

UNIVERSITE DE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des sciences agro-vétérinaires

Département des sciences agronomiques

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité: Production végétale

Option : Amélioration des productions végétales

**DEPISTAGE ET DIAGNOSTIC DES MALADIES DE
DEPERISSEMENT DE LA VIGNE (EUTYPIOSE ET VIROSES)
DANS QUELQUES VIGNOBLES ALGERIENS**

Par

Mme AMMAD SAHRAOUI Faiza

Devant le jury composé de

A.BOUTEKRABT	Professeur, U. de Blida	Président
Z.KRIMI	Maître de conférence, U. de Blida	Examinatrice
Z.DJAZOULI	Chargé de cours, U. de Blida	Examineur
H.BELKAHLA	Professeur, U. de Blida	Promotrice
M.BENCHABANE	Maître de conférence, U. de Blida	Co –promoteur

Blida, Septembre 2006

RESUME

Le dépérissement de la vigne est considéré comme un syndrome complexe dont les causes biotiques sont souvent difficiles à élucider. Nos enquêtes épidémiologiques ont concerné trois régions : deux régions à vocation viticole (Mascara et Médéa) et la région de Blida où cette filière commence à prendre de l'importance. Les résultats des diagnostics symptomatologiques ont révélés la présence de diverses catégories de symptômes dans la quasi-totalité des vignobles prospectés ; il s'agit principalement, selon les taux d'infection observés de dépérissement totale (18 % à 24,4 %), dépérissement partiel (2,8 % à 21 %), symptômes typique de court noué (2,4 % à 31%) et de l'eutypiose (14,2 % à 33,8 %).

Les principaux cépages cultivés dans ces régions semblent en totalité atteints par les différents aspects du dépérissement, les taux d'infection, selon l'encépagement sont de : Cabernet sauvignon (2,4 % à 33,8 %), Sultanine (4,6 % à 24,4 %), Dattier de Beyrouth (12,9 % à 22,7 %) et Carignan (17,2 % à 31 %). Pour les deux maladies ciblées par notre étude, leurs incidences varient de 26,10 % à 72,29 % pour l'eutypiose et de 3,16 % à 40,46 % pour le court noué.

Les analyses microbiologiques effectués sur des échantillons de bois de vigne ont permis, même si les procédures d'isolement de l'agent fongique sont difficiles, d'isoler six isolats différents d'*Eutypa lata* spp en se basant sur les caractères macromorphologique et Micromorphologiques. Sur les milieux de culture, malgré la variation des conditions d'incubations (Température, obscurité, humidité...) il n'a pas été possible d'observer des fructifications de ce champignon. L'observation des périthèces n'a été possible que sur des fragments de bois de vigne mis en incubation. Vu la lenteur du développement des symptômes des tests de pathogénicité ont été effectués simultanément sur des plants de vigne, sur des porte greffe, sur des vitro plants et sur des cals. Sur les plants et les portes greffe pas de symptômes notables après 18 mois d'incubation, alors que sur les vitro plants et les cals il a été observé des symptômes d'eutypiose après 10 jours

-

d'incubation. Concernant la détection du court noué, les analyses sérologiques test ELISA, effectuées avec des échantillons de feuilles prélevées sur des ceps en voie de dépérissement, ont révélé la présence du virus (GFLV) avec un taux moyen de 12,5% dans les deux régions Blida et Médéa.

Mots clés: Vigne, Dépérissement, Eutypiose et Court noué.

الملخص

تلف الكروم يعتبر ظاهرة معقدة الإعراض و الأسباب الحيوية صعبة التشخيص . الدراسة الميدانية أجريت في ثلاث مناطق, منطقتي المدية و معسكر المعروفتين بزراعة الكروم و منطقة البليدة أين المساحات المخصصة لهذه الزراعة أصبحت جد مهمة . المتابعة الميدانية لتطور أعراض هذا المرض "تلف الكروم" أظهرت وجود عدة أنواع بنسب متفاوتة خاصة منها:

التلف الكلي (18 الي 4,24%) التلف الجزئي (2,8الى 21 %) المرض الفطري (2,4 الي 31 %) و مرض الفيروس الروحي (14,2 الي 33,8 %) .

أصناف العنب المتواجدة في هذه المناطق مصابة بهذه الاعراض الخلسة بتاف الكروم هي كالتالي:

Cabernet sauvignon, Sultanine, Dattier de Beyrouth et Carignan.

اثو المرضين المعنيين بدراستنا يتراوح: 26,10 إلى 72,29 % بالنسبة للمرض الفطري و بين 3,16 إلى 40,46

التحليل الميكروبيولوجية التي قمنا بها على عينات من خشب الكروم المصابة بالتلف أثبتت وجود الفطر رغم صعوبة عزله من العتاد النباتي . الدراسة المخبرية لهذا الفطر أظهرت صعوبة الحصول على البنيات التكاثرية في الأوساط المغذية رغم اختلاف عوامل و ظروف إنباته و نموه. تم الحصول على هذه البنيات التكاثرية باستعمال قطع خشب الكروم مباشرة في ظروف مخبريه.

للتأكد من أن الفطر له دور في تطور الأعراض المرضية قمنا بحقنه اصطناعيا في ظروف مخبريه لشتلات الكروم العادية و شتلات كروم تم الحصول عليها من الخلايا المرستمة . بعد مدة تزيد عن 18 شهرا لم يتم ملاحظة أعراض خاصة بهذا المرض الفطري في التجارب المجرات على شتلات في حين تحصلنا عليها بعد 10 أيام في التجارب

Vitro plants et les cals المجرات على العتاد النباتي

فيما يخص المرض الفيروسي استعمال الفحص المصلي علي عينات من أوراق الكروم اظهر وجود الفيروس في منطقتي المدية و البليدة.

المفتاح : الكروم- التلف - مرض الفيروس الروحي- المرض الفطري

DEDICACES

A mes parents à qui je dois beaucoup

A mon mari

A mes frères et sœurs

A la famille AMMAD, SAHRAOUI, RAMDHANE, DJAZOULI

AHMED MESSAOUD et SAID

Je dédie ce modeste travail

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer aujourd'hui mes remerciements à Melle BELKAHLA Hadjira d'avoir accepté de diriger ce travail.

Ma profonde reconnaissance à Mr BENCHABANE Messaoudh d'avoir bien voulu diriger mes travaux et d'en être le rapporteur. Je le remercie pour sa contribution enrichissante pour la temps qu'il m' a consacré, pour les conseils qu'il ma prodigués, pour son soutien et ses encouragements.

J'exprime mes vifs remerciements à Mr BOUTEKERABT Ammar qui malgré ses nombreuses occupations m'a fait l'honneur de présider ce jury et d'examiner le travail, qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Mes remerciements vont également à Melle KRIMI Zoulikha , pour sa lecture critique de manuscrit et pour sa participation au jury.

Je tiens à exprimer ma vive gratitude à Mr DJAZOULI Zaherdine , pour l'intérêt qu'il a apporté à mes travaux ,Il m'a beaucoup aidé et encouragé et a accepté avec une grande amabilité de juger mon travail et de participer au jury .

Je remercie Dr LECOMTE .P, chargé de recherche à l'INRA de Bordeaux, de m'avoir Mis à ma disposition une riche documentation.

J'adresse aussi mes vifs remerciements à Mr SADELI directeur de la CRMA de Mascara et Mr BOURENANE Rachid directeur des services agricoles dans la wilaya de Biskra, pour son aide précieuse, son soutien moral.

Je n'oublie pas de remercier Mr Mesbah Cherif , cadre à la chambre nationale de l'agriculture" mon ex DSA" de m'avoir permis de réalise ce Magister.

Je saisi cette opportunité pour remercier Mr KEDDAM pour l'aide qu'il ma apporté à l'avancement de mes travaux en sérologie.

-

Monsieur HAMADOU de la ferme pilote Hamamou de Benchicao;,
Monsieur ADDA et Melle LOUTA de l'ITAF de Mascara, Dr BELARBI de l'INA El
Harrach, Monsieur SADLI Directeur de la CRMA de Bouira, Mr BENKHADA Fouad
, Mr Cheikh pépiniéristes à CHIFFA , Mr ELAICHI, Mr CHILALI et Mr BENOUDA.

Ce travail n'a pu se réaliser sans l'aide technique de Djamilia, Yamina et Samia... des techniciennes de laboratoire au niveau de l'INES d'agronomie .

J'exprime mes vifs remerciements, ma profonde reconnaissance à Raouf technicien en informatique dans la Dsa de Biskra qui ma trop aidé et remercie Mr BENAMAR de m'avoir aidé pour réaliser ce travail

Je ne remcirerai jamais assez Mr AZZI Othmane et Mr MOUMDJI responsables à la DPAT de Blida pour leur aide précieuse

Mes remerciements vont également à mes amies de bureau: Farida, liessa ,Nadjet et Souad qui ont supportée et mon soutenue tout le long de ce travail.

Que tous mes amis plus particulièrement ZAHRA, HAMIDA, FETTOUHA, ZALIKHA et SAMIR.

Que tous mes collègues trouvent ici le témoignage de mon amitié et de ma reconnaissance.

