflorescences formées l'année précédente (Louvieaux, 2004), suivie de la floraison en juin (Galet, 2000), de la nouaison (Guillaume, 2007), de la véraison entre mi-août et mi-septembre (Bertaudeau & Fauve, 1990) et s'achève par la maturation des baies avec l'accumulation de composés phénoliques et aromatiques (Kappel, 2010).

7. Cépages et porte-greffe

Selon Galet (1956), les noms de cépages peuvent venir de leurs caractéristiques, de leur origine, de noms de personnes ou d'un but commercial. Le cépage désigne la variété de vigne cultivée. Tous n'ont pas la même vocation viticole et se classent en variétés autochtones, classiques et nouvelles. Ces cépages sont différenciés selon leur période de maturité (précoces, de saison, tardifs), leur couleur (blancs, rosés, noirs selon Lehad, 2011) et leur usage final, cuve, table ou séchage (Reynier, 2007).

En Algérie, divers cépages de cuve (rouges et blancs) sont cultivés, de table et pour le séchage. Les vignes de raisin de table visent une production de qualité pour la consommation fraîche. On trouve aussi des porte-greffes appartenant en majorité à des espèces américaine (*Vitis vinifera*) ou croisées artificiellement entre les espèces suivantes : *Vitis riparia*, *Vitis rupestris*, *Vitisberlandieri* et *Vitis vinifera* (Carbonneau et Cargnello, 2003).

8. Facteurs qui influencent la culture de vigne

8.1 Facteurs abiotiques

8.1.1 Exigences climatiques

La culture de la vigne ne peut se pratiquer que dans les zones tempérées et intertropicales. Divers facteurs climatiques influencent cette activité à savoir :

- ✓ **La température** : Les années chaudes produisent des raisins sucrés, peu acides. Cependant, un excès de chaleur peut nuire à la qualité des produits en donnant des raisins insuffisamment acides (Cordeau., 1998). Généralement les dommages commencent à se manifester à partir de -15°C (cas des cépages de *Vitis vinifera*). Au cours de la croissance, la résistance à ces dommages est très limitée dès le débourrement avec un seuil de $-2,5^{\circ}\text{C}$ (Reynier, 2003).
- ✓ **Le vent** : Le vent est un élément régulateur et protecteur de certaines maladies de la vigne. Il permet de sécher et ventiler la vigne (Parker, 2021). Au printemps, un vent léger empêche la formation de gelées nocturnes mais, par contre, un vent violent endommagera les jeunes rameaux qui pourront se détacher de la souche, entraînant une perte de récolte. Au moment de la floraison, une brise légère favorise la dissémination du pollen, par contre, pendant l'été, des vents violents dessèchent l'air et le sol (Cordeau., 1998).

- ✓ **Les précipitations :** Les précipitations hivernales n'exercent aucune influence directe sur la vigne, mais l'eau accumulée dans le sol sera utilisée au printemps et en été. Les pluies de printemps ont une grande importance car elles conditionnent la vitesse de croissance. Les pluies estivales aident à lutter contre la sécheresse, mais en été trop pluvieux peut favoriser le développement du mildiou et provoquer des désastres. Les pluies d'automne survenant avant les vendanges peuvent provoquer un développement de la pourriture grise et un éclatement de la baie. (Cordeau., 1998)
- ✓ **La lumière :** Les rayonnements solaires représentent un élément important de la photosynthèse qui permet à la vigne d'accumuler des réserves (sucres) dans ses fruits (Parker, 2021). La vigne est une plante héliophile et puisqu'il s'agit d'une plante de jour long dont les besoins basiques vont de 1200 à 1800 heures (Pépinières, 2019). Les pentes et la couleur de sol jouent un rôle très important pour l'ensoleillement des grappes et les heures de chaleur. Les pentes orientées vers le sud et l'est ont un ensoleillement identique à celui des pentes plus accentuées (Pépinières, 2019).
- ✓ **L'altitude :** D'après Galet (1993), la température moyenne de l'air se diminue avec l'étalement en altitude, d'environ 0,6°C par 100 mètres d'élévation, ce qui entraîne un retard de 2 à 3 jours de la végétation. Ait Braham et Kekliche, (2007) soulignent qu'en montagne la période de croissance est réduite et les raisins sont plus acides.

8.1.2 Exigences édaphique et nutritionnelle

✓ **Qualité de sol :** La vigne présente une grande capacité d'adaptation à différents types de sols (Huglin, 1998), mais la richesse minérale, en particulier en azote, reste déterminante pour sa nutrition et sa vigueur. Cette qualité du sol est d'autant plus cruciale pour les cépages autochtones, où elle constitue un facteur central de l'effet terroir, influençant directement la valeur et les caractéristiques du raisin (Bottois & Cadot, 2006).

Un sol idéal doit être riche en minéraux et en matière organique, ce qui améliore la fertilité et la rétention d'eau, tout en étant exempt de polluants tels que les métaux lourds ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques. La vigne s'épanouit particulièrement bien dans des sols profonds, chauds et nutritifs (Huglin & Schneider, 1998). Un pH avoisinant 6,5 est considéré optimal, car il favorise l'assimilation des éléments nutritifs par la plante. Si nécessaire, l'usage de produits chaulant permet de maintenir ce niveau (Provost et *al.*, 2024).

8.1.3 Exigences culturales

Les systèmes de conduite du vignoble, déterminant les pratiques du vignoble qui influencent la qualité, le rendement, la protection phytosanitaire et l'adaptation au changement climatique. Parmi les pratiques les plus courantes on trouve :

- **La plantation et sa densité :** la plantation de la vigne s'effectue faite à la fin de l'automne ou au début du printemps, toute en évitant les périodes de gel (Reynier, 2007). On distingue trois modes de plantation : Plantation manuelle, Plantation mécanique et sous film plastique.
- **La hauteur des troncs :** varie de 40 cm à 1,5 m selon le système de conduite. Une plus grande hauteur diminue le risque de gelées printanières et de mildiou mais augmente la sensibilité à la sécheresse estivale, car les raisins sont plus éloignés des racines (Reynier, 2016)
- **Le système de taille** Est essentiel pour réguler la production de fruits et limiter la croissance excessive de bois. Elle définit la forme du cep et la répartition des grappes. Une vine bien taillée avec des grappes bien exposée réduit les risque de maladies et facilite la pulvérisation des produits phytosanitaires
- **L'irrigation :** Les méthodes utilisées en agriculture c'est goutte-à-goutte à chaque pied, aspersion de l'eau sous forme de pluie artificielle, et l'inondation de sol (méthodes traditionnelles)
- **Les pesticides :** Il s'agit de produits destinés à prévenir, repousser, détruire ou contrôler les ravageurs animaux, les maladies causées par des micro-organismes, ainsi que les plantes adventices (Boland et *al.*, 2004). Les pesticides sont généralement classés selon deux critères : la cible visée (ravageurs, maladies, adventices, etc.) et la composition chimique de leur substance active principale (Ming Ye, 2013). En fonction de la cible, on peut les répartir comme suit :
 - **Insecticides :** Les insecticides sont des substances actives conçues pour éliminer les insectes, leurs larves et/ou leurs œufs (Batsch, 2011).
 - **Fongicides :** Les fongicides ont pour rôle de lutter contre les champignons pathogènes et les moisissures. Les plus anciens et les plus utilisés sont le soufre, ses dérivés, ainsi que le cuivre, les triazoles et les composés à base de benzène (Foubert, 2012).
 - **Herbicides :** Les herbicides ciblent les plantes adventices, qui concurrencent les cultures en absorbant lumière, eau et nutriments (Foubert, 2012).

9. Facteurs biotiques

Les facteurs biotiques influençant la culture de la vigne incluent les pathogènes qui causent des maladies parmi eux : la moisissure grise (*Botrytis cinerea*), blanc (*Erysiphe necator*) et le mildiou (*Plasmopara viticola*) (Provost et al., 2024). Ce dernier est considéré comme la maladie la plus destructrice de la vigne en particulier dans les zones viticoles humides comme tizi Ouzou.

9.1 Principales maladies

Parmi les principales maladies de la vigne c'est le mildiou causé par l'oomycète *Plasmopara viticola*, un parasite strict qui n'infecte que les tissus vivants (Lefebvre et Rolland, 2006). Il touche toutes les parties herbacées de la plante. La maturation des oospores au printemps dépend des conditions de l'automne : plus celui-ci est pluvieux, plus il y aura d'oospores matures. Au printemps, lorsque la température atteint au moins 11 °C et qu'il y a de l'eau libre (pluie), les oospores produisent des sporanges, qui libèrent des zoospores responsables de l'infection. Ces spores sont transportées par les éclaboussures d'eau vers les jeunes tissus, plus sensibles à l'infection. Les feuilles deviennent moins vulnérables une fois complètement développées. Quant aux baies, elles sont sensibles entre la floraison et environ quatre semaines après. Étant donné la production continue de nouveau feuillage, une protection régulière de la vigne est nécessaire durant toute la saison.

Le mildiou provoque sur les feuilles des taches jaunâtres huileuses sur le dessus (Fig.4), associées à un feutrage blanchâtre sur la face inférieure. Ces taches brunissent et se dessèchent ensuite. Sur les rameaux, il cause des taches jaune livide qui évoluent vers le brunissement, et l'attaque du pédoncule des grappes entraîne une courbure en crosse. La maladie affecte particulièrement les baies (Reynier, 2007 ; Kasel et Oumezzaouch, 2017).



Figure 4 : Symptômes de la vigne. **a.** la Décoloration huileuse, **b.** la Fructifications blanchâtres. (Reynier, 2007)

10. Méthodes de lutte

La viticulture est confrontée comme toutes les activités productrices d'aujourd'hui aux contraintes du réchauffement climatique, aux défis environnementaux, et aussi – c'est en partie sa spécificité –, aux questions de santé publique avec le vin. Ce patrimoine est fragile et a toujours nécessité l'attention des hommes et leur travail pour la cultiver et la protéger contre les maladies (Macary et coord., 2023). Cela passant par un épannage soigné, suivi de rognages raisonnés et un drainage des bas de parcelles, l'aération, fertilisation et désherbage modérés, la taille. Le viticulteur se doit également surveiller préventivement les conditions météo (Lardier, 2003).

- **Lutte culturale** : L'entretien du couvert végétal, par des techniques comme le positionnement des rameaux, l'éclaircissage des sarments, l'implantation de haies et l'enlèvement des feuilles à modifier le microclimat où baignent les grappes et réduit la pression. Ces techniques ont également facilité une meilleure couverture et une meilleure pénétration par les fongicides à travers le couvert (Walker, 2006).
- **Lutte chimique** : À l'heure actuelle, environ 300 substances chimiques actives sont utilisées en agriculture, parmi lesquelles environ 100 substances sont autorisées en viticulture (Macary et Coord., 2023). L'utilisation intensive et excessif d'insecticides et de fongicides engendre l'apparition de souches résistantes. Plus grave encore ces épandages réguliers de produits phytosanitaires à large spectre ont eu pour conséquence de détruire également les prédateurs de la vigne comme *Bacillus sp* et *Pseudomonas sp* c'est la rupture de l'équilibre naturel, les pesticides peuvent transporter par les eaux de ruissellement vers les milieux aquatiques, tandis que le vent peut les transporter vers d'autres parcelles, vers des pâturages, des établissements humains, peuvent être contribué à la pollution de l'air (Aubertot et al., 2005 ; Leenhardt et al., 2022). D'autres problèmes sont liés à de mauvaises pratiques en matière de production, de transport et de stockage.
- **La lutte biologique** : D'après Abbou (2012), la lutte biologique peut être considérée, dans son sens le plus strict, comme « l'utilisation d'organismes vivants ou de leurs produits pour empêcher ou réduire les pertes ou dommages causés par des organismes nuisibles », il s'agit d'une production fondée sur la gestion de l'activité microbienne du sol, le recyclage des déchets organiques, le respect de l'environnement et des équilibres naturels et le recherche d'une production dépourvue de résidus de pesticide (Lardier., 2003). La lutte biologique peut s'opérer à l'aide, soit des insectes ou des acariens utiles (des auxiliaires), soit grâce à des préparations à base de bactéries, champignons et virus.

Matériel et méthodes

1. Cadre de l'étude

Cette étude a été conduite entre Avril et juillet 2025. Les analyses physico-chimiques de nos échantillons (Le sol et les feuilles de la vigne, les pesticides utilisées) ont été réalisées au sein du laboratoire physico-chimique du département de Biochimie-Microbiologie de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO). Par ailleurs, les analyses microbiologiques ont eu lieu dans le laboratoire de microbiologie du même département.

2. Matériel

Le matériel, appareils, réactifs et solutions chimiques utilisés sont résumés dans l'annexe 01.

3. Présentation de la zone d'étude

3.1. Situation géographique

La région d'étude est située dans la commune de Tadmait qui se trouve dans la wilaya de Tizi-Ouzou au cœur de la région de Grande-Kabylie en Algérie. Cette commune est située à 18 km à l'ouest de Tizi-Ouzou et à 85 km à l'est d'Alger. Tadmait est entourée au nord-ouest par la wilaya de Boumerdès, au nord-est par la commune de Sidi-Namane, et par la commune de Draa Ben Khedda et au sud par la commune Yahia-Moussa (Fig.5).

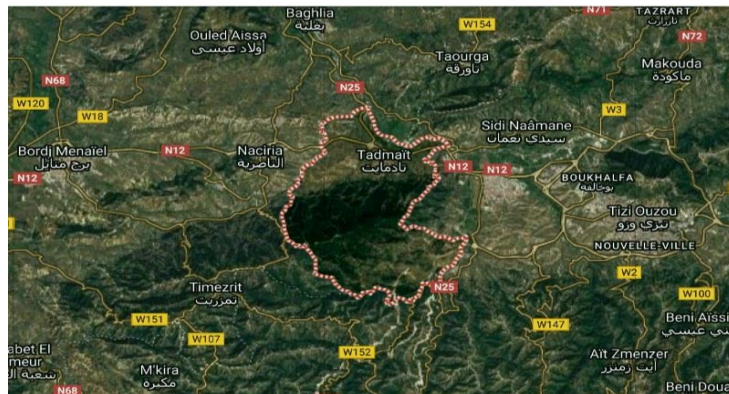


Figure 5 : Situation géographique de Tadmait . (DSA, 2025)

3.2. Localisation

L'échantillonnage des feuilles de vigne a été effectué dans la région de Tilmattine, située dans la commune de Tadmait, au nord de la wilaya de Tizi-Ouzou. Les coordonnées géographiques sont : latitude nord $36^{\circ} 47' 52''$ et longitude est $4^{\circ} 14' 46''$. Cette région est

délimitée au nord par la commune d'Iflissen, au sud et à l'est par la commune de Freha, et à l'ouest par la commune de Boudjima.

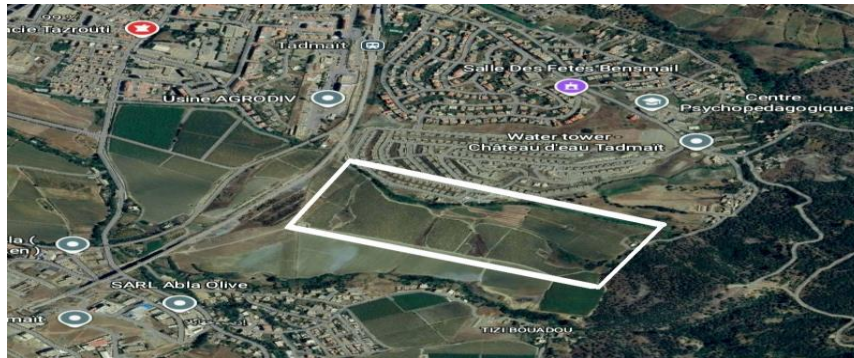


Figure 6 : Localisation géographique de la zone d'étude. (DSA, 2025)

3.3. Représentation du site d'échantillonnage

L'expérimentation a été menée sur le vignoble privé de M. Omar Bentchakal, s'étalant sur une superficie de 1,8 hectare, se distingue par la diversité de ses zones de culture. La parcelle est divisée en deux sections distinctes, chacune présentant des caractéristiques uniques qui influencent la culture et la qualité des raisins.

La première zone (Fig.7, b), un bas-fond est dédié à une parcelle jeune de raisin *Muscat*, âgée d'un an. Les conditions de culture dans cette zone, sont plus humides et avec un sol plus riche, peuvent favoriser un développement rapide et une bonne maturation des raisins.

La seconde zone (Fig.7, a), située sur une pente de 25%, est dédiée à la variété *Cardinal*, âgée de dix ans. Cette variété est connue pour sa résistance et sa capacité à produire de raisins sucrés et juteux. La pente peut offrir un bon drainage et une exposition optimale au soleil, ce qui est essentiel pour la maturation des raisins.



Figure 7 : Présentation du vignoble expérimental de Tilmattine , a) terrain montagneux , b) terrain plat.

(Originelle ,2025)

3.4. Profil climatique

Les éléments climatiques ont un rôle écologique crucial, tant pour la culture que pour la faune auxiliaire, les ravageurs et les maladies. Ces données sont collectées sur une période de neuf ans (2017-2025) proviennent des enregistrements effectués par la station météorologique de Boukhalfa, qui dépend de l'Office National de Météorologie (ONM) de Tizi-Ouzou (O.N.M. Boukhalfa, Tizi-Ouzou, 2025). En examinant ces données, il est possible d'observer comment les variations de température, de précipitations et d'autres facteurs climatiques impactent les cultures de vigne ainsi que la dynamique des populations de ravageurs et de maladies. De plus, ces données peuvent aider à adapter les pratiques agricoles.

➤ **Température**

La température joue un rôle crucial dans l'activité biologique des plantes, tout en influençant également le cycle biologique des insectes. De plus, elle affecte leur physiologie et leur comportement (Dajoz, 2006). Les températures moyennes, maximales et minimales enregistrées dans la région d'étude durant la période 2017-2025 sont illustrées sur la figure 8. Les températures moyenne enregistrées dans la région d'étude entre 2017 et 2025 varient de 12,1°C à 24,8 °C, avec des extrêmes minimaux atteignant environ 5,2 °C et des maximaux allant jusqu'à 34,1°C

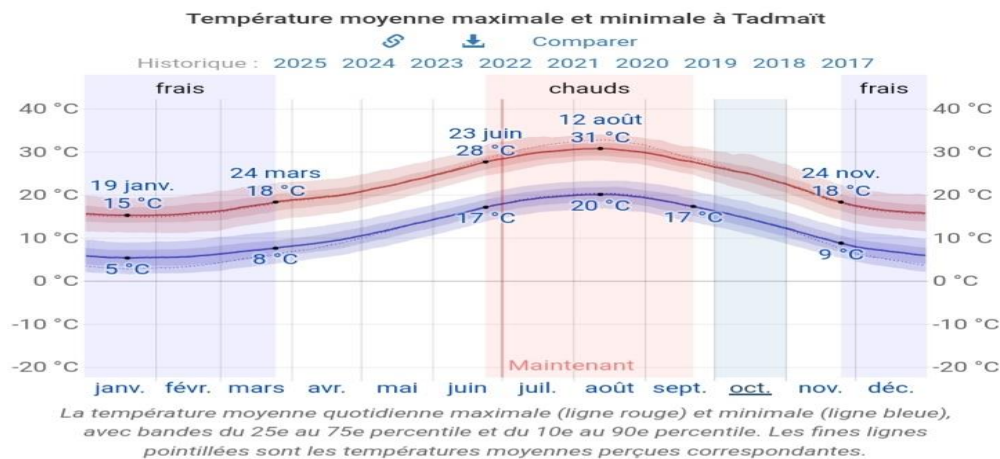


Figure 8 : Températures moyennes, minimales et maximales de la région de Tadmaït sur une période allant de 2017 à 2025. (O.N.M. Boukhalfa, Tizi-Ouzou, 2025)

➤ **Pluviométrie**

La pluviométrie (Fig. 9) est un facteur essentiel pour la viticulture. La vigne a besoin d'environ 600 mm de précipitations par an, bien qu'un minimum de 300 mm par an, répartis

de manière équilibrée tout au long de son cycle phénologique, soit jugé acceptable (Dajoz, 2006). Dans laquelle la précipitation mensuelle dans la région entre 2017 et 2025 montrent une variabilité marquée, avec des pics enregistrés en avril (jusqu'à 73mm) et des minimums notables en été notamment en juillet (3mm) indiquant une saison sèche prolongée.

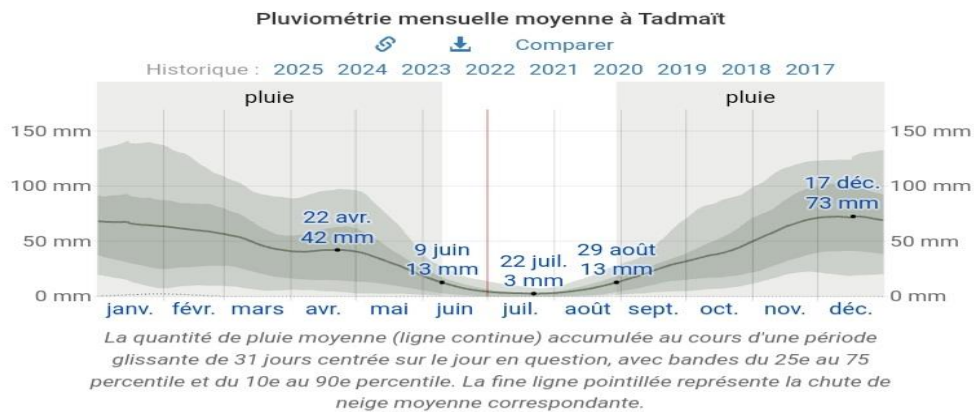


Figure 9 : Précipitations mensuelles enregistrées dans la région de Tadmait sur une période allant de 2017 à 2025 . (O.N.M. Boukhalifa, Tizi-Ouzou, 2025)

➤ L'enneigement

En Algérie, le nombre d'heures d'enneigement annuel dépasse 3500 heures de lumière (Fig.10), ce qui favorise la production de raisins bien colorés, sucrés et peu acides dans toutes les régions viticoles. Cette abondance de soleil permet de minimiser l'impact de ce facteur climatique et de se concentrer principalement sur les effets de la température et des précipitations (Ojeda, 2007). Dans cette région, la durée d'enneigement varie selon les saisons, atteignant un maximum de 14 heures et 41minutes durant l'été et un minimum de 9 heures et 39 minutes en hiver.

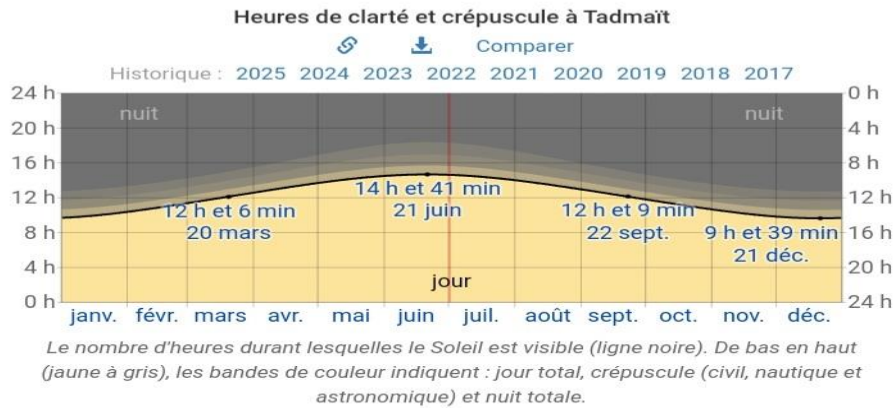


Figure 10 : Nombre d'heures d'ensoleillement enregistrées dans la région de Tadmait (2017-2025). (O.N.M. Boukhalfa, Tizi-Ouzou, 2025)

➤ **Vent**

Le vent, en tant que facteur climatique, facilite le transport des particules fines, affecte l'évapotranspiration et contribue à la formation des structures géomorphologiques. De plus, il joue un rôle essentiel dans la disponibilité des espèces animales et végétales (Dajoz, 2006). Les vitesses sont faibles en été, avec un minimum observé en juin 11,4km/h après elle augmente en automne et en hiver, atteignant un maximum en décembre 15,7km/ h.

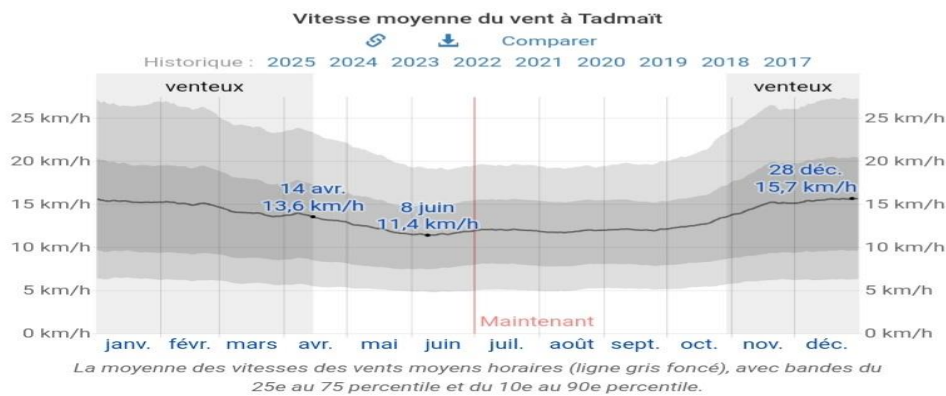


Figure 11 : Vitesses moyennes du vent par heure de la région de Tadmait (2017-2025). (O.N.M. Boukhalfa, Tizi-Ouzou, 2025)

➤ **Humidité**

L'humidité relative (Fig.12), qui dépend de la température de l'air et de la quantité de vapeur d'eau qu'il contient (Frydrych et al., 1993), a un impact sur la densité des populations en entraînant une réduction du nombre d'individus (Dajoz, 2006). L'humidité relative est

faible en hiver (janvier est 0) elle augmente au printemps pour atteindre un maximum en été.

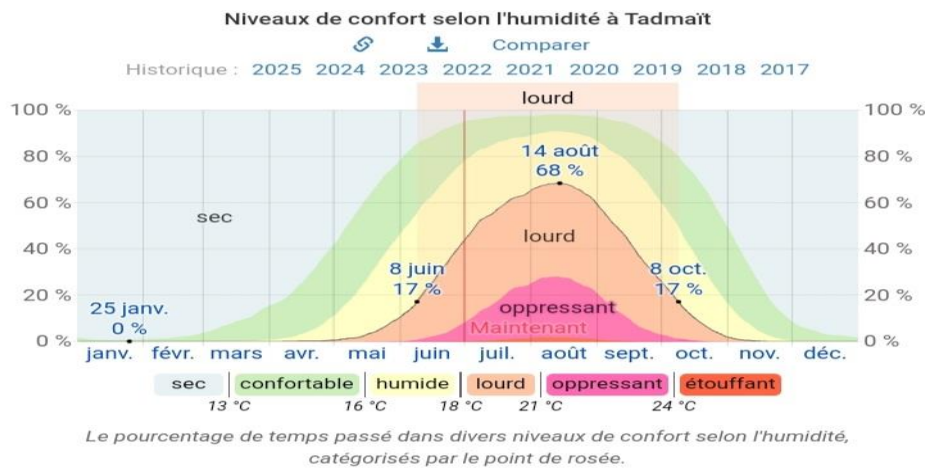


Figure 12 : Humidité relative (en %) enregistrée dans la région de Tadmait (2017-2025). (O.N.M. Boukhalfa, Tizi-Ouzou, 2025)

3.5 Méthodes de prélèvement des échantillons

Dans le cadre de cette étude, une stratégie de prélèvement a été mise en place afin d'assurer la représentativité des échantillons collectés. Deux types d'échantillons ont été collectés : des échantillons de sol et des échantillons de feuilles collectés en Avril et Mai 2025 à 9 heures du matin.

L'échantillonnage des sols a été effectué sur deux types de sites : un terrain plat et un terrain en pente (zone montagneuse), ce qui permet d'obtenir des données précieuses sur la composition et la qualité des sols. Pour chaque site, deux types d'échantillons ont été collectés à partir des sols cultivés par la vigne et non cultivés.

Le terrain a été subdivisé en deux triangles (Fig.13), avec trois points de prélèvement choisis : un dans le premier triangle et deux dans des zones distinctes du second triangle. Les prélèvements ont été réalisés à une profondeur uniforme de 25 cm, ensuite les échantillons recueillis ont été mélangés pour constituer un échantillon composite représentatif de chaque champ. Parallèlement, des prélèvements témoins ont été réalisés en dehors de la zone cultivée, dans la direction nord, à des distances de 5, 10 et 100 mètres du bord du champ, à la même profondeur de 25 cm. Ces échantillons témoins ont été conservés séparément, sans mélange, afin d'étudier l'évolution des propriétés du sol en fonction de la distance et de l'absence d'activité agricole.

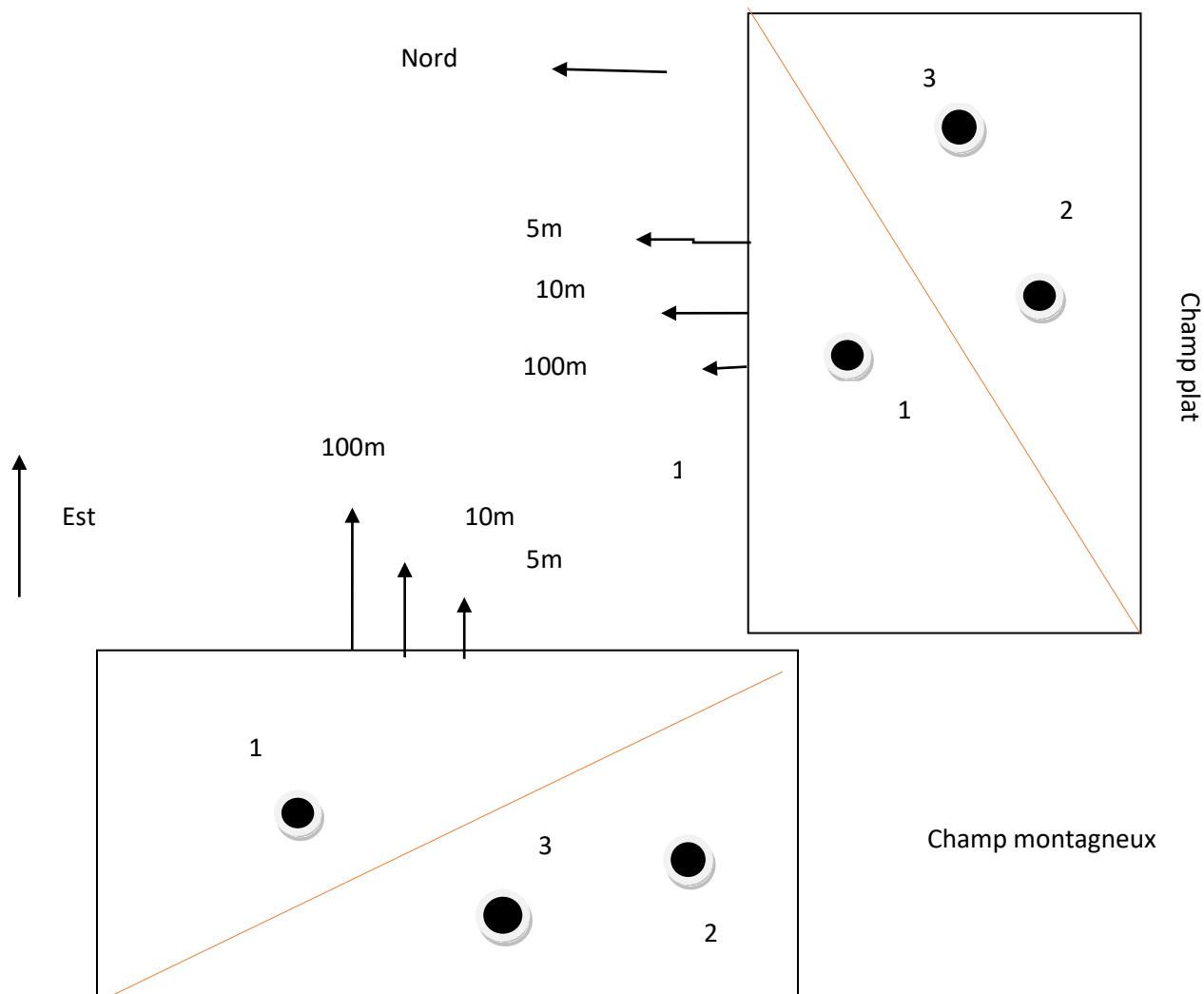


Figure 13 : Schéma représentant les points de prélèvement du sol.(Origenelle , 2025)

L'échantillonnage des feuilles de vigne (Fig. 14) a été réalisé en suivant selon une méthode similaire à celle adaptée pour les sols représentatifs. Des feuilles ont été collectées dans différentes zones ou sur différentes rangées du champ cultivé, afin d'assurer une bonne représentation de l'ensemble de la parcelle.



Figure 14 : prélèvement des feuilles. (Origenelle , 2025)

3.5 Conservation des échantillons

Pour conserver les feuilles de vigne, chaque prélèvement est soigneusement étiqueté avec le nom, le lieu et la date de collecte, ainsi que la localisation précise sur le site. Les sacs sont ensuite compressés pour éliminer l'air avant d'être scellés hermétiquement avec du ruban adhésif. Par la suite, les feuilles ont été séchées à l'air libre, étalées dans un endroit sec, bien ventilé et à l'abri de la lumière directe. Les feuilles séchées (Fig. 15) ont été broyées pour obtenir une poudre fine et homogène destinée aux différentes analyses physico-chimiques et microbiologiques.



Figure 15 : Aspect des feuilles de vigne séchées à l'abri de la lumière . (Origenelle , 2025)

3.6 Pesticides utilisés dans la parcelle

Dans le cadre de la gestion phytosanitaire de la parcelle viticole étudiée trois pesticides ont été examinés à savoir : Aktuan, Bellis et Thiovit Jet (Fig.16).

- Aktuan est un fongicide utilisé à lutter contre le mildiou de la vigne, présenté sous forme granulés à dissoudre dans l'eau, contenant 150g/Kg de diméthomorphe et 350 g/Kg de dithianon ;
- Bellis est un fongicide systémique et curatif à double action, efficace contre l'oïdium et le Botrytis de la vigne, ainsi que la tavelure des arbres fruitières. Il se présente sous forme de granulés à disperser dans l'eau contenant 12,8% de pyraclostrobine et 25,2% de boscalid ;
- Thiovit Jet est un fongicide de contact, composé de soufre micronisé, il est disponible sous forme de poudre mouillable.