Un grand remerciement à mon frère SIDALI

TABLE DES MATIERES

RESUME	1
REMERCIEMENTS	4
TABLE DES MATIERES	6
LISTE DES ILLUSTRATIONS	7
LISTE DES TABLEAUX	9
INTRODUCTION	10
1 : GENERALITE SUR L'EUTYPIOSE	13
1.1. Importance et historique de la vigne	13
1.2. Les principalement maladies de dépérissement de la vigne	15
1.3. L'eutypiose	16
2 LES PRINCIPALES VIROSES DU DEPERISSEMENT DE LA VIGNE	35
2.1. Le court noué	35
2.2. Enroulement	40
2.3. Marbrure	41
2.4. Méthodes de détection des virus de la vigne	41
2.5. Stratégie de lutte	41
3: MATERIELS ET METHODES	44
3.1. Vignobles étudiées	44
3.2. Evaluation des dépérissements de la vigne	46
3.3. Prélèvement des échantillons	49
3.4. Isolement et recherche de l'agent causal (<i>Eutypa lata</i>)	49
3.5. Détection sérologique ELISA de GFLV	54
3.5. Principe de test ELISA	55
4. RESULTATS ET DISCUSSIONS	57
4.1. Diagnostic et symptomatologies des dépérissements dur terrain	57
4.2. Etat des dépérissements au niveau des vignobles	64
4.3. Interprétation	69
4.4. Caractérisation et identification de l'agent fongique	76
4.5. Interprétation	87
4.6. Test sérologiques	91
4.7. Interprétation	92
CONCLUSION	94
APPENDICES	97
REFERENCES	107

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1.1 : Souche attaquée par l'eutypiose	16
Figure 1.2 : Symptôme d'eutypiose sur feuilles	19
Figure 1.3 : Symptômes d'eutypiose sur les inflorescences	20
Figure 1.4 : Symptômes de l'eutypiose sur grappe	20
Figure 1.5 : Formation de périthèces sur bois	21
Figure 1.6 : Coupe transversale d'un bois atteint par eutypiose	22
Figure 1.7 : Evolution de la nécrose	22
Figure 1.8 : La germination des conidies	24
Figure 1.9 : Fructification d' <i>Eutypa lata</i> (asque et ascospore)	25
Figure 1.10 : Cycle biologique d' <i>Eutypa lata</i>	28
Figure 1.11 : Molécule d'eutypine	29
Figure 1.12 : Mode d'action d' <i>Eutypa lata</i>	30
Figure 2.1 : Symptômes de malformation des feuilles	37
Figure 2.2 : Symptômes de bifurcation des rameaux	37
Figure 2.3: Raccourcissement des entres noeuds, doubles nœuds et fasciation des rameaux	37
Figure 2.4 : Symptômes de la mosaïque jaune	38
Figure 2.5 : Symptômes panachure ordinaires	38
Figure 2.6 : Symptômes microscopiques d'un cordon endocellulaire	39
Figure 2.7 : Symptômes d'une cellule géante	39
Figure 3.1 : Une nécrose de position sectorielle	50
Figure 3.2 : La mise en culture des fragments de bois	50
Figure 3.3: Plant de vigne "Alphonse lavallé" avant inoculation	52
Figure 3.4: plant de vigne Gros noir avant inoculation	52
Figure 3.5 : Plant de vigne " cardinal" avant inoculation	52
Figure 3.6 : Vitro plant "hamr bouamr avant inoculation	53
Figure 3.7 : Vitroplant "Cinsault avant inoculation	53
Figure 4.1 : Nombre importants de cep dépéris	59
Figure 4.2 : Nombre important de manquants	59
Figure 4.3 : Symptômes de l'eutypiose sur un seul bras	60
Figure 4.4 : Symptômes de décoloration des feuilles	61
Figure 4.5: Symptômes de dessèchement	61
Figure 4.6 : Symptômes de l'esca sur cep	62
Figure 4.7 : Symptômes de l'esca sur grappe	63
Figure 4.8 : Apparition de carpophore sur bois	63
Figure 4.9 Pourcentage (%) de ceps atteints de symptômes de l'eutypiose et du court noué	65
Figure 4.10: Coupe transversale d'une nécrose brune et en position centrale	77
Figure 4.11 : Coupe transversale d'une nécrose	77
Figure 4.12 : Coupe longitudinale d'une nécrose	77
Figure 4.13 : Des ponctuations sur bois	78

Figure 4.14: Développement de plusieurs souches fongiques	79
Figure 4.15 : Colonie d' <i>Eutypa lata</i>	79
Figure 4.16 : Observation microscopique d'un mycélium d' <i>Eutypa lata</i>	80
Figure 4.17: Plant de vigne "Muscat" après 18 mois d'inoculation	81
Figure 4.18: Plant de vigne "Cardinal" après 18 mois d'inoculation	81
Figure 4.19: Plant de vigne "Alphonse lavallé" après 18 mois	82
Figure 4.20: plant de vigne "Gros noir" après 18 mois d'inoculation	82
Figure 4.21: Vitro plant "Dattier de Beyrouth" après 10 jours d'inoculation	83
Figure 4.22 : Filaments mycéliens sur vitro plant Formation	83
Figure 4.23 : Filaments mycéliens sur vitro plant	83
Figure 4.24 : Cals "Cinsault" après 10 jours d'inoculation	84
Figure 4.25: Formation des périthèces à la surface du bois morts	84
Figure 4.26: Formation des périthèces à la surface du bois morts sous binoculaire	85

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 15	1.1	:	Situation de la viticulture en Algérie	
Tableau 24	1.2:		La classification d' <i>Eutypa lata</i>	
Tableau 32	1.3	:	La sensibilité des cépages à l'eutypiose	
Tableau 47	3.1	:	Les caractéristiques des sites étudiés	
Tableau 48	3.2	:	Echelle d'évaluation des symptômes d'eutypiose	
Tableau 49	3.3	:	Echelle d'évaluation des symptômes du court noué	
Tableau 66	4.1	:	Taux ^(a) de répartition des différents types de symptômes dans les régions prospectés	
Tableau 67	4.2	:	Taux ^(a) de répartition des différents types de symptômes selon les cépages	
Tableau 68	4.3	:	Taux de répartition différents types de symptômes selon les régions	
Tableau 70	4.4	:	Taux ^(a) d'incidence de deux type de maladies (eutypiose et court noué)	
Tableau	4.5	:	Nombre de ceps, présentant des symptômes de dépérissement sur la	

-

partie
78

herbacées

Tableau 4.6: Fréquence d'isolement du champignon selon les cépages
86

Tableau 4.7 : Fréquence d'isolement du champignon selon les régions
87

Tableau 4.8 : Taux d'infection du GFLV selon les régions étudiés
92

INTRODUCTION

La culture de la vigne occupe une place importante dans les secteurs agricoles de nombreux pays. Elle représente, sans doute, une culture de grande importance économique du fait qu'elle est destinée principalement à la production de vin (et alcools distillés à partir du vin) ou de raisin de table, mais également dans une certaine mesure à la production de jus frais et de raisins secs [1].

Les conditions pédoclimatiques de l'Algérie sont favorables au développement et à l'extension de cette culture; d'ailleurs plusieurs régions à vocation viticole, sont connues à travers le pays, ont été encouragées ces dernières années à travers le programme de soutien (FNRDA) (Fond National de régulation et développement rural) qui a démarré à partir de la campagne agricole 2000/2001. Selon les dernières statistiques établies par les services du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, la viticulture occupe une superficie de 99.432 ha, ce qui correspond environ à 9% de la SAU (surface agricole utile) soit (682.180 ha)[2].

Comme toute culture, la vigne est une plante sujette à de nombreuses maladies comme le mildiou [*Plasmopara viticola* (Berk. et Curtis) Berl.], l'oïdium [*Uncinula necator* (Schw.) Burrill], la pourriture grise [*Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetz.], la pourriture acide causées par les levures, les bactéries et les pourritures secondaires causées par des champignons saprophytes appartenant aux genres *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Penicillium* et *Rhizopus* [3].

Le dépérissement de la vigne constitue sans doute une affection très redoutable qui préoccupe depuis toujours les viticulteurs. Parmi les causes biotiques associées au problème du dépérissement, les maladies de l'eutypiose et du court noué sont connues par leurs actions dévastatrices sur les ceps de vigne.

La gravité est accentuée par l'absence de traitements phytosanitaires efficaces pour assurer le contrôle de ces maladies.

De nombreuses études ont relaté l'action de ces deux maladies sur le dépérissement des vignobles. Les champignons lignivores, tels que *Phomopsis viticola* (Sacc.) (Agent causal de l'excoriose de la vigne), *Eutypa lata* (Pers.Fr, Tull.,). (Agent causal de l'eutypiose) et les agents du complexe de l'esca, *Fomitiporia punctata*, *Fomitiporia mediterranea* , *Phaeoacremonium aleophilum* et *Phaeomoniella chlamydospora* , sont responsables des altérations du bois et les symptômes peuvent affecter la totalité du cep (les feuilles, les bourgeons, les rameaux, etc....). Les dommages sont en général indirects et consistent en une dégradation plus ou moins rapide du bois, causant une mortalité prématurée [4].

L'eutypiose est considérée comme une maladie endémique qui affecte surtout les jeunes vignobles. Durant ces dernières années, cette maladie s'aggrave de plus en plus, elle provoque la mort du bras puis la souche; elle constitue une menace grave pour la pérennité des souches dans un vignoble et concerne l'ensemble des vigneron, car la maladie peut se propager loin d'un foyer existant. Cette affection ne se révèle que plusieurs années plus tard et peut réduire considérablement le potentiel de production. Il est difficile pour un viticulteur de mesurer le risque de cette maladie [5].

Les causes de cette évolution peuvent être liées à la multiplication, comme par exemple l'utilisation des boutures prélevées à partir des plantes infectées, la standardisation du matériel de propagation, l'adoption des systèmes de conduite et de récolte ou bien de tailles mécaniques. Ces effets peuvent engendrer, par conséquence, de nombreuses blessures qui facilitent la pénétration du pathogène et l'installation de la maladie [4].