Figure 16 : Présentation des pesticides utilisés dans la parcelle viticole (a):Aktuan b):Bellis , et c):Thiovit jet.
(Origenelle , 2025)

4. Méthodes d'analyses physico-chimiques

4.1 Analyses physico-chimiques de sol

4.1.1 Mesure du pH

Principe : La mesure du pH de l'échantillon de sol a été réalisée à l'aide d'un pH mètre, selon la méthode potentiométrique (NF V 05-108, 1997).

➤ Mode opératoire

- Peser 1g de l'échantillon, mélangé avec 25ml d'eau distillée chaude (macérer pendant 30min)
- Laisser refroidir
- Étalonner le pH mètre par une solution tampon
- Prélever un volume suffisamment important pour permettre l'immersion de l'électrode
- Noter ensuite la valeur du pH (effectuer 3 essais).
- Rincer l'électrode avec l'eau distillée avant et après chaque mesure puis sécher à l'aide du papier absorbant.
- Les valeurs du pH obtenues ont été comparées à l'échelle décrite par Gaucher, In Soltser (1981).

4.1.2 Mesure de l'humidité

- **Principe :** L'échantillon de sol a été séché dans une étuve à $105 \pm 3^\circ\text{C}$, jusqu'à avoir un poids constant.
- **Mode opératoire**
 - Peser trois capsules en aluminium vides pour chaque échantillon, puis tarer la balance ;
 - Dans chaque capsule peser 2 à 5 g de chaque échantillon, puis les placer dans l'étuve à $105 \pm 3^\circ\text{C}$
 - Retirer les capsules de l'étuve toutes les 30min, et les placer dans un dessiccateur jusqu'à ce qu'elles refroidissent.
 - Répéter l'opération jusqu'à avoir un poids constant
- **Expression des résultats :** L'humidité est calculée par la formule suivante :

$$\text{Matière sèche} = 100 - \text{H}\%$$

$$\text{H}(\%) = \frac{\text{M1}-\text{M2}}{\text{M2}-\text{P}} \times 100 \dots\dots (1)$$

- H (%) : Pourcentage de l'humidité.
- M1 : Masse de la capsule vide + matière fraîche avant le séchage en g.
- M2 : Masse de la capsule vide + matière après séchage en g.
- P : Masse de la capsule vide en g.

4.1.3 Texture

La texture du sol fait référence à la proportion relative des différentes particules minérales qui le composent : le sable, le limon et l'argile. Ces particules ont des tailles distinctes qui influencent la structure du sol, sa capacité à retenir l'eau et l'air, ainsi que sa perméabilité et son drainage.

➤ **Mode opératoire**

Pour déterminer la texture du sol, la méthode par saturation a été employée, cette méthode implique de mesurer le pourcentage d'humidité du sol (H%) et de le comparer à une échelle déterminant sa texture correspondante.

- 5g de sol tamisé ont été mélangés avec de l'eau jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène. Cette opération a été répétée jusqu'à ce que la pâte devienne lisse et glisse doucement lorsqu'on incline le récipient. Ensuite, les étapes suivantes ont été suivies :
- La capsule vide a été pesée (P₀).
- Prendre une petite quantité de pâte (sol mouillé), la mettre dans la capsule, puis repeser (P₁).
- -Mettre la capsule à l'étuve à 105°C pendant 24 heures
- -Peser la capsule une troisième fois à la sortie de l'étuve (P₂).

➤ **Expression des résultats**

Le pourcentage d'humidité est calculé par la formule suivante, et comparé aux valeurs à l'échelle décrite par (Soltser, 1981) pour déterminer la texture

$$H \% = (p_0 + p_1) - p_2 / p_1 \cdot 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

- p₀ : Poids de la capsule vide (g)
- p₁ : Poids de la pâte (sol mouillé) plus le poids de la capsule vide avant séchage à 105°C (g)
- p₂ : Poids de la pâte (sol mouillé) plus le poids de la capsule vide après séchage à 105°C (g) pendant 24 heures.

4.1.4 Taux de cendres

➤ **Principe** La teneur en cendres est déterminée par la calcination de la matière organique qui se transforme en résidus de matière minérale (cendres blanchâtres) au moyen d'un four à moufle à 550° ± 15°C (NF V 05-113,1972).

➤ **Mode opératoire**

- Peser 3 creusets en porcelaine vides et tarer la balance
- Dans chaque creuset peser 2g d'échantillon de sol
- Placer les creusets dans un four à moufle à 550 ± 15°C
- Après l'obtention des cendres blanchâtres avec un poids constant, retirer les creusets de four et les refroidir dans un dessiccateur
- Mesurer le poids final des cendres obtenues par une balance de précision.

➤ **Expression des résultats :** l'équation suivante a été utilisée pour déterminer la quantité de la matière organique :

$$MO (\%) = \frac{M1-M2}{P} \times 100 \dots\dots\dots (3)$$

- MO : Matière organique en (g) ;
- M1 : Masse de creuset + la prise d'essai en (g) ;
- M2 : Masse de creuset après incinération en (g) ;
- P : Masse de la prise d'essai (g).

Le taux de cendres est calculé par l'équation suivante : **TC % = 100 - MO** (4)

4.2 Analyses physico-chimiques des poudres de feuilles de vigne et des pesticides

4.2.1 Mesure du pH

Une solution contenant 4% de l'échantillon a été préparée. La solution obtenue a été agitée pendant 5 minutes jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène (AOAC, 2000). La mesure du pH a été réalisée en immergeant l'électrode du pH mètre dans le filtrat de cette solution.



Figure 17 : Mesure du pH des solutions aqueuses (Originelle, 2025)

4.2.2 Détermination de l'acidité titrable (NFV05-101,1974)

L'acidité titrable, a été déterminée en suivant la méthode colorimétrique décrite par la Norme Française NF V 05-101 (AFNOR, 1974).

100 ml d'eau distillée ont été ajoutés à 1g de poudre de l'échantillon, puis la solution a été chauffée au bain marie pendant 30 min. Après refroidissement, la solution a été filtrée. Le filtrat obtenu a été titré avec une solution de NaOH (0,1N) en présence de quelques gouttes de phénolphaléine (1%) jusqu'au virage de la couleur en rose qui persiste durant 30 secondes. L'acidité est calculée selon la formule suivante :

Soit ;

$$A \% = \frac{175 \cdot V_1}{V_0 \cdot M} \dots \dots \dots (5)$$

- V_1 : volume en ml de la solution NaOH à 0,1N.
- V_0 : volume en ml de la prise d'essai.
- M : masse de la poudre de feuilles de vigne en(g).

4.2.3 Détermination de la teneur en cendres (NF V 05-113, 1972)

➤ **Principe** L'échantillon à analyser a été calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention des cendres blanchâtres de poids constant.

➤ **Mode opératoire** Dans des creusets en porcelaine, peser 2g de l'échantillon et placer les creusets dans un four à moufle fermé. Augmenter progressivement la température pour éviter une calcination violente du produit, ce qui pourrait entraîner des pertes. Maintenir la température à 550°±15°C jusqu'à l'obtention d'une poudre de couleur blanchâtre de poids constant. Ensuite, retirer les creusets du four, les laisser refroidir dans un dessiccateur, puis les peser.

➤ **Expression des résultats** La teneur en cendres est calculée par la formule suivante :

$$MO\% = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100 \dots \dots (6)$$

Soit :

- MO : matière organique en (g)
- M1 : masse de creuset + la prise d'essai en (g)
- M2 : masse de creuset après incinération en (g)
- P : masse de la prise d'essai (g).

Soit :

$$TC \% = 100 - MO \dots \dots (7)$$

T_c% : Taux de cendres

4.2.4 Dosage de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique (vitamine C) a été dosé par la méthode iodométrique telle décrite par Lépengué et *al.* (2011). Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique par l'iode en milieu acide.

➤ **Mode opératoire**

Prélevez 50ml de filtrat, puis ajoutez 3ml de l'acide sulfurique (H₂SO₄) à 0,1 N ainsi que quelques gouttes d'une solution d'amidon à 0.5% comme indicateur coloré. Ensuite, titrez le mélange par une solution d'iode à 0,05% jusqu'à l'apparition de la couleur bleue.

➤ **Expression des résultats :** La quantité d'acide ascorbique que contient 1l du filtrat est donnée par la formule suivante :

$$Y = N * 20 * 4.4 \text{ d'acide ascorbique par litre } \dots\dots\dots (8)$$

Soit :

- N : nombre de ml d'iode versés
- Y : la quantité de la vitamine C dans l'échantillon (mg/l)

4.2.5 Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun et *al.* 1996) a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits.

➤ **Mode opératoire :** 1 ml de l'extrait aqueux est prélevé et additionné de 1 ml d'une solution d'AlCl₃ à 2 %. Le mélange est ensuite incubé pendant 10 minutes à température ambiante. Après cette incubation, l'absorbance est mesurée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

Les concentrations des flavonoïdes des différents extraits ont été calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la Quercétine comme standard, les résultats sont exprimés en mg équivalent en Quercétine/ g MS.

4.2.6 Dosage des caroténoïdes

Les caroténoïdes sont extraits par la méthode de Sass-Kiss et *al.* (2005).

➤ **Mode opératoire**

0,5 g de poudre de feuilles de vigne a été macéré dans un mélange de solvants composé de 20 ml d'hexane (2 volumes), d'acétone (1 volume) et d'éthanol (1 volume). Le mélange obtenu est ensuite introduit dans une ampoule à décanter afin de permettre la séparation des phases. Après décantation, la phase supérieure est récupérée. À cette dernière,

on ajoute 10 ml d'hexane, puis l'absorbance est mesurée à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

Les concentrations des caroténoïdes ont été estimées en se référant à la courbe d'étalonnage utilisant le β -carotène et les résultats sont exprimés en mg β -carotène /100g de matière fraîche.

4.2.7 Dosage des Polyphénols Totaux (PPT)

➤ **Principe de la méthode**

Le dosage des polyphénols totaux des feuilles de vigne repose sur la réaction des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu, formant un complexe coloré mesuré par spectrophotométrie.

➤ **Mode opératoire**

Un échantillon de 0,5g de poudre est soumis à une extraction par macération dans 20 ml d'eau distillée pendant 24 à 48h au réfrigérateur. L'extrait obtenu est ensuite filtré afin d'éliminer les résidus solides. Pour le dosage, 0,5 ml de l'extrait filtré est placé dans un tube à essai, auquel on ajoute 5 ml d'eau distillée et 0,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu's. Le mélange est bien agité, puis laissé reposer pendant 3 minutes. Ensuite, 0.5 ml d'une solution de carbonate de sodium à 20 % est ajouté. Après une nouvelle agitation, l'ensemble est incubé pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière. Enfin, l'absorbance est mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

La concentration en composés phénoliques totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue utilisant l'acide gallique comme standard. Elle est traduite en mg Equivalent d'Acide Gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

4.2.8 Dosage de la chlorophylle totale

➤ **Principe**

Le dosage de la chlorophylle a été réalisé selon une méthode spectrophotométrique basée sur l'extraction des pigments à l'aide d'un mélange acétone-eau.

➤ **Mode opératoire**

Dans un premier temps, un mélange de solvants (80 ml d'acétone avec 20 ml d'eau distillée) a été préparé. Ensuite, 4 ml de ce mélange ont été ajoutés à 1 g de poudre, suivi d'une agitation. Par la suite, 6 ml supplémentaires du même mélange acétone-eau ont été incorporés, et le tout a été agité à nouveau pour assurer une bonne homogénéisation.

Le mélange a ensuite été laissé à décanter pendant 10 minutes, puis filtré. Le surnageant obtenu a été additionné de 10 ml de la solution d'acétone-eau pour compléter l'extraction.

Pour l'analyse spectrophotométrique, 2 ml du filtrat ont été dilués dans 18 ml d'acétone pure, et l'absorbance a été mesurée aux longueurs d'onde de 663 nm et 645 nm.

➤ **Expression des résultats**

$$\text{Chlorophylle totale} = (712 \times A_{663}) + (16,8 + A_{645}) \dots \dots (9)$$

$$\text{Chlorophylle a} = (9,93 \times A_{663}) - (0,777 \times A_{645}) \dots \dots (10)$$

$$\text{chlorophylle b} = (17,6 \times A_{663}) - (2,81 \times A_{645}) \dots \dots (11)$$

4.2.9 Détermination de l'activité antioxydante

➤ **Principe**

La molécule DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazine) est un radical stable grâce à la délocalisation de son électron célibataire autour de la molécule empêchant sa polymérisation. Cette délocalisation est responsable d'un développement d'une couleur violette foncée.

En présence d'un antioxydant, la libération d'un proton réduit le radical DPPH en DPPH-H (2,2- diphényl-1-picryl hydrazine), la couleur violette ainsi se dissipe laissant apparaître une couleur jaune verte (Molyneux, 2004).

➤ **Mode opératoire**

L'effet « scavenger » du DPPH a été déterminé par la méthode de Kroyer et Hegedus. (2001). Un volume de 0,1 ml d'extrait a été ajouté à 3,9 ml de DPPH (60 mM). L'absorbance a été mesurée à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité.

Les expériences sont réalisées en 3 répétitions successives. A partir des valeurs obtenues, les pourcentages d'inhibition (de piégeage des radicaux libres DPPH) ont été calculés utilisant la formule suivante (Bentabet et *al.*2014) :

$$PI = \left[\frac{(Abl - Aext)}{Abl} \right] \times 100 \dots\dots (12)$$

Soit :

- **PI** : Pourcentage d’Inhibition ou pourcentage de piégeage
- **Abl** : Absorbance du blanc (solution du DPPH sans extrait) ;
- **Aext** : Absorbance de l’extrait

4.2.10 Indice de gonflement

➤ **Principe** L’indice de gonflement est le volume en ml occupé par 1 gramme de poudre, y compris le mucilage qui y adhère, qui a été mis à gonfler dans un aqueux (Paris, 1976).

➤ **Mode opératoire**

Dans une éprouvette graduée à bouchon rodé, mesurant 20 cm de hauteur et 20 mm de diamètre, introduisez 1g de poudre.

Humecter la poudre avec 1 ml d’alcool puis ajouter 25 ml d’eau. Agiter énergiquement toutes les 10 min pendant 1h. Effectuer 3 essais simultanément.

L’indice de gonflement est donné par la moyenne des 3 essais

$$IG = \frac{(V1 + V2 + V3)}{3} \dots\dots (13)$$

5. Analyse des groupements fonctionnels par la Spectroscopie Infra-Rouge (IR)

Les feuilles de vigne collectées des deux terrains (montagneux et plat) et les trois pesticides Aktuan Bellis et Thiovit jet ont été analysés par IR.

6. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques ont été réalisées selon les normes algériennes en vigueur relatives à chaque microorganisme. La flore totale a été isolée de sol et des feuilles de vigne, les bactéries lactiques et les levures ont été isolées des feuilles de vigne.

Les échantillons ont été inoculés en profondeur ou en surface selon les germes recherchés, tout en respectant les conditions préconisées pour chaque germe recherché.

6.1 Origine et état sanitaire des échantillons

Le sol et les feuilles de vigne analysés ont été prélevés à la fin de mois de Mai 2025 à 9h du matin sur deux sites viticoles distincts situés dans la même région afin de comparer la diversité et la diversité de la flore microbienne (Tableau I).

- **Terrain plat** : la vigne âgée d'un an, n'ayant reçu aucun traitement de pesticide depuis sa plantation. Les feuilles étaient saines, sans symptômes visibles de maladies, notamment l'absence de signe de mildiou à cette période et le sol est bien drainée.
- **Terrain montagneux** : Culture âgée de 10ans, est régulièrement traitée par pesticides principalement des fongicides pour lutter contre le mildiou. Les feuilles présentaient des symptômes caractéristiques du mildiou, tels que des taches huileuses et des décolorations.

Tableau I : Origine et état sanitaire des échantillons.

Paramètres	Terrain plat (culture jeune)	Terrain montagneux (culture âgée)
Age de la culture	1an	10ans
Traitement pesticide	Aucun	Traitée chaque semaine
Etat sanitaire des feuilles	Saine, sans mildiou	Malades, infectées par le mildiou

6.2 Milieux d'isolement utilisés

- **Gélose nutritive** : la gélose nutritive est un milieu non sélectif utilisé pour isolement de la flore totale bactérienne du sol et des feuilles de vigne, ce milieu permet de contrôler la pureté et de purifier la souche bactérienne
- **Gélose Sabouraud** : utilisée pour l'isolement des levures et moisissures.
- **Milieux MRS et M17** : Ces milieux sont destinés pour l'isolement des bactéries lactiques, ont été préparés selon un protocole spécifique. Ils ont été d'abord liquéfiés au bain marie, puis le pH a été ajusté soigneusement à 6,2. Ensuite, l'agar a été incorporé et les milieux ont été stérilisés par autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Après la stérilisation, les milieux ont été coulés dans des boîtes de Pétri en conditions aseptiques et laissés à solidifier.
- **Gélose Mueller-Hinton** : ce milieu est utilisé pour réaliser les tests d'activité antimicrobienne.