En Algérie, la présence du court noué a été signalée à maintes reprises , quant à l'eutypiose elle existe probablement depuis longtemps, mais elle pouvait être confondue avec d'autres infections de la vigne. En effet, ce sont des maladies du cep qui sont considérablement étendues au cours des dernières années. Elles menacent sérieusement les vignobles, il n'existe pratiquement pas de moyens de lutte contre l'eutypiose et le court noué, qui risquent de devenir le problème

phytosanitaire le plus important sur la culture de vigne. Dans de telles conditions le recours aux mesures prophylactiques reste l'unique moyen pour diminuer l'ampleur de ces maladies

En raison de la gravité de ce problème phytosanitaire, le dépérissement dans nos vignobles, peut constituer un facteur limitant et compromettre le vignoble algérien pour de longues périodes. Dans ce contexte, notre travail consiste à la réalisation d'une enquête épidémiologique pour évaluer l'importance et l'incidence du dépérissement de la vigne

Notre étude a été réalisée dans six vignobles, situés dans trois régions, deux régions à vocation viticoles Mascara (3 vignobles) et Médéa (2 vignobles) et la région de Blida (1 vignoble) où cette filière commence à prendre de l'importance.

L'objectif de ce travail consiste à :

- * Evaluer l'importance et les conséquences du dépérissement.
- * Evaluer l'incidence de l'eutypiose et du court noué dans les vignobles étudiés.
- * Rechercher le champignon lignivore incriminé dans ce dépérissement à savoir

Eutypa lata.

- * Etude microbiologique de l'agent causal.
- * La détection sérologique par la technique DAS-ELISA la présence du (GFLV) dans les vignobles prospectés.

CHAPITRE 1

GENERALITES SUR L'EUTYPIOSE

1.1. Importance et historique de la vigne

L'origine de la vigne se confond avec l'histoire des végétaux. Les vraies vignes (genre *vitis*) sont apparues au cours de l'époque tertiaire. Les glaciations du quaternaire ont fait régresser les vignes du cercle polaire qu'elles avaient atteint au cours du miocène jusqu'aux zones refuges du Moyen –orient et du pourtour de la Méditerranée. Il est admis que la culture de la vigne a débuté, il y a 4000 ans à partir des espèces sauvages du Proche-Orient (Caucase, Iran, Asie mineure) [6].

Selon les statistiques publiées par la FAO [7] en 2003; la superficie du vignoble mondiale s'étend sur 8.8 millions d'hectares, concentrée principalement en Europe (70%), (25,5%) dans le reste du monde et seulement (4,5%) en

Afrique. La production mondiale de raisin a été évaluée à 900 millions de quintaux dont 78% sont utilisés pour la vinification et le reste pour la consommation en frais ou en raisin sec [8].

En Algérie avant 1962, la superficie viticole était composée en grande partie par des cépages à vin, dont la production était destinée à l'exportation. La surface en vigne de vin était de 355.000 ha alors que celle de raisin de table était seulement de 5.000 ha. Il va de même pour la superficie réservée au champ pied –mère (c.p.m) réduite à 74 ha alors que celle destinée au raisin sec était presque inexistante [8].

Depuis l'indépendance, le secteur viticole a connu des bouleversements profonds engendrés par les mutations d'ordre politique et socio-économique dans notre pays. Cependant, le développement de la viticulture a pris une place importante dans la nouvelle vision du développement du secteur agricole, à travers le Plan National de Développement Agricole (PNDA) qui a été initié à partir de l'an 2000. Ce plan vise à relancer cette culture en Algérie, notamment dans les régions à vocation viticole (Mascara, Médéa, Ain temouchent...).

Cette importance se justifie par la réhabilitation des zones à vocation viticole et notamment montagnaise avec toutes les retombées positives en matière de protection des sols, de production et de création d'emplois. Pour ce faire, les pouvoirs publics ont mis en place un ensemble de mesures d'encouragement visant justement la réhabilitation de cette culture et son intensification. En l'espace de deux années après le démarrage du programme (PNDA), la surface a progressé de 39.642 ha soit 39 % [8].

Globalement, la viticulture nationale est répartie en trois (03) grandes zones; la zone littorale cultivée en raisin précoce, les plaines intérieures cultivées en raisin de saison, les coteaux et les montagnes sont surtout cultivées en raisin tardif.

Tableau 1.1 : Situation de la viticulture en Algérie [8]

Année	Superficie (Hectare)				Production (Quintaux)			
	2001	2002	2003	2004	2001	2002	2003	2004
Vigne de Table	38.260	41.860	48.520	50465	1.612.580	1.881.390	2.157.140	2.220.550
Vigne de cuve	30.190	38.010	45.380	47.070	347.570	458.510	619.140	616.000
raisin Sec	90	120	125	161	1.440	4.070	3.100	2.450
Champs de Pied mère	1.140	1.560	1.605	1.736	n.d	n.d	n.d	n.d
TOTAL	69.680	81.550	86.760	99.432	1.961.590	2.323.970	2.668.120	2.839.000

Les statistiques 2003-2004 indiquent que la superficie totale du vignoble en Algérie est de 99.432 ha soit 9 % de la SAU (superficie agricole utile). Ce faible taux d'occupation est dû en grande partie aux arrachages massifs opérés dans

les années 1970, avec toutes les conséquences induites en matière de nouvelles plantations et notamment de raisins de cuves. De plus, il est important de noter que le vignoble Algérien est marqué par, un vieillissement avancé (âge des ceps), et un déséquilibre de l'encépagement. En plus de ces aspects phytotechniques, l'aspect phytosanitaire est marqué par la présence de diverses maladies cryptogamiques et virales.

De nombreuses variétés locales, dont l'importance culturelle est connue ont disparu ou en voie de disparition, à cause de leur faible production et leur adaptation aux nouvelles techniques culturales adoptées. Dans un avenir plus au moins proche, un regain d'intérêt peut se manifester pour ces variétés aujourd'hui délaissées, mais qui peuvent faire l'objet d'amélioration de leurs potentialités productives.

1.2. Les principales maladies de dépérissement de la vigne

Le dépérissement de la vigne est la conséquence de diverses causes conduisant à la mort des ceps. Parmi ces causes les accidents climatiques, les pratiques agronomiques tels que l'excès d'acidité ou l'asphyxie au niveau des racines, les attaques parasitaires. Les agents pathogènes responsables de ces dépérissements (ravageurs et parasites) se trouvent souvent sur les pieds dépéris mais leurs dégâts sont soit en relation avec la nature du cépage soit en relation avec la conduite culturale adoptée [9].

Parmi les origines biotiques du dépérissement de la vigne, nous citons principalement les maladies virales et fongiques. Pour les maladies virales nous citons le court noué, l'enroulement et un moindre degré les marbrures. En ce qui concerne les maladies fongiques, causées par les champignons lignicoles, nous citons ceux à évolution lente, qui pénètrent par les blessures de la taille (esca, eutypiose) et par des infections racinaires (pourridié, pied noir) [10].

L'identification de ces maladies est délicate car leur manifestation est capricieuse (variabilité des symptômes selon les années) et ambiguë (le dépérissement est dû à plusieurs champignons et prend la même allure). Toutefois, certains symptômes sont caractéristiques de la présence de chacun de

ces champignons, soit au niveau du feuillage, soit par les dégâts à l'intérieur du tronc ou des racines. Les dégâts sont parfois très importants en provoquant des pertes de rendement, une baisse de la qualité de la récolte et surtout un affaiblissement des souches et leur mortalité [4].

1.3. L'eutypiose

1.3.1. Historique et importance économique

Selon GALET [11], la maladie fut décrite pour la première fois sur l'abricotier *Prunus armenica* L., par DAWSON (1931), en Tasmanie et peu après, par HARRIS (1932) et par ADAM (1938) dans le sud de l'Australie. Elle était repérée par Flentje dès 1949, dans la vallée du Rhône en France. L'eutypiose était appelée *Dying arm disease* en Australie et aux Etats Unis pour éviter la confusion entre *Dead arm disease* (excoriose) et *Dying arm disease* (eutypiose) MOLLER et KASIMAT (1968) proposent pour cette dernière maladie le terme *Eutypa Dieback*. En suisse, BOLAY (1977) a proposé le terme de « Roncet » qui lui paraissait bien convenir pour désigner la mycose due à l'eutypiose car la maladie donne aux sarments un aspect buissonnant semblable à une pousse de ronce. Comme ce nom a déjà servi pour désigner le Court-noué, GALET (1977), lors du xv^e Congrès de l'Office International du Vin (OIV) à Changins, (Suisse), a préféré employer un mot spécifique et a proposé le terme d'eutypiose qui est désormais adopté [11] (Figure1.1).



Figure 1.1 : Souche attaquée par l'eutypiose [4]

RAPPAZ [12] attribue définitivement le nom *d'Eutypa lata* (Pers.) Tul., au champignon responsable de l'eutypiose en l'honneur de Tulasne qui a réalisé sa première description en 1801 (*sphaeria lata* Pers.).

L'eutypiose est actuellement considérée parmi les plus graves maladies de la vigne, en effet, elle sévit dans pratiquement toutes les régions viticoles du monde [13].

Cette maladie est probablement plus ancienne, les symptômes devaient apparaître à un seuil tellement bas qu'elle n'attirait pas l'attention des viticulteurs et peuvent être attribué à d'autres maladies tels que le court noué et l'excoriose [14].

L'eutypiose a des effets directs sur le rendement de la vigne, avec une réduction de la production évaluée en Californie de 30 à 60% selon l'importance de la maladie. En début d'attaque la réduction du volume de récolte est difficilement appréciable, elle varie fortement en fonction du cépage, selon les années et les régions et les conditions culturales [5,15].