6.3. Souches microbiennes utilisées

Quatre souches de référence ont été utilisées pour réaliser l'activité antimicrobienne (Tableau II). Ces souches ont été fournies par l'hôpital CHU de Tizi-Ouzou. Les souches bactériennes ont été mises en culture dans les bouillons nutritifs et incubées à 37 °C pendant 24h, leur densité doit être équivalente à 0.5Mc Ferland.

Tableau II : Souches microbiennes utilisées

Souches utilisées		Code de la souche
Bactérie à Gram (-)	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 4157
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
Bactérie à Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 10876

6.4. Isolement des souches à partir des feuilles de vigne et du sol

6.4.1 Préparation de la solution mère à partir des feuilles de vigne

25 g des jeunes feuilles et âgées, récoltées de champs plats et montagneux, ont été découpés en petits fragments. Ensuite, les fragments ont été broyés soigneusement et mélangés avec 225 ml d'eau physiologique stérile. Enfin, le mélange a été homogénéisé avec un homogénéisateur durant 2 minutes. Par la suite, la solution a été filtrée à l'aide d'un papier Wattman et récupérée dans un flacon ou dans un bécher stérile. La solution obtenue est appelée solution mère (SM) qui est la dilution 10^{-1} .

6.4.2 Préparation de la solution mère à partir du sol

Une masse de 10 g de sol a été préparée à partir 5 g provenant de la parcelle montagneuse, et 5 g de la parcelle plate, puis mise en suspension dans 90 ml de l'eau physiologique. La solution a été agitée puis filtrée, constituant ainsi la solution mère du sol.

6.5 Préparation des dilutions

A partir des solutions mères des feuilles et de sol, des dilutions décimales ont été préparées.

6.6 Conditions d'ensemencement et d'Incubation

L'ensemencement de différents échantillons a été réalisé dans les conditions stériles par étalement en surface sur les différents milieux gélosés (Tableau III).

Tableau III : Caractéristiques des milieux de culture utilisés, échantillons analysés et conditions d'incubation.

Origine de l'échantillon	Milieu de culture	Méthode d'ensemencement	Germes ciblés	Conditions d'incubation
Feuilles de vigne et sol	Gélose nutritive	En surface	Flore totale bactérienne	30°C pendant 24-48h
	Gélose MRS	Sur surface	Bactéries lactiques (<i>Lactobacillus</i>)	37°C pendant 24 heures. (Idoui et al. 2009).
	Gélose M17	Sur surface	Bactérie lactiques	37°C pendant 24 heures. (Idoui et al. 2009).

6.7 Purification et caractérisation morphologique des colonies

Après l'ensemencement sur les milieux sélectifs et la période d'incubation, les colonies présentant un aspect distinct ont été soumises à une purification par repiquage successif sur milieu gélosé afin d'obtenir des colonies pures. L'observation macroscopique des isolats, a permis une première discrimination basée sur différents caractères (la taille, la forme, l'aspect de la surface, l'opacité, la consistance, la couleur et/ou la pigmentation), ensuite une observation microscopique a été réalisée à l'aide d'une coloration de Gram pour identifier les bactéries. Elle permet de distinguer deux types de bactéries, les bactéries à Gram négatif et les bactéries à Gram positif (Larpen, 1990), Une coloration vitale au bleu de méthylène, elle colore toutes les bactéries à l'exception des mycobactéries. Elle permet de distinguer leurs formes, groupements, tailles tout en mettant en évidence leur présence (Gille, 2015). Et en fin des tests biochimiques de bases des colonies isolées sur les géloses ont été déterminés. (Mannitol mobilité, l'étude de métabolisme glucidique, la catalase et l'oxydase).

6.9 Activité antimicrobienne

Dans le cadre de cette étude, une expérimentation a été menée pour évaluer l'impact des pesticides chimiques sur les souches bénéfiques de la vigne, après une étude comparative

a été menée sur différents extraits végétaux dans le but d'identifier une alternative naturelle de la microflore bénéfique tout en inhibant les bactéries pathogènes.

Tableau IV : Différents extraits aqueux testés contre les souches *Bacillus sp* isolées de feuilles de vigne et les souches pathogènes de référence

Matière première	Mode de préparation	Souches testées	Température d'incubation
Bulbe d'ail (<i>Allium sativum</i>)	2g de poudre dans 20ml d'eau distillée stérile Macération pendant 24h après filtration.	<i>Bacillus sp et candida sp</i> isolées de feuilles de vigne Les souches de références	37°C pendant 24h
Feuilles d'olivier (<i>Olea europaea</i>)		<i>Bacillus sp</i> isolées de feuilles de vigne	37°C pendant 24h
Poudre de cannelle (<i>Cinnamomum verum</i>)	2g de poudre dans 20ml d'eau distillée stérile, Macération pendant 24h après filtration.	<i>Bacillus sp</i> isolées de feuilles de vigne	37°C pendant 24h
Graines de cresson (<i>Lepidium sativum</i>)			
Graines de psyllium (<i>Plantago ovata</i>)			
Poudre de curcuma (<i>Curcuma longa</i>)			
Poudre de gousses de fève (<i>Vicia faba</i>)			
Pesticides (aktuan, bellis et Thiovit jet)	1g de pesticide dans 20ml d'eau distillée stérile puis filtration	<i>Bacillus sp</i> isolées de feuilles de vigne	37°C pendant 24h
Poudre des feuilles de vigne (<i>Vitis vinifera</i>)	10g de poudre dans 100ml d'eau distillée stérile, Macération pendant 24h	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i>	37°C pendant 24h

➤ **Mode opératoire**

- Ensemencer à l'aide d'un écouvillon stérile la surface de la gélose MH avec 0,1 ml de chaque suspension de *Bacillus sp*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *candida sp* (toutes les précultures des souches ont été standardisées à une densité optique de 0,1).
- Imbiber chaque disque stérile avec 10µl de chaque extrait
- Déposer les disques imbibés sur la surface de la gélose ensemencée

➤ **Lecture**

La lecture des résultats est faite 24 heures après l'incubation des boîtes de Pétri dans 37°C ; et la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques à l'aide d'une règle en (mm). Après mesure de la zone d'inhibition, les souches sont classées en :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre moins de 8 mm
- Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14 mm
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm (Ponce et *al.*, 2003).

Résultats et discussion

1. Analyses physico-chimiques

1.1. Sols des deux terrains (plat et montagneux)

Les résultats d'analyse de la variance à un facteur des sols de terrains plat (cultivé depuis 1 an) et montagneux (cultivé depuis 10ans) sont résumés dans le tableau V.

Quatre mesures à différentes distances (5m, 10m, 100m et au centre) ont été effectuées pour chaque type de sol et chaque paramètre analysé.

Tableau V : Analyses physico-chimiques des sols entre le milieu des deux terrains (plat et montagneux).

Paramètres	Moyenne et écart-type		Variation		Interprétation Significativité
	Terrain plat	Terrain montagneux	F	P	
pH	7,7 ± 0,1	8,1 ± 0,1	24	0,008	a/b
Texture (%)	91,02 ± 0,02	87,1 ± 0,08	11,54	0,02	a/b
Humidité (%)	25,76 ± 1,52	21,47 ± 1,52	12	0,02	a/b
Taux de cendres (%)	83,11 ± 1,00	80,43 ± 1,00	10,77	0,03	a/b

Le tableau V met en évidence des variations significatives ($p < 0,05$) entre les deux terrains. Le sol du terrain montagneux présente un pH plus alcalin, ce qui peut s'expliquer par une accumulation réduite de la matière organique acide, et une minéralisation plus lente en altitude. Ces résultats sont comparables à ceux de Zhao et *al.* (2019), qui ont mis en évidence l'influence de l'altitude sur la distribution du pH.

Une corrélation a été observée entre la texture du sol et son taux humidité. Le sol plat, qui présente une texture plus fine et dense, retient davantage l'eau, ce qui explique son humidité significativement plus élevée ($p < 0,05$) à celle du sol montagneux, qui contient un taux élevé en cendres (riche en éléments minéraux).

Selon Kamal et *al.* (2023), les sols argileux ou limoneux des zones planes ont une capacité de rétention d'eau élevée, tandis que les sols plus grossiers des pentes favorisent le ruissellement et l'infiltration rapide sans rétention d'eau. Cette accumulation des éléments minéraux peut résulter de pratiques agricoles plus intensives, comme l'ont souligné García-Orenes et *al.* (2010). Des teneurs suffisantes en calcium et en phosphore sont connues pour favoriser la sporulation et l'activité enzymatique des *Bacillus spp* ce qui pourrait expliquer une présence accrue de ces bactéries dans le sol plat.

1.2. Sols situés entre les zones périphériques et le centre des terrains cultivés (plat et montagneux)

Les résultats d'analyse de la variance à un facteur des paramètres physico-chimiques des sols situés entre les zones périphériques et le centre des terrains cultivés (plat et montagneux) sont présentés dans le tableau VI.

Tableau VI : Analyses physico-chimiques des sols entre les zones périphériques vs zones cultivés.

Paramètre	Distance	Terrain plat			Terrain Montagneux		
		Moyenne et Écart-type	Variation	Significativité	Moyenne et écart-type	Variation	Significativité
PH	Centre	7,7 ± 0,1	F= 1,56 P= 0,01	a/b/c/d	8,1 ± 0,1	F= 3,09 P= 0,04	a/b/c/d
	5m	6,7 ± 0,79			8,26 ± 0,41		
	10m	6,3 ± 0,45			7,22 ± 0,40		
	100m	7,8 ± 0,47			6,97 ± 0,5		
Texture (%)	Centre	91,02 ± 0,02	F= 4,68 P= 0,03	a/b/c/ d	87,1 ± 0,08	F= 8,52 P= 0,007	a/b/c/d
	5m	89,22 ± 0,49			91,64 ± 1		
	10m	90,67 ± 0,45			91,49 ± 1,10		
	100m	90,42 ± 0,68			91,25 ± 1,16		
Humidité (%)	Centre	25,76 ± 1,52	F= 3,47 P= 0,04	a/b/c/ d	21,47 ± 1,52	F= 4,95 P= 0,03	a/b/c/ d
	5m	25,30 ± 3,52			23,25 ± 3,10		
	10m	22,12 ± 1,88			22,08 ± 20,78		
	100m	23,84 ± 2,47			19,45 ± 2,94		
Taux de Cendres (%)	Milieu	83,11 ± 1,00	F= 5,75 P= 0,02	a/b/c/ d	80,43 ± 1,00	F= 14,02 P= 0,001	a/b/c/ d
	5m	80,38 ± 1,01			81,68 ± 1,52		
	10m	81,38 ± 1,00			81,21 ± 1,00		
	100m	81,43 ± 1,00			77,07 ± 1,32		

Les résultats présentés dans le tableau VI montrent que, la zone cultivée du terrain plat se distingue nettement des zones environnantes (à 5 m, 10 m, 100 m). Un pH plus acide a été enregistré traduisant une activité biologique plus intense, associée à la minéralisation de la matière organique.

Cette observation est cohérente avec les travaux de recherche de Delgado-Baquerizo et *al.*, (2023), qui relie l'acidification du sol à la biomasse microbienne active. Une humidité enregistrée peut être attribuée à l'entretien du sol, qui favorisent la rétention d'eau soulignée par Lal et *al.*, (2021) et Zhou et *al.*, (2023). Ces derniers ont pu démontrer que, les pratiques culturales améliorent l'humidité du sol via l'activité racinaire et la porosité. Par ailleurs, un taux de cendres plus élevé traduit une accumulation de minéraux, favorisée par l'utilisation d'intrants agricoles tels que les engrais, et les amendements organiques.

1.3 Feuilles de vigne (Jeunes et âgées)

Les résultats d'analyse de la variance à un facteur des paramètres physico-chimiques des jeunes feuilles de terrain plat et les feuilles âgées de terrain montagneux sont présentés dans le tableau VII.

Tableau VII : Résultat d'analyse de la variance des feuilles des paramètres physico-chimiques des feuilles de vigne des terrains cultivés (plat et montagneux).

Paramètre	Jeune feuilles	Feuilles âgées	Variation		Signification
	Moyenne Ecart-type	Moyenne Ecart-type	F	P-value	
PH	3.77 ±0,057	4.4 ±0,1	90,25	0.0006	a/b
Indice de gonflement (%)	6.8 ±0,2	5.37 ±0,153	97,31	0.0005	a/b
Acidité titrable (%)	6.42 ± 0,585	3.7 ± 0,941	19,52	0.01	a/b
Acide ascorbique (mg/g MS)	90.93 ± 13,43	155.47 ± 13,43	34,57	0.004	a/b
Teneur en cendres (%)	4.92 ±1,069	7.57 ± 0,284	17,20	0.01	a/b
Activité antioxydante (%)	10.69 ± 1,91	55.40 ±20,00	14,85	0.01	a/b
Chlorophylle Totale (mg/g MS)	95.37 ± 20,44	89.86 ± 10,89	0.2	0.07	a/a
Polyphénols Totaux (mg EAG/g MS)	371.20 ± 26 .41	468 ± 31,74	16, 48	0.01	a/b
Flavonoïdes Totaux (mg Quercétine/g MS)	289.76 ± 31,48	412.65 ± 6,66	111,73	0.004	a/b
Caroténoïdes (mg β carotène/g MS)	6.61 ± 0.47	3.23 ± 1.29	18,11	0.01	a/b

Les résultats présentés dans le tableau VII, montrent que les feuilles âgées sont soumises à un stress environnemental et phytosanitaire régulier, présentent une richesse accrue en polyphénols, flavonoïdes et antioxydants. Nous expliquons l'augmentation de la concentration en polyphénols caractérisant les feuilles de terrain montagneux à l'utilisation des pesticides. Ces résultats sont en accord avec ceux de Zarzecka et *al.*, (2019), qui ont démontré que les herbicides et les biostimulants favorisent l'augmentation de la concentration des métabolites secondaires dans les feuilles. De même, les travaux de Daniel et *al.*, (1999) ont confirmé que l'altitude favorise l'accumulation de métabolites secondaires dans les feuilles de vigne en réponse au stress climatique, aux UV et aux traitements phytosanitaires.

Tandis que, les jeunes vignes cultivées sur un sol plat présentent une meilleure capacité hydrique, présentent des concentrations plus élevées en caroténoïdes et en chlorophylle, favorisant une activité photosynthétique efficace et un développement rapide Gajdoš Kljusurić et *al.*, (2023), ont observé qu'au cours de la croissance de la vigne, une diminution de la chlorophylle a été observée à un stade avancé de développement ou en période de stress, s'accompagne d'une augmentation progressive de la teneur en polyphénols et en activité antioxydante dans les feuilles. Cette relation inverse indique que la baisse de la chlorophylle est compensée par une production accrue de composés protecteurs comme les flavonoïdes et cela s'explique par l'utilisation des doses de pesticides utilisés.

Des résultats similaires ont été démontré par Silva et *al.*, (2022), ces auteurs ont expliqué que la vigne est soumise à des stress abiotiques (pesticides, sécheresse) qui activent la voie des polyphénols, ce qui entraîne une hausse des métabolites secondaires comme le resvératrol et la quercétine, en parallèle à une réduction de la teneur en chlorophylle. Ce mécanisme métabolique est un système de défense naturel face aux stress environnementaux.

Plusieurs études ont démontré l'effet des pesticides (tels que les fongicides, et les herbicides.) à des doses variées sur la réduction et la biosynthèse de la chlorophylle. Les résultats indiquent que les doses plus faibles entraînent des perturbations dans la production des pigments, tandis que des doses plus élevées peuvent provoquer un arrêt total de la biosynthèse (Berard and Pelte, 1999).

Ces résultats indiquent que, la composition biochimique des feuilles de vigne est influencée par les conditions climatiques et géographiques (Mylonaki et *al.*, 2008), les propriétés du sol, l'état physiologique et l'âge de la culture (Deleonardis et *al.*, 2008). L'utilisation des pesticides, influencent à la fois les mécanismes de défense, la productivité végétale, la variété cultivée (cultivar), le degré de maturation, la dynamique et le développement microbienne associés à la vigne (Boudhrioua et *al.*, 2008).

1.4 Pesticides

Les résultats d'analyses physico-chimiques des solutions des pesticides (Aktuan, Bellis et Thiovit jet) ont révélé l'absence de composés antioxydants tels que les polyphénols, flavonoïdes, caroténoïdes, chlorophylle, et l'acide ascorbique. L'absence de cendres et l'acidité peut suggérer que les solutions sont relativement pures ou qu'elles ne contiennent pas de matières minérales et acides organiques ou substances chimiques acides.

Les résultats d'analyse de la variance à un facteur du pH des pesticides sont présentés dans le tableau VIII. Ce tableau révèle une variation significative du pH des pesticides analysés ($p = 0,009 < 0,05$; $F = 22,4$) ce qui peut influencer leur mode d'action, ainsi que leurs interactions avec la microflore et les tissus végétaux. Un pH acide comme celui du pesticide Aktuan pourrait limiter la survie de certaines bactéries sensibles à l'acidité contrairement aux autres pesticides analysés.

Tableau VIII : Analyse de pH des trois pesticides utilisés dans la parcelle d'étude.

Pesticides utilisés	pH moyen
Aktuan	5,83 ± 0,03
Bellis	6,76 ± 0,01
Thiovit jet	8,03 ± 0,02

1.5 Analyse des groupements fonctionnels

1.5.1 Feuilles de vigne

L'analyse par spectroscopie Infra-Rouge à transformée de Fourier (FTIR) des feuilles de vigne collectées des deux terrains (tableau IX) a permis d'identifier les groupements fonctionnels des biomolécules présentes dans les tissus foliaires

Les spectres obtenus en Annexe 4 révèlent des similarités dans les groupements fonctionnels présents dans les feuilles, mais également des différences marquées dans l'intensité et la définition de certains pics, témoignant des variations biochimiques induites par les conditions environnementales distinctes.