En outre, l'eutypiose exige le remplacement prématuré des souches mortes, ce qui provoque l'hétérogénéité et le rajeunissement du vignoble préjudiciable à la quantité.

Cette maladie a aussi des effets indirects sur la qualité en modifiant l'encépagement des vignobles puisque les variétés sont peu à peu remplacées par des variétés tolérantes, de plus, si le volume de la récolte est maintenu malgré un taux de souches manquantes élevé, la qualité des vins pouvant être affectée car cette maladie peut entraîner une réduction de l'expression aromatique de certaines variétés [16].

Selon MIMIAGUE Et LE GAL [17] après une évaluation symptomatologique de d'eutypiose dans des régions européennes en 1991, dans différentes conditions de production, les résultats ont montré que cette maladie est présente dans la quasi-totalité des vignobles prospectés avec des taux allant jusqu'à plus de 50%. Il a été noté surtout l'extrême variabilité de l'expression de ces symptômes d'une année à une autre. Ainsi dans les régions françaises les taux signalés atteints 34,6 %, ces taux varient de 3,9 % à 53,2 % en Grèce et de 0,5% à 9,3 % en Espagne, ils atteignent 8,1% en Italie et 3,3 en Portugal.

Une évaluation globale de l'incidence économique de l'eutypiose (/an/ha) en 1991, montre que le coût d'un diagnostic et avec une lutte préventive est de 2100 F, le coût des pertes liées à la diminution du rendement varie de 1.115 F à 1.340 F et il est de 15.660 F à 23.490 F pour ce qui concerne les pertes liées à la mort des ceps. L'eutypiose est donc une maladie redoutable, économiquement et financièrement, très coûteuse pour le viticulteur soucieux de maintenir le patrimoine qualitatif de son patrimoine viticole [5]. En conséquent, il est clair que pour les viticulteurs souhaitant maintenir une production régulière de vins de qualité, l'eutypiose est actuellement la maladie la plus préoccupante [17].

1.3.2. Symptomatologie

Comme pour les maladies affectant le bois de la vigne et dont les manifestations sont discrètes à leur début, l'identification de l'eutypiose s'avère souvent délicate; elle est d'autant plus difficile que les symptômes ne sont pas spécifiques. Dans plusieurs situations, la symptomatologie renseigne sur une superposition de symptômes d'origine différente. Il est rare et difficile d'observer des symptômes typiques d'eutypiose qui nécessitent cinq à dix ans de contamination par *Eutypa lata* [5,18].

Les symptômes se manifestent de manière aléatoire selon les années, en fonction des cépages et des conditions climatiques (les printemps pluvieux aggravent l'expression des symptômes) [16]. L'intensité des symptômes dépend aussi de la variabilité du champignon. Des différences d'agressivité entre les souches ont été démontrées grâce aux observations réalisées sur les boutures de Cabernet Sauvignons inoculée [19].

1.3.2.1. Sur la partie végétative

Les premiers symptômes s'observent au printemps sur les jeunes rameaux; les pousses issues d'un bras infecté ont une croissance ralentie avec présence d'entre-nœuds courts et réguliers à la différence du court noué [5].

Les feuilles sont en général petites, tantôt chlorotiques, tantôt brunâtres, crispées, parfois déchiquetées avec des nécroses marginales qui peuvent se généraliser à l'ensemble du limbe présentant des plages bronzées chez les cépages rouges, à bords amincis se nécrosant dans la phase ultime avant le dessèchement du rameau [10] (Figure 1. 2).

A un stade plus avancé de la maladie, les rameaux portent souvent des ébauches de feuilles complètement dépourvues prenant un aspect de balai de sorcière.



Figure 1.2: Symptôme d'eutypiose sur feuilles [16]

Les inflorescences se dessèchent parfois avec la floraison. Dans le cas contraire, elles présentent un port dressé, elles subissent par la suite une forte coulure ou un millerandage en donnant des petites grappes constituées de petites baies souvent apyrènes [20](Figure 1.3 , 1.4)

L'expression des symptômes sur la végétation herbacée est liée à la production par le champignon d'un complexe toxique, la présence et la gravité des symptômes est liée aux conditions climatiques [21, 22].



Figure 1.3: Symptômes d'eutypiose sur inflorescence [16]

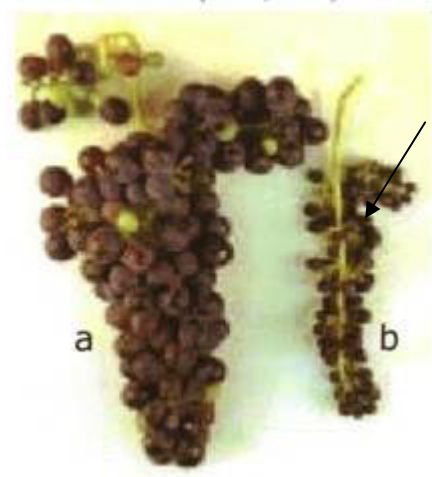


Figure 1.4: Symptômes d'eutypiose sur grappe

a) Grappe saine

b) Symptômes d'eutypiose sur grappe [4]

1.3.2.2. Au niveau du bois

Pendant l'hiver, il est facile d'observer la présence d'un bras mort et de méplats sur le tronc correspondant à des zones nécrotiques du bois mort dont l'origine est une grosse plaie de taille. Dans les zones de bois morts, où l'écorce s'est exfoliée, on observe des plages grisâtres à noirâtres, bosselées qui contiennent les fructifications globuleuses du champignon représentant la forme sexuée (périthèces) [14] (Figure 1.5)

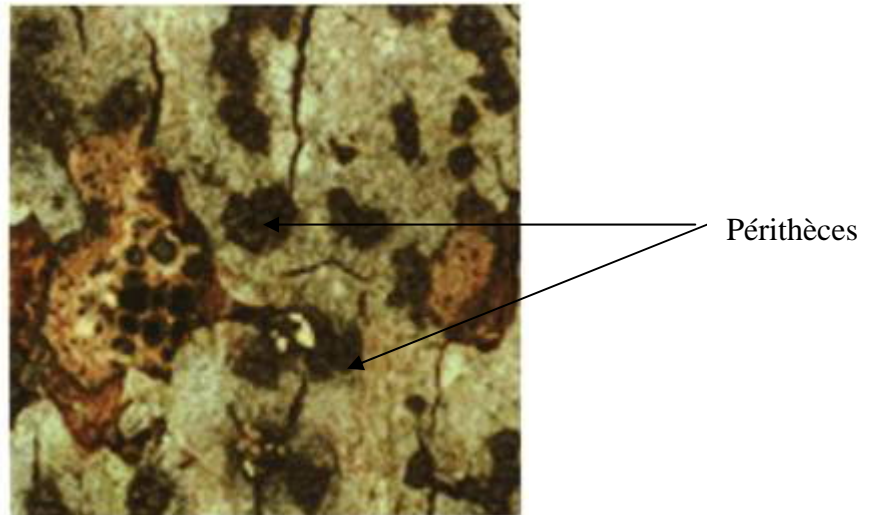


Figure 1.5: Formation de périthèces sur bois [4]

Des coupes transversales dans les bras ou le tronc des souches malades permettent de voir une nécrose de consistance très dure et il ne se forme jamais d'amadou comme dans l'esca, présentant une coloration allant du brun gris au brun violet suivant les cépages, cette nécrose est toujours sectorielle et bien délimitée [23] (Figure 1.6).

D'après GALET [10], cette nécrose prend toujours naissance à partir d'une blessure qu'elle soit une plaie de taille ou une blessure due à un accident mécanique. Elle s'enfonce profondément dans les tissus du bois, et peut se propager au delà du bourrelet de greffe (Figure 1.7).

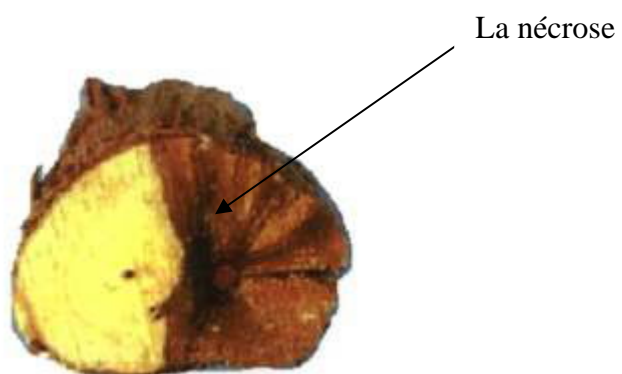


Figure 1. 6: Coupe transversale d'un bois atteint [4]



Figure 1. 7: Evolution de la nécrose brune, dure et de position sectorielle [4]

1.3.2 Biologie d'*Eutypa lata*

Le champignon *Eutypa lata* est un agent pathogène appartenant à la classe des Ascomycètes qui se rencontre sous deux formes, la forme imparfaite ou asexuée et la forme parfaite ou sexuée. La classification générique et spécifique d'*Eutypa lata* (Pers.Fr,Tul.) varie selon les auteurs, VIENNOT et BOURYIN (1949) classent le genre *Eutypa* par sa forme parfaite dans ce groupe d'ascomycètes,

l'ordre des Sphaeriales et la famille des Valsacées, sa forme imparfaite dans la classe des Adélomycètes, ordre *Sphaerospidales* et dans le genre *Cytosporina* .

En 1953, MORREAU classe ce champignon dans l'ordre des *Diatrypales*, dans la famille des Diatrypacées et le groupe des Ascomycètes [24].