Tableau IX : Résultats d'analyse IR des feuilles de vigne des deux terrain (terrain plat et montagneux).

Bande cm^{-1}	Groupes fonctionnels identifiés	Interprétation	
		culture jeune – terrain plat	culture âgée – terrain montagneux
3400	-OH	Phénols, flavonoïdes	Phénols, flavonoïdes en quantités élevées
2922	C-H alcanes	Composé lipidique	Lipides
1735	C=O	Cétones, esters ou acides	Cétones, acides
1625	C=C aromatique	Polyphénols, flavonoïdes	Polyphénols
1384	CH ₃	Groupe méthyle	Groupe méthyles
1030	C-O	Polysaccharides	Polysaccharides
720	C-H	Cycle aromatiques	Cycle aromatique

Le spectre IR des feuilles récoltées du terrain montagneux présente un large pic autour de 3421 cm^{-1} , indiquant une forte teneur des groupes hydroxyles, typiques des polyphénols, flavonoïdes et autres composés phénoliques. L'intensité élevée de ce pic se traduit par l'adaptation des feuilles à un environnement montagnard, souvent marqué par un stress oxydatif accru, favorisant la synthèse de molécules antioxydantes. D'autres pics observés traduisant la présence de structures lipidiques membranaires de composés carbonylés.

1.5.2 Pesticides

Les résultats d'analyse IR du pesticide Aktuan, un fongicide systémique à base de cyproconazole et d'autres agents chimiques, révèle plusieurs bandes caractéristiques traduisant la présence de groupes fonctionnels variés caractéristiques des cycles hétérocycliques azotés présents dans les triazoles comme le cyproconazole (Patel *et al.*, 2012), et les composés organochlorés ou similaires souvent présents dans les formulations fongicides (Smith, 2011). Cette analyse a permis de démontrer la complexité chimique du produit Aktuan, composé des cycles aromatiques et des hétérocycles azotés (Tableau X).

Tableau X : Analyse par Spectroscopie Infrarouge du pesticide "Aktuan"

Bande (cm^{-1})	Groupes fonctionnels identifiés	Interprétation
3436	-OH	Groupe hydroxyle alcool phénols
2923/ 2852	C-H	Chaines aliphatique
1732	C=O	Fonction carbonyle
1626	C=C	Composé aromatique
1455	CH ₂	Groupe méthylène
1110	C-O-C	Éthers
725	C-H	Indice d'aromatique substitué

Le spectre IR du pesticide Bellis (Tableau XI) présente plusieurs bandes caractéristiques des phénols ou des alcools, des acides, des esters ou des amides.

Tableau XI : Résultats d'analyse IR du pesticide "Bellis"

Bande (cm^{-1})	Groupes fonctionnels identifiés	Interprétation
3404	-OH	Groupe hydroxyle alcool phénols
2925 / 2855	C-H	Chaines aliphatique
1735	C=O	Fonction carbonyle
1623	C=C	Composé aromatique
1458	CH ₂	Groupe méthylène
1120	C-O-C	Éthers
723	C-H	Indice d'aromatique substitué

Le spectre IR du pesticide Thiovit Jet, révèle plusieurs bandes caractéristiques indiquant la présence de fonctions chimiques spécifiques (Tableau XII). Un large pic observé autour de 3400 cm^{-1} correspond à l'élongation des liaisons O-H, souvent associée à l'humidité résiduelle ou à des groupes hydroxyles, tandis que les pics caractéristiques de certains composés soufrés et les bandes à base de soufre, composant actif majeur du Thiovit Jet ont été observés (Boussaada et *al.*, 2015).

Tableau XII : Résultats d'analyse IR du pesticide "Thiovit jet.

Bande (cm^{-1})	Groupes fonctionnels identifiés	Interprétation
3394	-OH	Liaison hydrogène humidité ou compose phénolique
2924	C-H alcane vibration asymétrique	Chaines aliphatique
2360	C=N ou CO ₂	Trace de gaz ou nitriles
1627	C=C	Compose aromatique
1384	C-H déformation	Groupe méthylène
1110	C-O-C	Polysaccarides ou composés soufres
684	S=S ou S-S	Marqueur du soufre (fongicide soufré)

2. Analyses microbiologiques

2.1. Recherche de la flore microbienne totale des feuilles de vigne

La recherche de la flore totale microbienne sur la gélose nutritive révèle une diversité et une abondance de cette flore dans les feuilles collectées du terrain plat, comparativement à celles collectées du terrain montagneux (Tableau XIII).

L'absence des bactéries lactiques est observée sur les milieux, spécifiques aux bactéries lactiques (MRS et M17). Ces bactéries peuvent participer à plusieurs processus importants de la plante en inhibant la pression pathogène et améliore la biodiversité par la production d'acide lactique (Acidifie le milieu).

Tableau XIII : Différence de diversité microbienne de sol et des feuilles de vigne collectées des terrains (plat et montagneux).

Critères	Feuilles de vigne		Sol de vigne	
	Jeunes feuilles de terrain plat	Feuilles âgées de terrain montagneux	Terrain plat	Terrain montagneux
Diversité microbienne	Diversité Elevées	Diversité Faible	Diversifié	Moyenne
Colonies bactériennes différenciées	Oui : forme, taille et couleur variées	Non : aucune colonie bactérienne différencie	Différentes colonies	Dominée par des colonies transparentes

Un tapis blanc crémeux (Figure. 18) couvrant totalement la surface de la gélose nutritiveensemencée par extrait des feuilles âgées de vigne collectées du terrain montagneux (Tableau XIV)

Tableau XIV : Caractéristiques macroscopiques du tapis observé sur la géloseensemencée par l'extrait de feuilles âgées de vigne collectées du terrain montagneux.

Couleur	Forme	Relief	Taille	Consistance	Surface	Odeur	Aspect
Blanc crème	Tapis homogène recouvrant toute la surface	Plat	Très étendue (toute la boîte)	Crémeuse a visqueuse	Lisse, brillante	Légèrement fermentaire	Levuriforme

Trois types de colonies distinctes sont identifiés dans les jeune feuilles de vigne collectées du terrain plat. Ces colonies obtenues sont majoritaires rondes, d'une taille petite à moyenne qui varie du blanc au jaune, et rose saumon (Tableau XV).

Tableau XV : Caractéristiques macroscopiques des colonies isolées à partir des jeune feuilles de vigne collectées du terrain plat.

Couleur	Forme	Relief	Taille	Consistance	Surface	Odeur	Bord	Opacité
Blanc	Circulaire	Plat	Moyenne/ grande	Sèche/ Crémeuse	Rugueuse, mate	Aucune	Irrégulier	Légèrement translucide
Jaune	Circulaire	Bombé/ lisse	Petite	Crémeuse	Lisse/ brillante	Neutre	Régulier	Opaque
Orange à Rose /	Circulaire	Légèrement bombé	Petite/ Moyenne	Crémeuse	Lisse/ brillante	Neutre	Bien délimité	Opaque

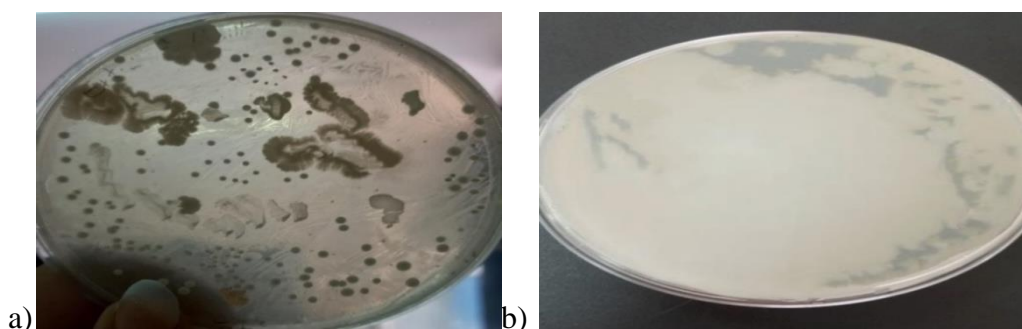


Figure 18 : Cultures microbiennes sur gélose nutritive (Dilution 10^{-3}) des feuilles de vigne (a : terrain plat ; b : terrain montagneux).

La culture de sol du terrain plat obtenue sur gélose nutritive a révélé une abondance en colonies blanches observées d'une taille moyenne à grande, et d'une forme ronde, ainsi que la présence de quelques colonies transparentes (Tableau XVI).

Tableau XVI : Caractéristiques morphologiques des colonies isolées du sol de terrain plat.

Souche	Forme	Relief	Taille	Opacité	Consistance	Couleur	Odeur	Surface
1	Irrégulière filamenteuse, lobée ou pubescente	Légèrement bombé	Moyenne a grande	Opaque	Mucus a crémeuse	Blanc	/	Lisse a brillante
2	Circulaire, bord régulier légèrement ondulé	Bombé	Grande	Opaque	Crémeuse	Blanc	/	Lisse a brillante
3	Circulaire, bord irrégulier	Bombé	Moyenne a grande	Transparent	Muqueux	Jaune pâle à transparent	/	Brillante, lisse

La culture de sol du terrain montagneux sur la gélose nutritive a révélé la présence de la flore bactérienne mais elle est moins diversifiée avec une prédominance des colonies Jaune pâle à transparent. Parmi ces colonies deux petites colonies blanches ont été isolées et caractérisées (Tableau XVII).

Tableau XVII : Caractéristiques morphologiques des colonies isolées du sol de terrain montagneux.

Souche	Forme	Relief	Taille	Opacité	Consistance	Couleur	Odeur	Surface
1	Circulaire, bord irrégulier	Bombé	Moyenne a grande	Transparent	Muqueux	Jaune pâle à transparent	/	Lisse et Brillante
2	Circulaire, bord régulier légèrement ondulé	Bombé	Petite à moyenne	Opaque	Crémeuse	Blanc	/	Lisse a brillante

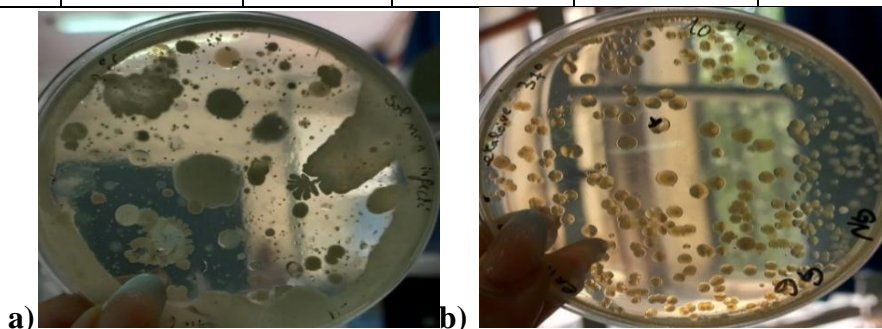


Figure 19 : Cultures microbiennes sur gélose nutritive (dilution 10^{-3} de sol (a : terrain plat ; b : terrain montagneux))

La figure 20 montre l'aspect des colonies purifiées qui ont été isolées des feuilles de vigne et des sols.

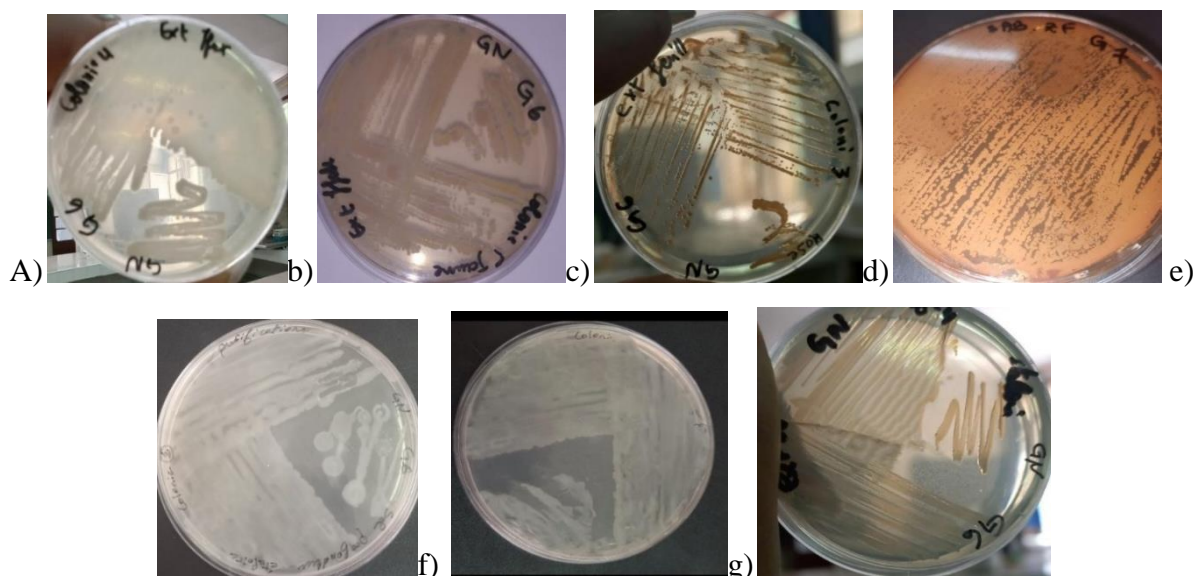


Figure 20 : Aspect macroscopique des colonies purifiées à partir des échantillons analysés (feuilles collectées de terrain plat) : a : colonie blanche, b : colonie jaune, c : colonie orange-rosé ; feuilles collectées de terrain montagneux : d : tapis microbien ; sol de terrain plat : e et f : colonie blanche, g : colonie jaune pâle transparente.

2.2. Caractérisation des isolats après coloration de Gram

La coloration de Gram a montré que, la majorité des bactéries isolées des deux échantillons du terrain plat sur la gélose nutritive étaient des colonies blanches de bacilles Gram positifs, avec quelques formes coccoïdes Gram négatives.

Les colonies blanches isolées des feuilles de terrain plat : sont constituées de bacilles, présentant des exospores, et des spores déformantes terminales, Gram positives, isolées en chaînes courtes. Pour les colonies jaunes et orange à rose sont des coques Gram positives, souvent en tétrades ou en amas irréguliers (Figure. 21).

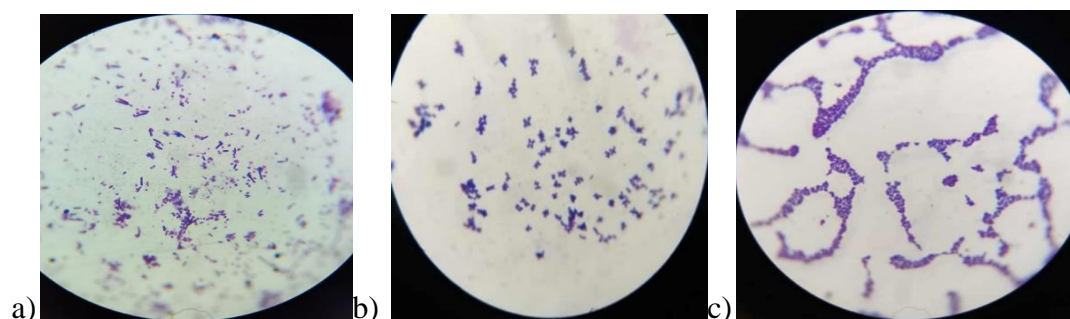


Figure 21 : Aspect microscopique des colonies isolées des feuilles de terrain plat a : colonie blanche en chaînes courtes b : colonie jaune-cocci en tetrade c : colonie Orange-cocci en amas .

Concernant les colonies isolées sur le terrain plat sont présentent de couleurs blanches et varient en taille. Deux morphotypes dominant : le premier renferme des bacilles Gram positifs, fins et dotés de spores terminales, tandis que le second est constitué de bacilles plus épais non sporulés, également sont des Gram positifs (Fig.22).



Figure 22 : Aspect microscopique de colonies isolées de sol de terrain plat a et b : colonie blanche a crème ; c : colonie jaune pâle transparente

Les colonies dominantes isolées sur le terrain montagneux présentent une couleur jaune pâle à transparente et observées au microscope se caractérisent par des bacilles à Gram négatif. On note aussi, la présence de quelques colonies blanches, identifiées comme des bacilles à Gram positif.

2.3 Caractérisation des isolats après coloration au bleu de méthylène

L'examen au bleu de méthylène de l'isolat de feuilles de vigne prélevées dans un environnement montagneux a révélé la présence des cellules levuriforme caractérisées par une morphologie ovoïde à allongée, typique aux levures.

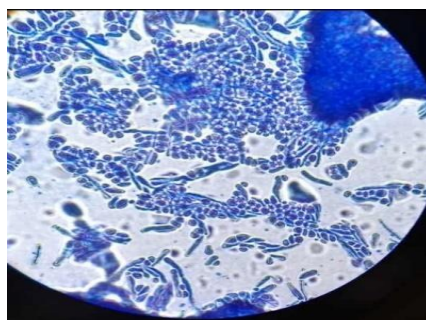


Figure 23 : Aspect microscopique des colonies de levures sur gélose Sabouraud.