La forme imparfaite (la forme conidienne) est présentée sous plusieurs noms: *Cytosporina*, *Fusicoccum*, *Phlyctaema* ou *Myxowaertelle*, cette forme a été citée sous le nom de *Libertella belpharis* [25], La classification la plus récente de ce champignon est la suivante:

Tableau 1.2 : La classification de l'agent causal *Eutypa lata* [4]

	Forme parfaite	Forme imparfaite
Nom latin	<i>Eutypa lata</i>	<i>Libertella spharix</i>
Famille	Diatrypacées	Sphaeropidaceés
Ordre	Diatrypales	Sphaerospidales
Classe	Ascomycète	Adélomycètes

Eutypa armenicae n'est que l'un des 20 synonymes d'*Eutypa lata*, champignon polyphage, pouvant s'attaquer à plus de 80 espèces ligneuses. Ainsi, les haies, les bosquets et les lisières des forêts jouent donc le rôle de réservoir du parasite et assurent ainsi sa constante dissémination lorsque les conditions sont favorables [26].

le champignon développe sur les milieux de cultures solides, à des températures de 20 C° à 25 C°, des colonies vigoureuses blanches d'apparence échevelées suite à l'abondante production de filaments mycéliens aériens, réunis en petits cordons. Le mycélium devient plus dense en vieillissant et brunit partiellement, il forme des fructifications après 6 à 8 semaines de culture [27].

Le mycélium peut se développer abondamment avec une apparence laineuse à la limite des nécroses, après une mise en culture de rondelles de bois prélevées sur des cépages atteints [23].

1.3.2.1. Forme imparfaite

Après deux mois de culture, le mycélium d'*Eutypa lata* se différencie en fructifications asexuées, qui se caractérisent par la formation de pycnides sur la surface des parties mélanisées du mycélium. Les pycnides émettent une cirrhe jaunâtre contenant une multitude de spores ou de conidies filiformes, hyalines, arquées mesurant 24 à 32 μm x 0.6 à 1 μm , qui se développe à la faveur d'une humidité suffisante [28,29]. Les conidiophores sont hyalins, simples, dressés ou légèrement courbés où se forme une seule conidie à leur extrémité [27] (Figure 1.8).

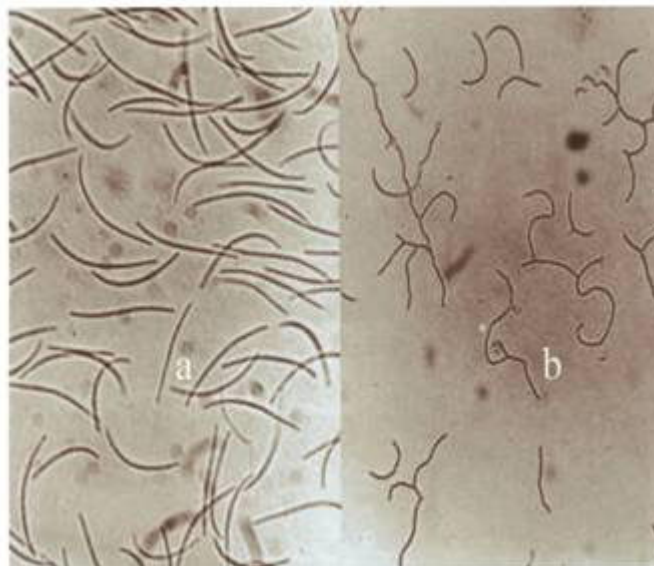


Figure 1.8: La germination des conidies

a) Les conidies d'*E. lata*

b) La germination des conidies d'*E.lata*

[10]

1.3.2.2. Forme parfaite

La forme sexuée, *Eutypa lata* (Pers.) Tul & C. Tul) assure la dissémination de la maladie, elle se développe sous l'écorce 2 à 5 ans après la contamination

sous forme d'un stroma noirâtre d'aspect bosselé, ce dernier contient les fructifications ou les périthèces qui ne peuvent se développer que dans les régions où la pluviométrie annuelle dépasse 350 mm [27].

Les périthèces sont des fructifications globuleuses de 300 à 500 μm de diamètre, prolongées par un col très court terminé par un ostiole s'ouvrant par un pore. Les loges des périthèces contiennent de nombreux asques et des filaments stériles appelés paraphyses. Les asques cylindro claviformes, arrondis au sommet, très longuement pédicellés mesurant 30 – 60 x 4-7 μm . Chaque asque contient généralement 8 ascospores ou parfois 16, arquées, en forme de banane, passant du jaune pâle au brun, en pleine maturité unis mesurant 5 - 11 x 1.5-2 μm [24] (Figure 1.9).

Ces périthèces, après une période de maturation deviennent fructifères et le stroma peut entretenir des périthèces fertiles pendant 4 à 5 ans ou plus, en formant de nouvelles fructification chaque hiver [23].

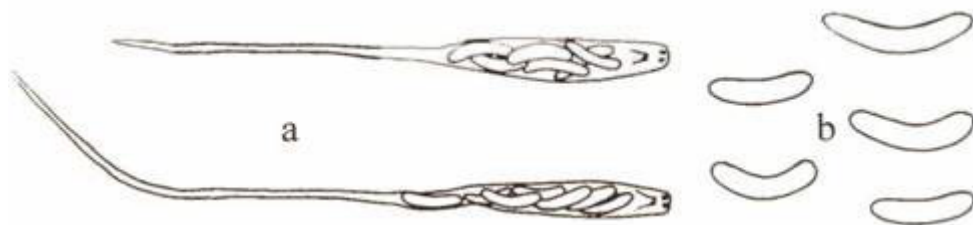


Figure 1.9: Fructification d'*Eutypa lata*
(a) asque
(b) ascospore [10]

1.3.4. Epidémiologie

Comme les champignons lignivores, *Eutypa lata* pénètre essentiellement par les blessures des bras du tronc des souches; au cours de la taille pratiquée à la chute des feuilles mais aussi par celles provoquées par les gelées, par le vent, ou les nécroses bactériennes, les nombreuses plaies offrent aux ascospores des sites de pénétration. Ces ascospores peuvent être expulsées en période de pluviométrie; elles restent localisées sur les blessures, la durée maximale de réceptivité de la plaie est de deux mois et celle-ci diminue au fur et à mesure que la plaie vieillit. La diminution de la sensibilité des plaies avec le temps est due à la colonisation par celle-ci par les saprophytes antagonistes [30, 31].

Le champignon se conserve dans le bois mort sous forme de mycélium et sur le bois périssant des bras et du tronc sous forme des périthèces contenant les ascospores, les ceps morts dans les parcelles, ou déposés au bout du rang ou mis en tas pour usage divers, sont autant de sources inépuisables d'inoculum qui vont contaminer les ceps et les vignobles voisins [32].

La propagation de la maladie est assurée uniquement par les ascospores produites par les périthèces enfouis dans le stroma noirâtre formé à la surface du bois mort [27].

Les facteurs externes environnementaux influencent directement les possibilités de pénétration des ascospores dans les vaisseaux du bois, ainsi un bois soudain humidifié voit sa capillarité modifiée et il se crée une force de succion dirigée vers l'intérieur. Une baisse brutale de température ou une variation de la pression atmosphérique peuvent provoquer une dépression à l'intérieur des vaisseaux et créer ainsi un flux d'appel d'air entraînant les ascospores à l'intérieur [33].

Les ascospores sont projetées pendant et aussitôt après les pluies; dans les vignobles où le climat est plus sec on n'observe pas généralement de spores aériennes pendant l'été. Les spores sont émises deux heures après le début d'une pluie d'au moins de 0.5 mm et les captures durent environ deux jours. Les pluies trop abondantes entraînent un épuisement des périthèces. De même, la persistance de la neige sur le bois porteur de périthèces provoque une maturation de ces derniers qui libèrent alors en 3 ou 4 jours tout leur stock de spores [11]. Le

vent assure leur dissémination probablement sur de longues distances jusqu'à plus de 60 Km [34].

Les spores se déposent sur les plaies de taille, soit en se déposant à la surface de la plaie, soit elles tombent dans les "craquelures" des vaisseaux du bois, une seule ascospore suffit pour déclencher une infection [11].

Les ascospores peuvent germer entre 1°C et 45°C avec un optimum autour de 20°C à 25°C, de plus les ascospores resteraient viables très longtemps, jusqu'à deux mois dans les conditions favorables. Le mycélium issu de la germination des spores va pénétrer dans les tissus adjacents des vaisseaux par les zones de faiblesse que constituent les ponctuations, environ entre 4 et 14 jours après le dépôt des spores. Il se propage ensuite dans les tissus ligneux et développe la nécrose sectorielle caractéristique [35,36].

Le mode de dégradation du bois montre que les trois principaux constituants des parois des cellules ligneuses, à savoir la lignine, les celluloses et les hémicelluloses sont attaqués simultanément chez les cépages sensibles avec formation de cavités dans les parois confiant ainsi au bois un caractère cassant [37]. L'utilisation des spores fluorescentes a permis de visualiser leur localisation sur la surface des plaies de taille, dans les fibres, les cellules annexes, les cellules du parenchyme ligneux et dans les vaisseaux du bois. Elles peuvent pénétrer jusqu'à 6 mm dans les vaisseaux. Elles sont alors piégées par les parois transversales, s'accumulent, et forment ainsi des foyers d'infection [38].

L'apparition des symptômes sur la végétation herbacée nécessite qu'un certain volume de bois soit ainsi dégradé. Ce volume de bois est probablement lié à un potentiel de production du complexe toxique "eutypine" responsable de la perturbation du métabolisme de la plante aboutissant à l'expression des symptômes [39].

Le cycle biologique de la maladie sur la plante est ainsi très long et peut durer de 4 à 8 ans, il est constitué d'une phase de dissémination et d'une phase de contamination [25]. (Figure 1.10)

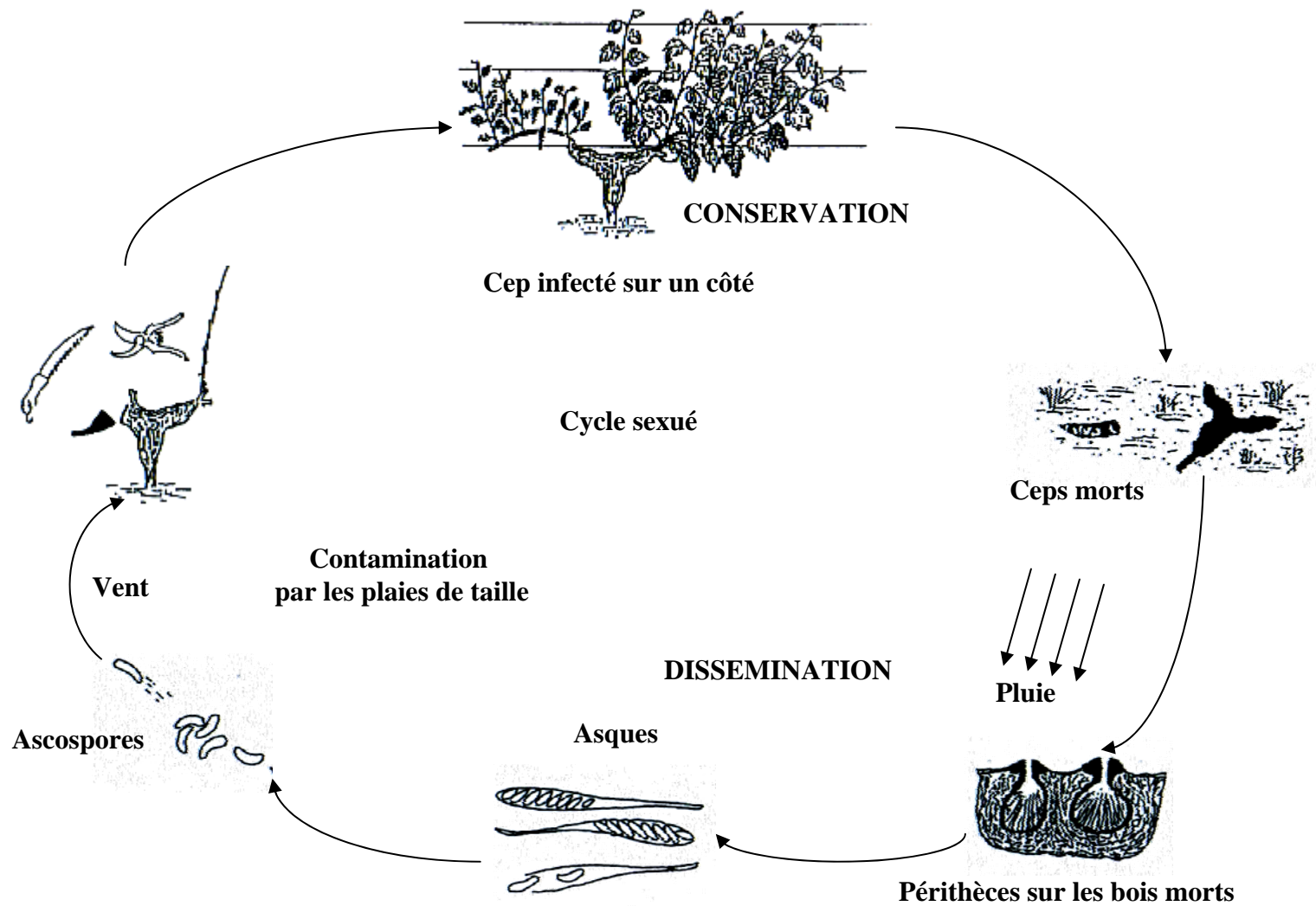


Figure 1.10: Cycle biologique de *Eutypa lata* [25]

1.3.5. Mode d'action d'*Eutypa lata*

Plusieurs bactéries et champignons pathogènes produisent des toxines qui interfèrent avec le fonctionnement des cellules et affectent le mécanisme de défense, mais elles peuvent être réduites par le végétal selon son activité métabolique de détoxification [40].

Le champignon parasite *Eutypa lata* ne se développe que dans le tronc et les bras des ceps de vigne atteinte, dans lesquels il provoque des nécroses brunes et dures. La généralisation des symptômes dans l'ensemble de l'appareil aérien suggère que le champignon puisse agir à distance par l'intermédiaire de substances toxiques [16,41 et 42].

Parmi les métabolites secondaires synthétisés *in vitro* par *E. lata*, une molécule toxique pour la vigne a été mise en évidence à l'aide de divers bio-tests, il s'agit de l'hydroxyl-4 (méthyl-3butène-3-ynyl-1)-3 benzaldéhyde, nommée eutypine. Cette substance a été identifiée par Raffel Tabbaschi à l'université de Neuchâtel (Figure 1,11)

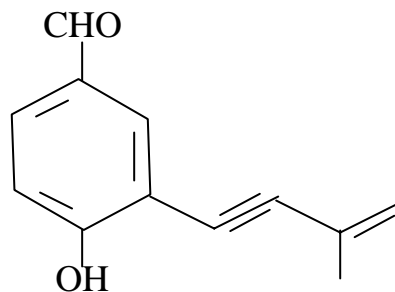


Figure 1.11 : Molécule d'eutypine [43]

Le champignon sécrétait l'eutypine qui migre dans les tissus en raison de son caractère lipophile, au printemps; la sève de la vigne présente un pH acide (approximativement 5,5) l'eutypine se trouve essentiellement sous forme neutre et sa pénétration dans toutes les cellules devient favorisée, il a été constaté que les espèces de vignes n'y sont pas toutes sensibles, il existe des variétés totalement résistantes, présentant des enzymes capables de dégrader cette substance [43] (Figure 1.12)..

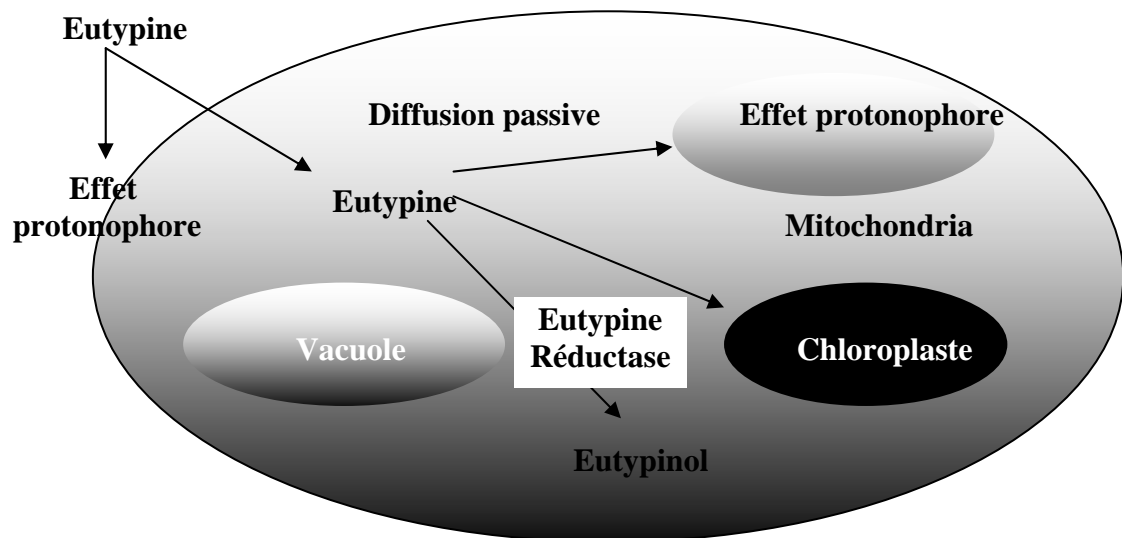


Figure 1.12: Mode d'action de l'eutypine [16]

1.3.6. Les facteurs favorisant la maladie

Les conditions climatiques, les pratiques culturales, les cépages, les portes greffes, l'âge de la vigne sont des facteurs impliqués directement dans l'incidence de cette maladie [4].

1.3.6.1. Cépages et portes greffes

Les études réalisées par PEROS et BERGER [42] sur la sensibilité des cépages ont révélé une influence notable du cépage sur l'incidence de l'eutypiose. Toutefois, vue la complexité des facteurs agissant sur la réceptivité des cépages, il est difficile d'établir un classement des cépages par rapport à leurs réaction vis à vis du pathogène. Un classement de cépages, en fonction de leur sensibilité au

champignon *Eutypa lata* a été établi par DUBOS [25] montrant leur répartition en quatre catégories.

Tableau 1.3 : Classement des cépages selon leur Sensibilité [25]

Cépages très sensibles	Cépages moyennement sensibles	Cépages peu sensibles	Cépages tolérants
Cabernet sauvignon Chasselas Grenache Sauvignon Smauzac Negrette	Muscat d'Alexandrie Pinot noir Chenin Muscadelle Cinsault Pinnot meunier Tannat Syrah	Carignan, Duras Cabernet franc Duras Gamay	Merlot Aligoté Grolleau

De même pour la sensibilité des cépages à l'égard de *Eutypa lata*, le pied mère aussi présente des sensibilités différentielles. Certains porte-greffes en France paraissent assez touchés par l'eutypiose notamment le fercal descendant du Cabernet Sauvignon, le 41B et 99 R sont plus favorables à l'expression des symptômes de la maladie [32, 46]]. Le SO4, le 140 R, sont des portes greffes vigoureux selon les enquêtes réalisées par (Galet,1995).