3. Tests d'identification biochimique

Les résultats de l'identification biochimique de sol et des feuilles de vigne sont résumés dans le Tableau XVIII.

Tableau XVIII : Les tests biochimiques de base pour l'identification des bactéries isolées de sol et des feuilles de vigne.

Origine	Morphotypes	Gram	Forme/ sporulation	Teste biochimiques de base	Genre
Feuilles prélevées de terrain plat	Colonie blanche	+	Bacille, spore déformante	Catalase +, Oxydase +, Mobilité + Métabolisme oxydatif	<i>Bacillus spp</i>
	Colonie jaune	+	Tétrade Cocci	Catalase +, Oxydase +, Mobilité -, Mannitol + Métabolisme oxydatif	<i>Micrococcus spp</i>
	Colonie orange-rose	+	Cocci en amas	Catalase +, Oxydase -, mannitol + Fermentation de glucose +, Métabolisme fermentaire	<i>Staphylococcus spp</i>
Sol de terrain plat	Colonie blanche	+	Bacille fin, spore terminale	Catalase +, Oxydase +, Mobilité +, Métabolisme fermentaire	<i>Bacillus spp</i>
	Colonie blanche	+	Bacille plus épais sans spore	Catalase +, Oxydase +, Mobilité +, Métabolisme fermentaire	<i>Bacillus spp</i>
	Colonie jaune pâle à transparent	-	Bacille	Catalase +, Oxydase +, Mobilité + Métabolisme oxydatif	<i>Pseudomonas spp</i>
Sol de terrain montagneux	Colonie jaune pâle à transparent	-	Bacille	Catalase +, Oxydase +, Mobilité + Métabolisme oxydatif	<i>Pseudomonas spp</i>
	Colonie blanche	+	Bacille avec spore centrale	Catalase +, Oxydase +, Mobilité + Métabolisme fermentaire	<i>Bacillus spp</i>

Les résultats du tableau révèlent la dominance de *Bacillus spp* dans le sol plat et de *Pseudomonas spp*, est plus présent dans le sol montagneux. Ces résultats reflètent, la diversité microbienne selon les caractéristiques du terroir et les pratiques culturales, comme l'ont souligné Compant et *al.* (2010).

En effet, la diversité microbienne est fortement influencée par des facteurs environnementaux et agronomiques, ainsi que par l'utilisation intensive des produits phytosanitaires. L'impact différentiel des pesticides testés sur la microflore bénéfique, en particulier sur les *Bacillus* souligne les risques écologiques liés à leur usage intensif. Cela corrobore les observations de Sorensen et *al.* (2007) qui ont mis en évidence les effets délétères des pesticides sur la diversité bactérienne du sol.

Ces résultats préliminaires ont permis à une orientation vers le genre, qui pourrait être confirmée par des API Galerie spécifiques ou par séquençage moléculaire.

4. Antibiogrammes

4.1. Antibiogramme des pesticides sur la souche *Bacillus* isolée à partir des feuilles de terrain plat

La concentration des pesticides testée correspond à celle utilisée en agriculture à 100%. Les résultats du tableau XIX indiquent que les trois pesticides testés ont un effet inhibiteur sur *Bacillus spp* isolées des feuilles de terrain plat avec un diamètre d'inhibition moyen $\varnothing=21\text{mm}$ (Figure 24). Nous remarquons que, le pesticide Aktuan exerce une inhibition marquée sur les *Bacillus spp*, ce qui pourrait perturber l'équilibre de la microflore phyllosphérique lorsqu'il est utilisé à forte dose en agriculture conventionnelle. Tandis que, les deux autres pesticides Bellis et Thiovit Jet présentent un effet modéré.

Tableau XIX : Diamètres d'inhibition des pesticides sur *Bacillus spp* isolée à partir des feuilles de terrain plat.

Pesticide testé	Concentration utilisée	Souche <i>Bacillus spp</i> isolée du terrain plat	Diamètre d'inhibition moyen (mm)
Aktuan	100%	Forte (inhibition Large)	$21 \pm 0,01$
Bellis	100%	Moyenne (Inhibition modérée)	$15 \pm 0,01$
Thiovit Jet	100%	Moyenne	$12 \pm 0,03$

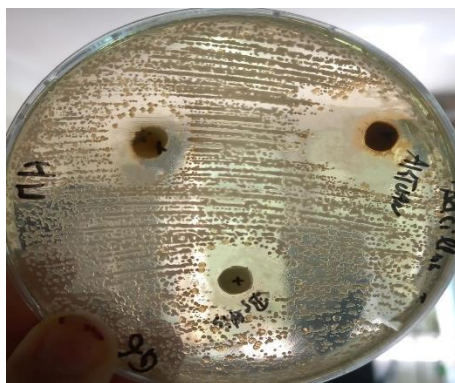


Figure 24 : Antibiogramme des pesticides sur *Bacillus* spp., isolée à partir de feuilles de terrain plat.

4.2 Antibiogramme de différents extraits végétaux sur la souche *Bacillus* isolée à partir des feuilles de terrain plat

Les résultats du tableau XX montrent que seul l'extrait d'ail qui a exercé un effet inhibiteur contre *Bacillus* spp, avec un diamètre Ø 32mm. Contrairement aux autres extraits qui n'ont présenté aucune zone d'inhibition (Fig. 25), ce résultat a permis de justifier le choix de l'ail comme agent antimicrobien principal pour la suite d'étude.

Tableau XX : Effets de différents extraits sur *Bacillus* spp isolés à partir des feuilles du terrain plat.

Extrait végétal	Concentration testée	Diamètre d'inhibition	Effet inhibiteur
Ail (<i>Allium sativum</i>)	100%	32 ± 0,01mm	Inhibition forte
Feuille d'olivier (<i>Olea europaea</i>)	100%	Absence	Aucun effet Inhibiteur
Cannelle (<i>Cinnamomum verum</i>)	100%	Absence	Aucun effet inhibiteur
Graines de cresson (<i>Lepidium sativum</i>)	100%	Absence	Aucun effet inhibiteur
Graines de Psyllium (<i>Plantago ovata</i>)	100%	Absence	Aucun effet Inhibiteur
Curcuma (<i>Curcuma longa</i>)	100%	Absence	Aucun effet inhibiteur
Gousse de fève Sèche (<i>Vicia faba</i>)	100%	Absence	Aucun effet inhibiteur



Figure 25 : Antibiogramme de différents extraits végétaux contre *Bacillus sp* des feuilles.

III.3.2. Effet de l'extrait d'ail sur les *Bacillus spp* isolées à partir des feuilles de terrain plat

L'effet de l'extrait d'ail à différentes concentrations (100%, 75%, 50%, et 25%) a été évalué contre la souche *Bacillus spp* (Figure. 26).



Figure 26 : Antibiogramme de l'extrait d'ail à différentes concentrations contre *Bacillus spp* des feuilles de terrain plat.

Les résultats montrent que, l'extrait d'ail à 25% ne présente aucun effet inhibiteur, ce qui indique une absence d'efficacité à cette dose. A 50% une inhibition modérée a été observée avec un diamètre d'inhibition $\text{Ø} = 10 \text{ mm}$; Cependant, les concentrations de 75% et 100% ont montré une activité bactéricide avec des diamètres d'inhibition de $\text{Ø} = 24 \text{ mm}$; $\text{Ø} = 36 \text{ mm}$ respectivement. Ces résultats confirment que l'activité d'ail contre *Bacillus spp* est dépendante de la dose.

Ces résultats sont comparables à ceux de Borlinghaus et *al.* (2014) qui ont testé des composés soufrés actifs, notamment l'allicine, qui agit en inhibant les enzymes thiol-dépendantes essentielles au métabolisme bactérien renforcée.

Effet d'extrait d'ail sur *Candida spp* isolée de feuilles de vigne de terrain montagneux

Les différentes doses de l'extrait d'ail ont exercé un effet inhibiteur contre la levure de *Candida spp* isolée à partir des feuilles de terrain montagneux. (Figure. 27).

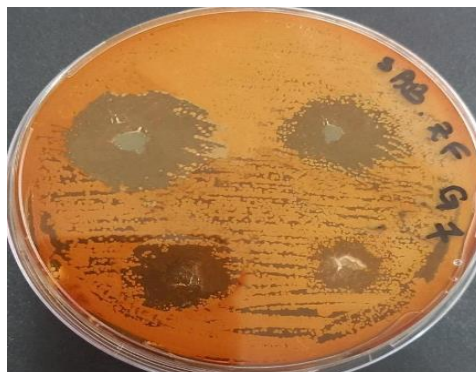


Figure 27 : Antibiogramme d'extrait d'ail à différentes concentrations contre *Candida spp* isolée des feuilles de vigne.

Tableau XXI : Effet de l'extrait d'ail sur *Bacillus sp* isolée de feuilles de vigne terrain plat et sur la levures *candida sp* isolés par les feuilles de terrain montagneux.

Concentration d'ail	Diamètre d'inhibition sur <i>Bacillus spp</i> isolée de feuilles de vigne terrain plat	Diamètre d'inhibition sur <i>Candida sp</i> isolée de feuilles de vigne terrain montagneux
100%	$\text{Ø}=36 \pm 0,01\text{mm}$	$\text{Ø}=31 \pm 0,02\text{mm}$
75%	$\text{Ø}=24 \pm 0,03\text{mm}$	$\text{Ø}=26 \pm 0,01\text{mm}$
50%	$\text{Ø}=10 \pm 0,01\text{mm}$	$\text{Ø}=24 \pm 0,03\text{mm}$
25%	Aucun effet inhibiteur	$\text{Ø}=20 \pm 0,01\text{mm}$

Les résultats du tableau XXI indique que l'extrait d'ail à une concentration de 25% a démontré une inhibition intéressante contre la levure *Candida spp* avec un diamètre d'inhibition de $\text{Ø}=20\text{mm}$. Cette levure peut perturber l'équilibre microbien de la phyllosphère lorsqu'elle domine, ainsi que la santé des plantes.

Plusieurs études ont montré que, les levures du genre *Candida* bien qu'elles soient du microbiote naturel de la phyllosphère, peuvent poser des problèmes lorsque leur population augmente. Cette augmentation peut entraîner, un déséquilibre de la microflore et diminuer la présence de micro-organismes bénéfiques comme les bactéries antagonistes. Cela peut indirectement favoriser les agents pathogènes ou altérer la santé de la plante en facilitant l'installation de pathogènes secondaires tels que comme *Botrytis cinerea* (Setati et al., 2012 ; Pinto et al., 2014 ; Barata et al., 2012).

De plus, Borlinghaus et *al.* (2014), ont souligné que l'efficacité antimicrobienne de l'ail qui peut varier selon le mode de préparation et la concentration utilisée. A forte concentration pourrait constituer un agent de biocontrôle naturel potentiel pour limiter le développement de de certaines espèces tout en préservant les souches bénéfiques par un ajustement des doses.

III.3.3. Effet des extraits végétaux (ail et feuilles de vigne) sur les germes pathogènes de référence

3.1. L'extrait de feuilles de vigne

Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles de vigne qui a été réalisé contre 4 souches.

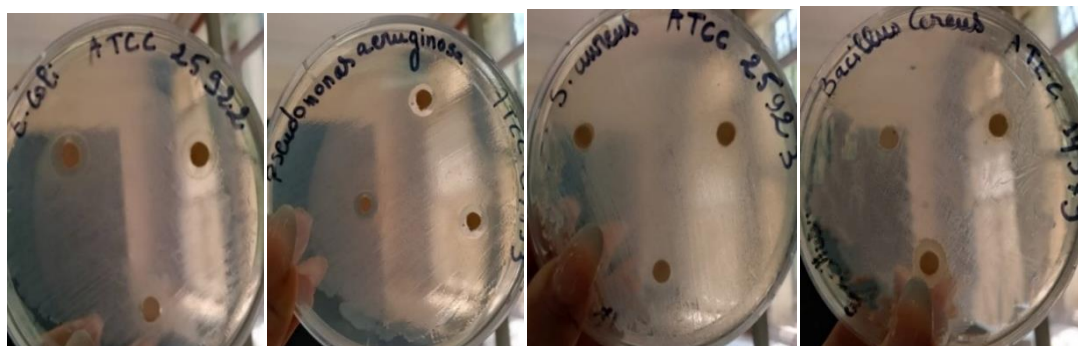


Figure 28 : AntibioGramme de l'extrait de feuilles de vigne sur les souches de références.

L'extrait de feuilles de vigne présente une activité modérée contre les bactéries Gram négatives principalement *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. En revanche l'effet antibactérien était limité ou absent contre les bactéries Gram positives. Cette inhibition s'explique par l'effet des polyphénols spécifiques qui altèrent la membrane externe des bactéries Gram - (Daglia, 2012). Par ailleurs, l'extrait de feuilles de vigne a démontré une activité sélective contre les bactéries Gram négatives, attribuée sa forte concentration en polyphénols. Cela ouvre la voie à des approches combinatoires en protection biologique (Sharma et *al.*, 2020) en accord avec les résultats de Mihailović et *al.*, (2016) concernant les extraits de raisin riches en polyphénols.

Tableau XXII : Effets d'extait de feuilles de vigne sur les germes pathogènes de références.

Souches testées	Diamètre moyen (mm)
<i>Escherichia coli</i>	11 ± 0,02
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12 ± 0,01
<i>Staphylococcus aureus</i>	0mm
<i>Bacillus subtilis</i>	0mm

Les résultats du tableau XXIII montrent que l'extrait d'ail à des concentrations ($\leq 25\%$), peut éliminer efficacement les pathogènes (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) et même pour la levure *Candida* isolée à partir des feuilles de vigne de terrain montagneux, tout en préservant les *Bacillus sp* utiles (Fig. 29). Ces résultats coïncident avec ceux d'Ankri et Mirelman, (1999) qui ont mis en évidence l'efficacité de l'allicine de l'ail contre de nombreuses bactéries pathogènes.



Figure 29 : AntibioGramme d'ail à différentes concentrations sur les germes pathogènes de références.

L'ensemble de ces résultats souligne l'importance des agents de biocontrôle et les extraits naturels afin de réduire l'utilisation des pesticides. Cela est en accord avec les recommandations de Pertot et al. (2017), qui préconisent d'intégrer le biocontrôle dans la gestion durable des maladies de la vigne. Ces résultats ont été confirmés dans la littérature (Ankri & Mirelman, 1999) et aussi par la recherche qui a été menée par Shobana & Naithani, (2015) a démontré que l'extrait aqueux d'ail inhibe la croissance de *Bacillus cereus* avec un diamètre moyen de la zone d'inhibition supérieure à 15mm à une concentration de 100mg / ml, ce qui est attribuée à l'action des composés soufrés sur la membrane cytoplasmique.

Tableau XXIII : Effet d'extrait d'ail sur les germes pathogènes de référence.

Souches testées	Concentrations d'extrait d'ail testées			
	100%	75%	50%	25%
<i>Escherichia coli</i>	16 ± 0,01mm	12 ± 0,04mm	11 ± 0,01mm	8 ± 0,01mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Aucune zone d'inhibition	Aucune zone d'inhibition	Aucune zone d'inhibition	Aucune zone d'inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i>	36 ± 0,02mm	31 ± 0,02mm	27 ± 0,02mm	20±0,01mm
<i>Bacillus subtilis</i>	37± 0,01mm	33 ± 0,03mm	32 ± 0,01mm	26±0,03mm
<i>Candida sp</i>	31± 0,02mm	26 ± 0,01mm	24 ± 0,03mm	20± 0,04mm

Conclusion

L'agriculture moderne fait face à la nécessité de la productivité et la durabilité, ce qui confère au biocontrôle de la vigne un rôle stratégique majeur dans la réduction des intrants chimiques tout en préservant la santé des écosystèmes

L'ensemble des analyses physico-chimiques, biochimiques, microbiologiques et spectroscopique réalisées dans cette étude révèle une interaction complexe entre les conditions climatiques, la composition biochimique des jeunes feuilles et âgées de vigne et la diversité microbienne associée qu'est influencée par le stress environnemental, l'âge de la culture et la dose des pesticides utilisés.

Les résultats de ces analyses montrent qu'avec l'âge et la quantité des produits chimiques, la vigne renforce les métabolites secondaires face aux stress du milieu et une altération significative de la flore bénéfique, notamment les bactéries lactiques et les *Bacillus spp.*, parmi les agents de biocontrôle, alors que les jeunes vignes non traitées de sol plat favorisent la photosynthèse avec une biodiversité microbienne. Ainsi que, le potentiel des biopesticides naturels à base de plantes, en particulier l'ail et la vigne contre les agents pathogènes constitue une démarche de biocontrôle durable.

Ces résultats soulignent la double importance de la flore microbienne bénéfique dans la vigne, non seulement pour la santé des sols et des plantes mais également comme barrière naturelle contre les agents pathogènes. La déstabilisation de cet équilibre par les pesticides chimiques expose les anciennes cultures à des déséquilibres écologiques et phytosanitaires. L'intégration de biopesticides d'origine végétale comme l'ail qui est une plante commune et une source de plusieurs phytonutriments et qui est utilisé dans le traitement et la prévention de nombreuses maladies, également dans les pratiques agricoles représente ainsi une alternative prometteuse, permettant de concilier la productivité et la préservation de l'écosystème microbien naturel.

Perspectives

Il serait intéressant dans la continuité de ce travail de :

- Caractériser de manière moléculaire les souches bénéfiques isolées pour mieux comprendre leur rôle fonctionnel.
- Évaluer l'efficacité combinée de *Bacillus spp.* et des extraits végétaux en conditions de terrain sur vigne.