L'attaque du champignon peut se faire dès la taille de formation du cep. L'effet de l'âge du cépage est déterminant sur le taux de symptômes observé.

Cette hypothèse a été testée sur un échantillon de 250 parcelles, d'un même cépage, il apparaît que l'âge est corrélé avec l'intensité de la manifestation des symptômes [15,17].

1.3.6.2. Le sol et le climat

Peu d'informations sont disponibles en ce qui concerne l'effet de la nature du sol. Toutefois les sols pauvres entraînent une mort plus rapide des pieds atteints par *E .lata*. Les sols chlorosants (fortement argileux et donc mal drainés) accentuent la gravité des symptômes, les sols carencés (sables littoraux) particulièrement sont favorables à l'expression de la maladie [25]. Le rôle du climat et en particulier du régime hydrique de la plante a été mis en avant dès 1984 pour expliquer la gravité des symptômes.

A titre d'exemple, en 1978 année où l'eutypiose a explosé sur le vignoble Français, le climat a été marqué par un printemps doux et pluvieux. En revanche en 1979, le printemps a été plutôt sec et il n'a pas été possible d'identifier des symptômes d'eutypiose sur des parcelles gravement atteintes en 1978, ce qui démontre le rôle déterminant du climat sur la manifestation de la maladie. Par ailleurs, les hivers doux et pluvieux favorisaient la production de spores et leur dissémination [47].

1.3.6.3. Mode de conduite

L'installation d'*Eutypa lata* qui est un parasite de blessures est favorisée par les systèmes de taille qui provoquent de nombreuses et importantes plaies [5]. Toutes les pratiques qui augmentent le nombre et le diamètre des plaies de taille accroît les risques de contamination par l'eutypiose; à cet égard, la taille Guyot constitue un bel exemple, de même que la conduite des ceps pour la mise en

œuvre des vendanges mécaniques. Ainsi l'époque de la taille est fondamentale, les tailles tardives empêchent l'installation du parasite dans le bois [25,44].

Selon GALET [11], le mode de conduite joue un rôle important dans l'extension de la maladie en relation avec le nombre, l'époque de taille et la dimension des plaies de taille. D'une façon générale les vignes en gobelets ou en cordons de Royat sont moins atteintes que les vignes conduites en taille guyot qui consiste à rabattre le long bois au ras du tronc en faisant chaque fois une plaie de taille importante ou la suppression annuelle du bras provoque d'importantes plaies de taille.

1.3.6.4. Inoculum pathogène et saprophyte

La présence de bois morts, susceptible d'héberger la forme infectieuse du champignon dans la parcelle où à proximité des vignobles constitue un facteur prépondérant dans le développement de la maladie. Toutes les observations convergent pour montrer que la gravité des attaques est liée à la quantité de bois morts (ceps, bras) présents dans la parcelle [25].

3.7. Stratégies de lutte

La lutte contre l'eutypiose ne peut convenir aisément que pour les maladies des organes aériens mais la destruction du parasite dans le bois est trop difficile. Aucun exemple de traitement curatif efficace n'existe dans la panoplie agro pharmaceutique classique. Les fongicides connus jusqu'à présent ne sont pas nombreux et leur efficacité reste limitée. L'industrie phytosanitaire se désintéresse de cette maladie pour des raisons économiques évidentes. Des essais réalisés en laboratoires ont montré que le cuivre avait une action importante contre le champignon, cependant rien n'a été démontré au niveau du vignoble ainsi ce produit est dangereux, car il brûle les bourgeons et par conséquent cela empêche

son utilisation pour traiter les vignes mères; le dernier recours consiste donc malheureusement à arracher la parcelle et à la replanter.

Plusieurs alternatives issues de travaux de recherches englobant entre autre les pratiques culturales et l'emploi des fongicides permettent néanmoins de maintenir la gravité, de stabilisé la maladie pour sauvegarder le patrimoine viticole [4].

Les plaies doivent être protégées aussitôt après la taille, pour empêcher la contamination du cep par le champignon. Le fongicide le plus utilisé appartient à la famille des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols et des benzinidazoles, une association de flusilazole et de carbendazine, portant le nom « escudo » ce produit pénètre rapidement dans le bois des plaies jusqu'à 7mm de profondeur, créant ainsi une barrière fongicide et montrant une grande persistance d'action durant plusieurs semaines. L'utilisation de ce type de produit en application localisée manuelle est contraignante pour le viticulteur. Ce produit paraît efficace, mais son utilisation est peu pratiquée, le coût de l'application est très cher par rapport à l'incidence économique de la maladie [10].

Aucun moyen curatif n'éradique la maladie car tous les fongicides organiques expérimentés n'offrent aucune efficacité. Si la maladie touche une grande partie du vignoble, la solution la plus radicale consiste à tout arracher et à replanter des pieds saines en s attachant particulièrement à la prophylaxie dès le plus jeune âge de la vigne. Cette opération doit se baser sur le choix des cépages les moins sensibles à la maladie [4].

Les mesures prophylactiques visent la réduction de l'inoculum du pathogène et la diminution de la période de réceptivité de la plante hôte, le bois mort porte la forme infectieuse du champignon, les mesures de prophylaxie suggère de brûler tous le bois mort issu de l'arrachage ou des travaux de taille. Dans certaines régions, on conseille de couvrir les souches mortes pour éviter la dissémination

des spores, mais l'expérience montre que très rapidement, les bâches se déchirent et les pieds morts constituent à nouveau des sources d'inoculum [49]. En supprimant et en brûlant tous les bois morts (souches, bras...) en éliminant les tas de souches exposées à la pluie, le nettoyage des vignes doit être réalisé avant la taille pour éliminer l'inoculum et après la taille pour éliminer le bois enlevé de la région. Ces mesures doivent être pratiquées par l'ensemble des viticulteurs pour empêcher le transport des spores sur de longues distances [10].

La taille doit être exécutée le plus tard possible pour les cépages les plus sensibles en prenant soin d'éviter les grosses plaies; lorsque les plaies sont les moins réceptives par temps sec et sans vent ou le risque de présence d'inoculum est le plus faible, la vigne n'offre aucune barrière à la pénétration des spores, elle demeure réceptive pendant 40 jours après la taille [50].

La partie malade ne pouvant guérir, il faut la couper. Le recépage est actuellement la seule façon de régénérer un pied de vigne atteint d'eutypiose, Il convient d'abord de repérer les premiers symptômes de la maladie sur les souches en début de végétation. La technique consiste à éliminer la zone malade et à reformer le cep à partir d'un gourmand situé dans la zone encore saine du tronc. Après avoir coupé le tronc, il faut protéger la section du bois sain par un mastic pour éviter une contamination éventuelle, le gourmand doit être tuteuré. De nombreux cépages se présentent bien à cette technique et le taux de réussite est très élevé si l'opération est réalisée correctement [20].

Cependant, il existe des cas où il est parfois difficile d'obtenir des gourmands, si on constate que la nécrose arrive de la soudure et ne descend pas dans le porte-greffe, ou qu'il est très difficile d'obtenir des gourmands, on peut effectuer un greffage. Le taux de réussite est de l'ordre de 75% pour des vignes de moins de 25 ans ; alors que l'opération demeure plus aléatoire pour les ceps âgés. Ces deux techniques ne sont probablement pas suffisamment employées, Elles sont pourtant très intéressantes puisqu'elles permettent en deux ans de reconstituer un cep bénéficiant du potentiel qualitatif initial de la vendange [4].

CHAPITRE 2

LES PRINCIPALES VIROSES DU DEPERISSEMENT DE LA VIGNE

Les maladies à virus jouent un rôle limitant en viticulture, car elles peuvent affecter sensiblement et limiter les rendements et la longévité des vignobles. Même lorsque l'infection est apparemment peu grave, elle peut souvent diminuer suffisamment la quantité et la qualité de la récolte [51]. De nombreuses maladies à virus sont connues sur la vigne, les plus graves d'entre elles pour les viticulteurs et les pépiniéristes reste le court noué, l'enroulement et la marbrure. D'autres viroses sont prises en compte dans le programme de sélection sanitaire et dans les dépistages virologiques, telle que les cannelures du tronc, la nécrose et la mosaïque des nervures [3].

2.1. Le court noué

Le court noué de la vigne est une virose connue depuis fort longtemps, appelée aussi la dégénérescence infectieuse qui a fait l'objet de nombreux travaux [52].

Une maladie mondialement répandue à cause des échanges commerciaux et scientifiques à titre expérimental ; elle affecte les porte-greffes et les cépages de *Vitis vinifera* ainsi que les hybrides [53]. Cette virose est provoquée par le GFLV "Grapevine fanleaf virus" qui peut être transmise au niveau des racines par les nématodes. Ce virus provoque la dégénérescence infectieuse dans la plupart des vignobles européens, il est également responsable du dépérissement dans d'autres régions viticoles, tels que Afghanistan, Algérie, Tunisie [54].

Le court noué est décrit sous plusieurs noms [53] :

Grapevine Gable virus.