- Développer des biopesticides à base d'extrait d'ail seuls ou en synergie avec des souches de *Bacillus* comme agents antagonistes naturels contre les pathogènes de la vigne.

Enfin, des recherches complémentaires sur d'autres extraits végétaux et formulations permettront de diversifier les solutions naturelles dans le cadre d'une viticulture durable et pour diversifier les solutions de biocontrôle. Et l'étude des molécules ayant une haute valeur comme l'allicine qui sera ajoutée aussi en pharmacologie.

*Références
bibliographiques*

1. Antoine Murisasco. Pesticides et effets sur la santé des travailleurs : exemple de la viticulture en Gironde. Sciences du Vivant [q-bio]. 2023. ffdumas-04113103.
2. Aubertot J.N., Barbier J.M., Carpentier A., Gril J.J., Guichard L., Lucas P. et al., 2005. Pesticides, agriculture et environnement : réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Expertise scientifique collective. Paris : Institut national de la recherche agronomique ; Antony : Cemagref, 902 p.
3. Balogh B, Nga NTT, Jones JB. (2018). Relative level of bacteriophage multiplication in vitro or in phyllosphere may not predict in planta efficacy for controlling bacterial leaf spot on tomato caused by *Xanthomonas perforans*. *Frontiers in Microbiology* 9.P10
4. Basler, A. (2000). L'environnement international pour le développement de l'arboriculture et de la viticulture en Algérie. 70p.
5. Beattie, G.A. Lindow, S.E. (1999). Bacterial colonization of leaves: a spectrum of strategies. *Phytopathology* 89, (5), P 353–359.
6. Belaid Dj., 2017. ALGERIE : renouveau de la viticulture. Collection Brochure Agronomiques : p.1-23.OIV, 2018
7. Belhout, M. T. (1990). Le secteur viticole et vinicole en algérie: marché interne et commerce international. Consulté le 12/08/2022 sur https://newmedit.iamb.it/share/img_new_medit_articoli/510_33taieb.pdf
8. Bertaudeau J., 1990. Atlas d'arboriculture fruitière. 3ème édition, Lavoisier TEC & DOC, Paris, France, 263p.
9. Bioallied Sciences, 4(2), 52-59. Smith, B.C. (2011). Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach. CRC Press. Yamaguchi, I. (2013). Mode of Action of Triazole Fungicides. *Pesticide Science*, 15(2), 171-178.
10. BLOESCH B. et VIRET O., 2008. Stades phénologiques repères de la vigne. *Viticulture Arboriculture Horticulture*, vol 40 (n°6), I-IV
11. Bouard, J. (1970). Observations nouvelles sur les vrilles de la *Vitis vinifera* L. et sur les différentes parties qui les constituent. *C. R. Acad. Sc., Paris*, t. 271 : 191-195 p.
12. Bouby, L., et Terral, J. (2010). La vigne sauvage (*Vitis vinifera* L.) : une plante cultivée dans les établissements de la Narbonnaise. *Exploitation Du milieu et gestion Des ressources végétales De la préhistoire à nos jours*. Ed. APDCA, Antibes. 12 P.
13. Bousquet, P. (2021). Evaluation de l'efficacité des moyens de lutte biologiques contre Eudémis (*Lobesia botrana* Den. Ey Schiff.) au sein de la société Coopérative Agricole

- Les Vignerons du Madiran. [Mémoire de fin d'étude). L'institut Agro. Madiran. P 21-25
14. Boussaada, O., et al. (2015). Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier : applications en chimie des matériaux et dans l'identification des composés organiques. *Revue des Sciences Chimiques*, 20(2), 45-52.
 15. BRETAUDEAU et FAUVE J., 1990. Atlas de l'arboriculture fruitière. Vol 4. 263p.
 16. Bringel, F. Couée, I. (2015). Pivotal roles of phyllosphere microorganisms at the interface between plant functioning and atmospheric trace gas dynamics. *Frontiers in Microbiology* 6, 486
 - Beattie GA. Lindow, SE. (1999). Bacterial colonization of leaves: a spectrum of strategies. *Phytopathology* 89.P 353–359.
 17. Campbell A., Voynaud L. et Hébert-Haché A. 2024. Trousse de gestion intégrée des ennemis des cultures en vignoble – Fiche 5 : Pourritures de fin de saison. CRAM, Mirabel, Québec, 5 p
 18. Carisse, O., Bacon, R., Lasnier, J., Lefebvre, A., Levasseur, A., Rolland, D., et Jobin, T. (2009). Gestion raisonnée des principales maladies de la vigne au Québec. Publication d'AAC 10372F. Numéro du catalogue A52-146/2009F-PDF. Canada. 40p
 19. CARRIER G., 2011. Bases moléculaires de la variation clonale chez la vigne (*Vitis vinifera* L.) approche pangénomique. Thèse Doctorat en Biologie. Montpellier. 138.
 20. Champagnol F., 1984. Elément de la physiologie végétale et viticulture générale 351p
 21. CHAUVET M. et REYNIER A., 1979. Manuel de viticulture. Collège d'Enseignement Agricole. Ed. Paris Bailliere. 351
 22. Clifford Louime, Hemanth Kn. Vasanthaiah, Sheikh M. Basha & Jiang Lu (2010) Perspective of Biotic and Abiotic Stress Research in Grapevines (*Vitis* sp.), *International Journal of Fruit Science*, 10:1, 79-86, DOI: 10.1080/15538361003676819
 23. Clippinger et al., 2024 Clippinger, A., Liu, Z., & Zhang, J. (2024). The role of *Bacillus* spp. as biocontrol agents in sustainable
 24. Cordeau, J. (1998). Création d'un vignoble. Greffage de la vigne et porte-greffes. Elimination des maladies à virus. Ed. Féret_Bordeaux. p 182
 25. Cordier, T. Robin, C. Capdevielle, X. Fabreguettes, O. Desprez-Loustau, M-L. Vacher, C. (2012). The composition of phyllosphere fungal assemblages of European beech (*Fagus sylvatica*) varies significantly along an elevation gradient. *New Phytologist*, 196(2). P 510-519
 26. Crespy A., 1992 : Viticulture d'aujourd'hui. Edit. Lavoisier Tec., et Doc., 3-29 p.

27. CRESPIY A., 1992. Viticulture d'aujourd'hui (éd.2ème). Edit., TEC et DOC, 175p.
28. Deloire A., 2008. Irrigation de la vigne. (Sup Agro, Montpellier).
29. Dubos, B. (2002). Maladies cryptogamiques de la vigne 2nd. ED. Féret Eds. P 208
30. DUTEAU J., GUILLOUX M. et SEGUIN G., 1981. Influence des facteurs naturels sur la maturation du raisin, en 1979, à Pomerol et Saint-Émilion. *Connaissance Vigne Vin*, 3, 1-27.
31. EL-HEIT K., LAUCOU V., LAIADI Z., BELARBI B., HAMAMA A., LACOMBE T., BOURSIQUOT J. M., DERRIDJ A. et THIS P., 2003. Caractérisation ampélographique, ampélographique et moléculaire de la diversité des *Vitis vinifera* autochtones de la Kabylie en Algérie. *Laboratoires des Ressources Naturelles : Viticulture/Arboriculture. Faculté des Sciences Agronomiques et des Sciences biologiques. UMMTO, Algérie.* 10p
32. Enfin, FT. (1955). L'incidence saisonnière de *Sporobolomyces* sur les feuilles de céréales. *Transactions de la British Mycological Society.* 38 (3). P 221-239.
33. EYNARD I., 1990. La viticulture dans le monde. Cours de Viticulture, IAM (Bari), Italie. 18 pages
34. FAOstat, (2012). Food and Agriculture Organisation. Statisticsdatabase, 2012.
35. Fournioux JC, Adrian M., 2011. Morphologie et anatomie de la vigne. Collection des Usuels Féret de la Vigne et du Vin. Editions Féret, Bordeaux, 143 p
36. Gajdoš Kljusurić, J., Čakar, U., Tomašević, M. et al. Antioxidants, 2023.
37. GALET, P. (1977). *Les maladies et les parasites de la vigne*. Ed Galet P, Paris, Tome 1, 871p.
38. Galet, P. (1982). *Les maladies et les parasites de la vigne. Tome II : Les parasites animaux*. Imprimerie du Paysan du midi, Montpellier, France.
39. Galet, P. (1985). *Précis d'Ampélographie pratique*. Edit. Déhan, Montpellier, 256 p.
40. Galet, P. (1988). *Précis de viticulture*. Edit., Déhan, Montpellier, 612p
41. Galet, P. (1993). *Précis de viticulture*. 6ème édition, Edit. Déhan, Montpellier, 575-582p.
42. Galet, P. (1998). *Précis de viticulture (7e éd.)*. Déhan, Montpellier, 561p.
43. Galet, P. (2000). *Dictionnaire encyclopédique des cépages*, Hachette. 935p.
44. Galet, P. (2000). *Précis de viticulture*. 7e éd. France. 602p
45. Guiraud, J.P. (1998). *Microbiologie Alimentaire*. Dunod (Ed.), Paris, France. 652 p.
46. Hallmann, J., Mahaffee, W.F., Kloepper, J.W. (1997). *Bacterial endophytes in agricultural crops*. *Canadian Journal of Microbiology* 43(10), p. 895–914.

47. Huglin, P. & Schneider, C. (1998). *Biologie et écologie de la Vigne*. Edit. Tec & Doc, Paris, 370-374p
48. Huglin, P. & Schneider, C. (1998). *Biologie et écologie de la vigne*, 2e éd. Lavoisier TEC & DOC. N° 260. Paris. 370p
49. INRA (2014). *Filière Vigne et produits de la Vigne : Analyse des voies de progrès en agriculture conventionnelle*.
50. Kadivar, H. & Stapleton, A. E. (2003). *Ultraviolet radiation alters maize phyllosphere bacterial diversity*. Microbial Ecology 45 (4), p. 353–361.
51. Kamal, A., Mian, I. A., Akbar, W. A., Rahim, H. U., Irfan, M., Ali, S., Alfrefael, A. F., & Zaman, W. (2023). Effects of soil depth and altitude on soil texture and soil quality index Applied Ecology and Environmental Researc, 21(5), 4135-4154.
52. Kappel, C. D. (2010). *Biologie intégrative du métabolisme de la baie de raisin*. Thèse de doctorat n°1793 en sciences, technologie, santé. Université de Victor SEGALEN Bordeaux 2. France. 177p
53. Kinkel, L.L. (1997). Microbial population dynamics on leaves. Annu Rev Phytopathol 35. p. 327–347
54. Kuzmanovska, M., Gjorgovska, N. & Mihajlovski, J. (2023). Bacillus spp. – A potent biological control agents against downy mildew of grapevine. Conference paper.
55. Lamb, T.G., Tonkyn, D.W. & Kluepfel, D.A. (1996). Movement of Pseudomonas aureofaciens from the rhizosphere to aerial plant tissue. Can J Microbiol 42(11), p. 1112–1120
56. Larignon, P. (2016). *Maladies cryptogamiques du bois de la vigne : symptomatologie et agents pathogènes*, 20e édition, 168p. <https://www.vignevin.com>
57. Larpent, J.P. (1997). *Microbiologie alimentaire*. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. p. 10–72.
Larpent, J.P. (1990). Les fermentations alimentaires. In *Microbiologie alimentaire*, Technique & Documentation, Lavoisier, Apria, 02 :3–17.
58. Leenhardt, S., Mamy, L., Pesce, S., Sanchez, W., Amichot, M., Artigas, J. et al. (2022). Impacts des produits phytopharmaceutiques sur la biodiversité et les services écosystémiques. Synthèse de l'expertise collective. Paris : INRAE-Ifremer, 136p
59. Lefebvre & Rolland (2006). *Guide de gestion raisonnée des principales maladies de la vigne dans l'est du Canada*.
60. Lehad, A. (2012). *Étude du complexe viral associé à l'enroulement foliaire de la vigne en Algérie*. Mémoire Magister : Biotechnologies Végétales. ENSA, 64p

61. Lehad, A. (2016). Étiologie et épidémiologie de la maladie de l'enroulement foliaire de la vigne en Algérie. Thèse Doctorat : Biotechnologies Végétales. ENSA, 75p
62. Lepinary, C. (2013). Étude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes, au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation environnementale. Thèse : Écologie microbienne. Université de Bourgogne. p. 35–39
63. Levadoux, L., Ben Abdrabou, A. & Douaouri, B. (1971). Ampélographie algérienne : cépages de cuve et de table cultivés en Algérie. Ed. SNED, Alger. 188p
64. Lindemann, J., Constantinidou, H.A., Barchet, W.R. & Upper, C.D. (1982). *Plants as sources of airborne bacteria, including ice nucleation-active bacteria*. Appl Environ Microbiol 44(5), p. 1059–1063
65. Lindow, S.E. & Brandl, M.T. (2003). *Microbiology of the phyllosphere*. Applied and Environmental Microbiology 69, p. 1875–1883
66. Louvieux, J. (2004). Mesure de l'efficacité d'extraits d'algues sur la vigne (*Vitis vinifera* L.) en conditions contrôlées et au vignoble, validée par la mesure de l'activité photosynthétique et les analyses chimiques. Mémoire d'Ingénieur en agronomie. Université Libre de Bruxelles (ULB), Belgique. 221p
67. Macary F., coord., 2023. Pesticides en viticulture. Usages, impacts et transition agroécologique, éditions Quæ, Versailles, 232 p.
68. Manceau, C.R. and Kasempour, M.N. (2002). Endophytic versus epiphytic colonization of plants: what comes first? In *Phyllosphere Microbiology* ed. Lindow, S.E., Hecht-Poinar, E.I. and Elliott, V.J. pp. 115–123 St Paul, USA: APS Press.
69. MARCHIVE C., 2006. Identification et caractérisation fonctionnelle d'un gène codant un facteur de transcription de type WRKY chez la vigne. Thèse doctorat. Université de Bordeaux 1. France. 152 p.
70. Ménard, C., Fadlaoui, S., & Binet, F. (2023). *Effects of pesticides on soil microbial diversity and functions in vineyards: A meta-analysis*. *Journal of Applied Ecology*.
71. Meng, B., Maztelli, G., Galino, D., Fuchs, M. (2017). *Grapevine viruses: Molecular biology, diagnostics and management*. In *The grapevine viticulture and wine making*. Springer International Publishing. Switzerland. P3-31.
72. Microbiologie clinique (2021). *Coloration de Gram* [en ligne]. (Page consultée en 2021). <https://microbiologie-clinique.com/Coloration-Gram.html>
73. Mion, S., Rémy, B., Plener, L., Chabrière, E., Daudé, D. (2019). *Quorum sensing et quorum quenching : comment bloquer la communication des bactéries pour inhiber leur virulence ?* *Med Sci. Paris*, 35. P31-38.

74. Naczk, M., & Shahidi, F. (2006). *Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523-1542.
75. Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., & Hens, L. (2016). *Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture*. *Frontiers in Public Health*, 4, 148.
76. OIV (2013). *La superficie et la production des vignobles et la production de vin dans le monde*.
77. OIV (2020). *Note de conjoncture vitivinicole mondiale* [en ligne]. <https://www.oiv.int/public/medias/7899/oiv-note-de-conjoncture-vitivinicole-mondiale2020.pdf>
78. Ollat N., Kremer A. (2013). Chapitre 5 : *Agriculture et forêts*. In Le Treut H. (dir.), *Les impacts du changement climatique en Aquitaine*. Pessac : Presses universitaires de Bordeaux, Laboratoire de géographie physique appliquée, 107-154. <https://doi.org/10.4000/books.pub.642>
79. Parker, R. (2021). *Climat pour le vin* [en ligne]. (Page consulté le 04-08-2021). <https://www.oenologie.fr/climat-pour-le-vin/amp>
80. Pépinières, B. (2019). *Où peut-on planter une vigne ? Température, altitudes, pluviométrie* [en ligne]. (Page consulté le 12/7/2021). <https://viticulturevignoble.fr/ou-peut-on-planter-vigne.html>
81. PEROS JP., BERGER G., PORTEMONT A., BOURSIQUOT JM., et LACOMBE T. (2010). Genetic variation and biogeography of the disjunct *Vitis* subg. *Vitis* (vitaceae). *Journal of Biogeography*, 38(3), 471-486.
82. Pierdet M. (2020). *Évolution spatiale et temporelle de la mobilité des contaminants organiques et inorganiques dans des sols viticoles contrastés*. Thèse de doctorat, université de Bordeaux, 368 p.
83. Ponce, A. G., Fritz, R., Delvalle, C. & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard.
84. Prashant S., Alex G., Sylvain S., Lars H. H., Jean-Pierre P. (2018). Assessing the impact of plant genetic diversity in shaping the microbial community structure of *Vitis vinifera* phyllosphere in the Mediterranean. *Frontiers in Life Science*, 11(1), 35–46.
85. Provost C., Campbell A., Carisse O., Voynaud L. et Hébert-Haché A. (2024). *Trousse de gestion intégrée des ennemis des cultures en vignoble – Fiche 5 : Biofongicides*. CRAM, Mirabel, Québec, 4 p.

86. Provost C., Voynaud L. et Hébert-Haché A. (Éds). (2024). *Trousse de gestion intégrée des ennemis en vignoble*. Centre de recherche agroalimentaire de Mirabel, Québec, Canada, 35 p.
87. Redford, A. J. & Fierer, N. (2009). Bacterial succession on the leaf surface: A novel system for studying successional dynamics. *Microbial Ecology*, 58, 189–198.
88. Renouf V., Claisse O., Lonvaud-Funel A. (2008). Understanding the microbial ecosystem on the grape berry surface through numeration and identification of yeast and bacteria. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(3), 316–327.
89. Reynier A. (1991a). Manuel de viticulture (6e éd.). J.B. Baillière, Paris, 365 p.
90. Reynier A. (1991b). Manuel de viticulture. Éd. Lavoisier, Paris, 285–288 p.
91. REYNIER A. (2003). Manuel de viticulture (9e éd.). TEC et DOC, Paris, 549 p.
92. Reynier A. (2007). *Manuel de viticulture* (10e éd.). Lavoisier Tec & Doc, Paris, 600 p.
93. Reynier, A. (2005). Manuel de viticulture (9e éd.). Lavoisier Tec & Doc, Vol. 1, n° 626, France, 554 p.
94. Riaz, S., Delorenzis, G., Velasco, D., Koehmsteat, A., Maghradze, D., Bobokashvi, Z., Musayev, M., Zdunic, G., Laucou, V., Walker, A., Failla, O., Preece, J., Anadhya, M., & Annoyo-Gracia, R. (2018). Genetic diversity analysis of cultivated and wild grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions around the Mediterranean basin and Central Asia [en ligne]. *BMC Plant Biology*, 18.
95. Ribereau-Gayon J. & Peynaud E. (1971). *Sciences et techniques de la vigne*, Tomes 1 et 2. Éditions Dunod.
96. SAHALI N. 2023. La viticulture algérienne durant la période 2000-2020, quels enseignements ? *Revue des additions économiques* 7 (01) : 764-783.
97. SAHRAOUI F. 2006. Dépistage et diagnostic des maladies de dépérissement de la vigne (Eutypiose et viroses) dans quelques vignobles algériens. Thèse de Magister de l'Université Saad Dahleb de Blida, 116p.
98. Sapp, M. Ploch, S. Fiore-Donno, AM. Bonkowski, M. Rose, LE. (2018). Protists are an integral part of the *Arabidopsis thaliana* microbiome. *Environmental Microbiology* 20. P 30–43
99. Sebki S., El Heita K., Hamama A., Meghezzi S., Agouazi O., Cherfaoui M.S., 2014. Evaluation de la sensibilité des cépages autochtones Algériens au phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae*). 37th World Congress of Vine and Wine and 12th General Assembly of the OIV, 05003: p 1-4

100. SEGUIN G, 1975. Alimentation en eau de la vigne et composition chimique des moûts dans les Grands Crus du Médoc. Phénomènes de régulation. *Connaissance Vigne Vin*, 9, n°1,23-34
101. SEGUIN G., 1986. «Terroirs» and pedology of winegrowing. *Experientia*, 42, 861-873
102. Shivas, RG. Brown, JF. (1984). Identification and enumeration of yeasts on *Banksia collina* and *Callistemon viminalis* leaves. *Transactions of the British Mycological Society* 83. P 687_689
103. Silva, L. C., et al., *Frontiers in Plant Science*, 2022.
104. SIMON J-L., EGGENBERGER W., KOBLET W., MISCHLER M. et SCHWARZENBA CH. J., 1992. *Viticulture*. 3ème Ed. Payot Lausanne la Maison Rustique. Paris. 223p
105. Simon, J. L., Eggenberger, W., Koblet, W., Mischler, M. et Schwarzenba, CH. J. (1992). *Viticulture*. 3ème Ed. Payot Lausanne la Maison Rustique. Paris. 223p.
106. Singh, P. Santoni, S. Weber, A. This, P. Péros J.P. (2019). Understanding the phyllosphere microbiome assemblage in grape species (Vitaceae) with amplicon sequence data structures, *Scientific Reports* [en ligne]. 9(1) : 14294
107. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
108. Stewart, D., et al. (1997). Fourier-transform infrared spectroscopy of functional groups in the cell walls of plants. *Plant Physiology*, 115(4), 1463-1471.
109. Stuart, B. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. Wiley.
Coates, J. (2000). Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*.
110. Suslow, T.V. (2002). Production practices affecting the potential for persistent contamination of plants by microbial foodborne pathogens. In *Phyllosphere Microbiology* ed. Lindow, S.E. Hecht-Poinar, E.I. and Elliott, V.J. pp. 241–256 St Paul, USA: APS Press.
111. Thompson, IP. Bailey, MJ. Fenlon, JS. Fermor, TR. Lilley, AK. Lynch, JM. McCormack, PJ. McQuilken, MP. Purdy, KJ. Rainey, PB, et al. (1993). Quantitative and qualitative seasonal changes in the microbial community from the phyllosphere of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Plant and Soil* 150.P 177–191

112. Toumi, M. (2006). Evaluation de l'état nutritionnel du vignoble de table. Thèse de doctorat d'Etat en sciences agronomiques. Institut National Agronomique El Harrach. Alger
113. Trouvelot, S. Héloir, M-C. Poinssot, B. Gauthier, A. Paris, F. Guillier, C. Combier, M. Trdã, L. Daire, X. Adrian, M. (2014). Carbohydrates in plant immunity and plant protection: roles and potential application as foliar sprays. *Frontiers in Plant Science* 5. P1–14
114. Veit, M., & Pauli, G. F. (1999). Major flavonoids from grape leaves. *Journal of Natural Products*, 62(10), 1305-1306.
115. Venette, J.R. and Kennedy, B.W. (1975). Naturally produced aerosols of *Pseudomonas glycinea*. *Phytopathology* 65.P 737–738.
116. Videau J, CharmontS, Wagner R., 1993. Le raisin de table. CTIFEL, Ed Tec et Doc, Lavoisier. 263 pages.
117. Vidoud J., 1993. Raisin de table, 263p.
118. VILLA P., 2005 ; La culture de la vigne. Ed. Vecchi S.A. Montmartre. Paris. 151p
119. Whipps, J. M., Hand, P., Pink, D., & Bending, G.D. (2008). Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. *Journal of Applied Microbiology* [en ligne], 105(6), 1744–1755.
120. Wiley. Naumann, D. (2000). Infrared spectroscopy in microbiology. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Wiley.
121. Zaïka, L.L. (1988). Spices and Herbs: their antimicrobial activity and its determination. *Journal of Food Safety*, 9 : 97-117.

Annexes

Annexe 01 : Matériel, réactifs et solutions chimiques utilisés

Matériel et appareils	Réactifs et solutions chimiques
Balance analytique de précision	NaOH (0,1 N),
Béchers, erlenmeyers, flacons, tubes à essai,	Phénolphtaléine, Bleu de méthylène
Spectrophotomètre UV-Visible	Chlorure d'aluminium (AlCl ₃),
Bains-marie, bec bunsen, pince, anse, lames et lamelles,	Eau distillée
Agitateur magnétique	L'acétone, l'éthanol, le méthanol, l'hexane
Creusets en porcelaine	Réactif de Folin-Ciocalten's
Etuve, Dessiccateur, Capsules vides.	Solution de carbonate de sodium à 20 %
Éprouvettes et pipettes graduées Verres de montre et ampoule à décanter	Réactif du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle),

Annexe 02 : Composition des milieux de culture :**I- Milieu d'isolement : Milieu M17****Utilise pour la culture des lactocoques :**

- Extrait de viande 5g
- Extrait de levure 2,5 g
- Acide ascorbique 0,5g
- Peptone de soja5g
- B-glycérophosphate..... 19g
- Peptone papistique de viande 2,5g
- Sulfate de magnésium 0,25g
- Sulfate Lactose5g
- Peptone triasique de caséine2,5g
- Agar18g
- Eau distillée..... 1000ml

On ajuste le pH à 7,2 Autoclave 20 min à 120°C.

Milieu MRS Utilise pour la culture des lactobacilles.

- Peptone10g
- Extrait de viande 8g
- Extrait de levure.....4g
- Glucose..... 20g
- Phosphate di potassique.....2g
- Acétate de sodium..... 5g
- Citrate d'ammonium..... 2g
- Sulfate de magnésium, 7H₂O..... 0,2g
- Sulfate de manganèse, 4H₂O..... 0,05g
- Tween 80..... 1ml
- Agar..... 18g
- Eau distillée..... 1000ml

On ajuste le pH à 6,5 Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

II- Les diluants :

Eau physiologique : Utilise pour la réalisation des dilutions.

- Chlorure de sodium..... 9g
- Eau distillée.....1000 ml
- Stérilisation à 120°C pendent 20 min.

Annexe 03 : Coloration de Gram :

Mode opératoire :

- Réaliser un frottis ou un étalement.
- Fixer la préparation à la flamme,
- Sécher soigneusement puis laisser refroidir la lame.
- Immerger la lame dans la solution de Cristal violet pendant 1 mn.
- Immerger la lame dans Lugol 30 seconde.
- Décolorer jusqu'à disparition de la couleur violette dans l'alcool en faisant couler goutte à goutte sur la lame inclinée.
- Rincer à l'eau
- . Colorer avec la solution de Fuchsine pendant 1mn.
- Laver à l'eau.

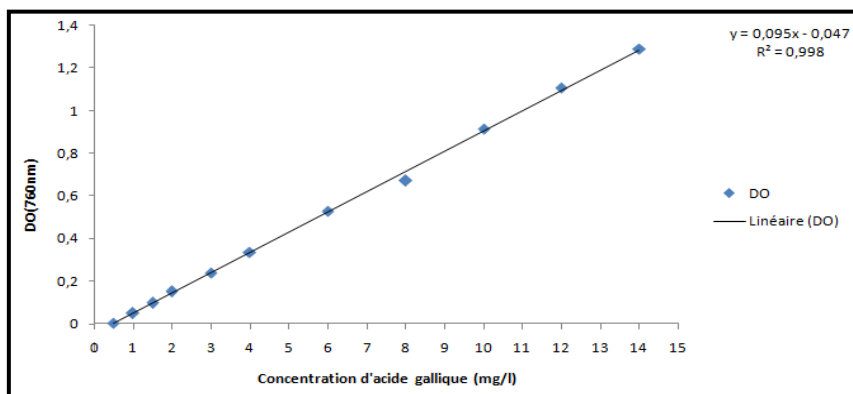
- Observer à l'objectif X 100, en immersion avec l'huile.

1. **Résultat** : Les bactéries Gram+ sont colorées en violet, les bactéries Gram- sont colorées en rose.

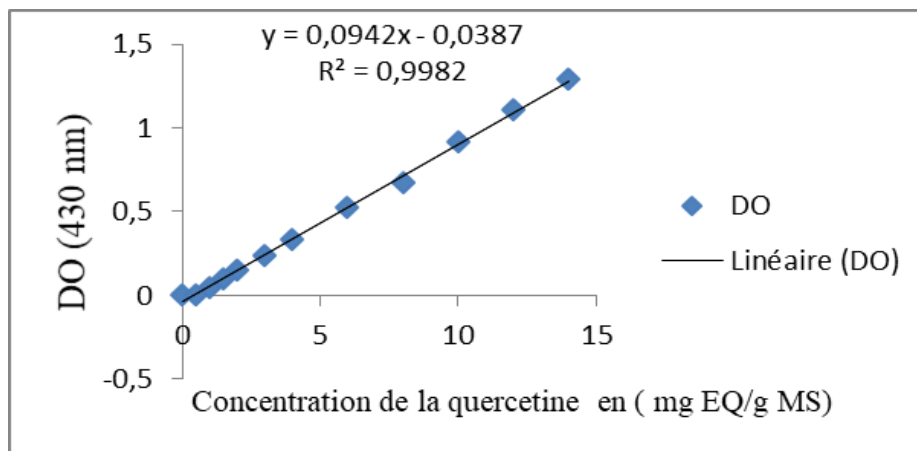
Annexe 04 : Résultat des analyses physico-chimiques

➤ Les courbe d'étalonnages

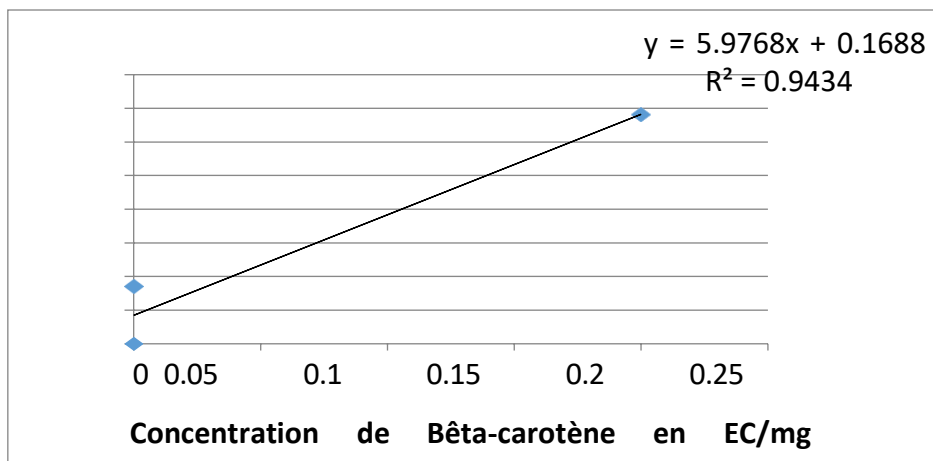
- Analyse des polyphénols totaux



- Les flavonoïdes :

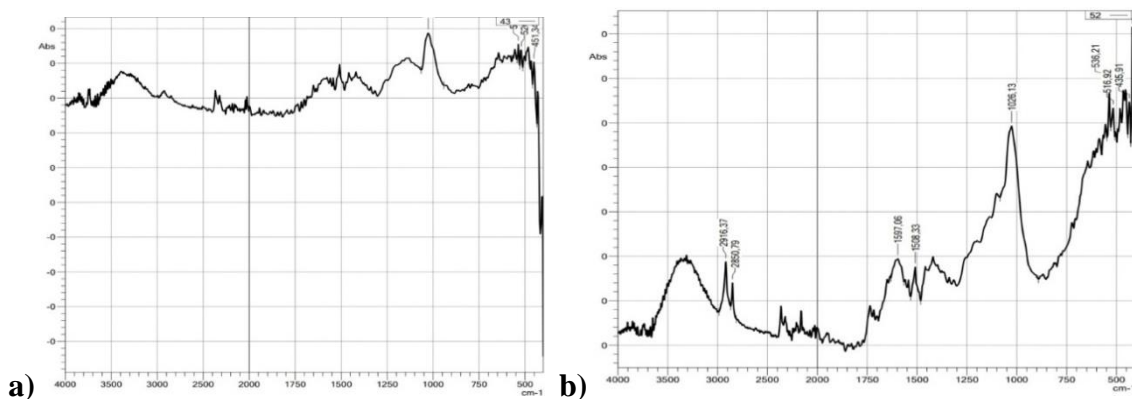


- Les caroténoïdes

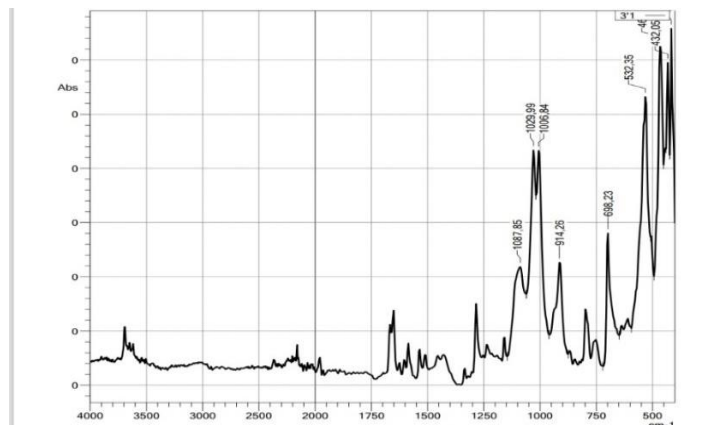


Annexe 04 : Résultat des spectroscopie Infra-rouge

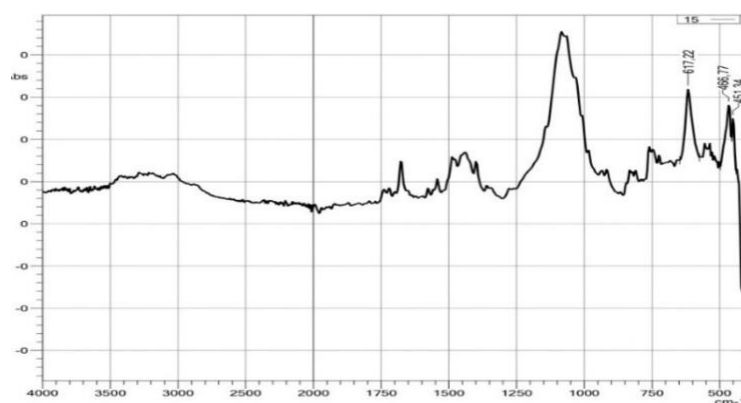
- Analyse FTIR des feuilles de vigne (a) : culture jeune – terrain plat) ; (b) : culture âgée– terrain montagneux)



- Analyse par Spectroscopie Infrarouge du pesticide "Aktuan"



- **Analyse par Spectroscopie Infrarouge du pesticide "Bellis"**



- **Analyse par Spectroscopie Infrarouge du pesticide "Thiovit jet"**