Grapevine roncet virus

Grapevine court-noué virus
Grapevine arricciamento virus
Grapevine dégenérazione infettiva virus
Grapevine urticado virus

2.1.1. Propriétés du virus du court noué

GFLV : " Grapevine fanleaf" virus du court noué de la vigne, est un virus qui appartient à la famille des Tombosviridae et au genre Tombovirus. La particule virale est de forme isométrique de 30 nm de diamètre, une partie de cette particule apparaissent optiquement vides à l'examen au microscope électronique [53]. L'acide nucléique est un ARN simple brin et linéaire. Il est constitué de deux molécules fonctionnelles d'ARN mono caténaire, un ARN-(1) long et un ARN-(2) court, le poids moléculaire est de respectivement 2,4 x10 et 1,4 x 10 kda [56, 57]. Il a été démontré que quelques caractères des népovirus sont déterminés par l'ARN-(1) et d'autres par ARN-(2) [58]. Il a été montré la présence d'une protéine liée au génome (virion protien génome linked (vpg) composé de 24 nucléotides de poids moléculaire de 2,9 kda lié de façon covalente à l'extrémité terminale de l'ARN-(1) et de l'ARN-(2). L'expression biologique du GFLV n'est possible que lorsque l'ARN-(1) et l'ARN-(2) sont inoculés ensemble sur des chénopodes; dans ce cas ils sont capables de se répliquer, de se généraliser dans la plante et extérioriser des symptômes. Cependant l'ARN-1 peut se répliquer dans les protoplastes, mais s'il est inoculé seul à des plantes hôtes il ne sera pas détecté dans celle-ci [59].

2.1.2. Symptomatologie du court-noué

2.1.2.1. Symptômes macroscopiques

Trois types de symptômes sont observés sur la vigne mais leur intensité varie selon le cépage:

- Les malformations infectieuses, causées par des souches déformantes: Les feuilles sont tordues de façons variables et sévères, asymétriques et gauffrées avec des dentelures aiguës (Figure 2.1). Les sarments sont mal formés et montrent un embranchement anormal, des doubles nœuds, des entre-nœuds raccourcis, des fasciations , des bifurcations et une croissance en zigzag (Figures 2.2, 2,3), les grappes sont réduites en nombre et en taille [60, 61,62]



Figure 2.1: Symptômes des malformations rameaux des feuilles [53]



Figure 2.2: Bifurcation des



Figure 2.3: A. Raccourcissement des entres noeuds
B. doubles noeuds
C. fasciation du Rameau [53]

- La mosaïque jaune, provoquée par des souches chromogènes: Les vignes atteintes extériorisent des décolorations jaune- chromes qui se développent au début du printemps et peuvent s'étendre sur toutes les parties végétatives de la plante (feuilles, sarments, vrilles et inflorescences) (Figure 2.4) [60,63].

- La décoloration périnervale, provoquée par des souches chromogènes: Les symptômes sont représentés par des tâches jaunes le long des nervures principales des feuilles adultes qui s'élargissent dans les tissus internervaux. Ces décolorations se manifestent à la fin du printemps et au début de l'été et persistent pendant le cycle végétatif tout entier. Les feuilles sont petites ou partiellement irrégulières mais la fructification est extrêmement faible. Elle se distingue de la panachure ordinaire par le fait que le jaunissement se produit le long des nervures principales et secondaires, mais n'affecte pas les sarments et les grappes [60,63] (Figure 2.5)



Figure 2.4: Symptômes de la mosaïque produite par le virus du court noué [53]



Figure 2.5 : Symptômes de panachure ordinaire [53]

2.1.2.2. Symptômes microscopiques

Des symptômes internes peuvent s'ajouter aux premières cités, telle que la présence de cordons endocellulaires qui sont des caractéristiques typiques chez les pousses lignifiées. Ces structures sont facilement visibles, en particulier dans les entres-nœuds basaux ; leur présence facilite le diagnostic de la maladie. Ils sont constitués d'un noyau pectique entouré par une gaine de cellulose incrustée avec la lignine, la subérine ou la cutine en rapport avec le type de tissu infecté [10,63] (Figure 2.6).

Malheureusement ces cordons ne sont pas toujours présents dans les vignes malades; on ignore l'origine exacte de ces cordons qui sont néanmoins très utiles pour trier le bois pendant l'hiver, il existe parfois des altérations cytologiques représentées par des cellules géantes, formant des cercles d'accroissement [10] (Figure 2.7).

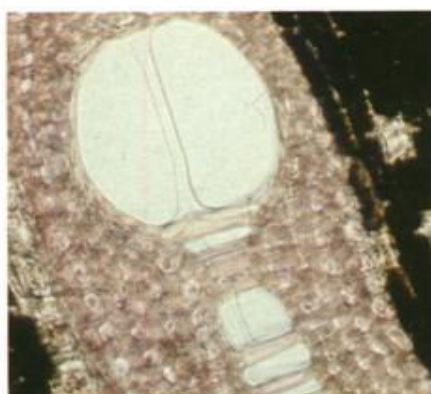


Figure 2.6: Symptômes microscopiques
microscopiques
d'un cordon endocellulaire [53]
[53]

Figure 2.7: Symptômes
d'une cellule géante

2.1.3. Sources de contamination du court noué

Les virus ne peuvent se multiplier que dans les cellules vivantes de leurs hôtes, ce sont des parasites obligatoires. La contamination de nouvelles vignes se réalise principalement par :

- La multiplication végétative, le greffage et le bouturage, de matériel issu de vignes-mères malades; dans le cas du greffage, il suffit que l'un des deux éléments de l'ensemble soit virosé (greffon ou porte greffe) pour que le plant devienne malade [64]

- L'intermédiaire de nématodes, piquant les racines des plants.

- L'inoculation mécanique, selon quatre possibilités; transmission de vigne en vigne, transmission de vigne à des plantes herbacées hôtes tels que (*Chenopodium quinoa*, *Gamphrena globosa*), transmission des plantes herbacées à des plantes herbacées et, transmission des plantes herbacées à la vigne [65,66].

Dans le cas du G.F.L.V., la vigne est l'hôte principale et unique à la fois du virus et de son vecteur *Xiphinema index*. La contamination ne peut provenir que de la vigne ou de son vecteur. C'est ainsi qu'après arrachage d'une vigne malade, que les jeunes vignes sont contaminées par les nématodes qui peuvent rester en vie en transmettant l'infection pendant 5 à 6 ans [3]. Les nématodes du genre *Xiphinema* retiennent les particules virales pendant une longue période [67]. Le

virus est acquis par le nématode aussi bien au stade larvaire qu'au stade adulte au cours des activités trophiques sur les racines des vignes infectées; cette acquisition dure 5 à 15 minutes et la particule virale persiste 8 à 11 mois au niveau des nématodes [68, 69].

2.2. Enroulement

Cette maladie se manifeste en été par l'enroulement des feuilles, le phénomène partant de la base des rameaux et gagnant progressivement l'extrémité. Chez les cépages rouges il y a rougissement internervaire, d'un rouge violacé; seule une bande étroite le long des nervures reste verte accompagner du durcissement du limbe. Chez les cépages blancs, il y a jaunissement et épaissement du limbe. Les symptômes sont spectaculaires sur certains cépages rouges (Merlot, Cabernet, Pinot) mais demeurent plus discrets sur les cépages blancs [9,10].

Les virus de l'enroulement sont des *Closterovirus* transmis par les bois et plants de vigne et par des cochenilles farineuses, hémiptères piqueurs- suceurs polyphages. Les plus fréquents et les plus graves sont GLRaV (*Grapevine leaf-roll associated virus*), ils provoquent une modification du métabolisme des sucres et interviennent donc en réduisant la maturation et l'aoûtement [9].

2.3. Marbrure

Lorsque cette virose affecte le porte-greffe, elle peut engendrer une mauvaise rhizogénèse et des difficultés de réussite au greffage. Sur le porte-greffe "Ruprestres du lot", elle se manifeste par des veinures décolorées, visibles surtout par transparence, donnant cet aspect marbré sur le limbe [9].

2.4. Méthodes de détection des virus de la vigne

2.4.1. Observation des symptômes

La symptomatologie directe ne peut être considérée comme méthode générale de diagnostic, car elle présente un diagnostic incomplet et souvent insuffisant [69]. Chaque maladie à virus présente des symptômes spécifiques, vue les confusions entre les symptômes de certaines maladies qui sont discrètes, irrégulières parfois proche d'autres troubles abiotiques (carences, troubles physiologiques) [70]. .

2.4.2. Indexage par greffage

Certaines variétés révèlent la présence de virus par des symptômes spécifiques, l'indexage consiste à greffer le plant testé sur une variété qui manifeste les symptômes, appelé variété indicatrice. Cette méthode permet de révéler des virus latents sur des plantes ne présentant pas de symptômes, le temps de réponse est de 1 à 3 ans, la variété indicatrice dans ce cas est *Rupestris* du lot [64,71].

2.4.3. Méthode sérologique

Un diagnostic rapide, fiable et facile peut être réalisé par le test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Cette méthode permet de confirmer l'observation des symptômes sur les plantes suspectées d'être malades et aussi détecter des infections latentes, la présence du virus est révélée par colorimétrie [72].

2.5. Stratégies de lutte

Il s'agit uniquement de méthodes préventives visant à produire du matériel végétal sain et à éviter la transmission du virus par les nématodes, elles doivent être prises au moment de la multiplication et la sélection de manière à assurer la production de plants sains. Ce travail est réalisé par les pépiniéristes, les établissements agréés pour multiplier et les organismes situés en amont de la production (I.N.R.A., E.N.T.A.V.)

Plusieurs types de sélection peuvent être mis en œuvre:

2.5.1. La sélection massale:

Cette sélection est basée sur l'observation au champ, elle consiste à choisir dans une parcelle les souches qui ne présentent pas des symptômes de maladies à virus et qui donnent une végétation et une production aussi satisfaisante que possible. Les bois des souches retenus sont commercialisés en tant que "matériel standard"[71,72].

2.5.2. La sélection clonale

La sélection clonale est à la fois sanitaire et génétique, elle consiste à choisir les souches présentant les performances optimales et exemptes de maladie à virus, ensuite les plantes sélectionnées sont multipliées, non pas en mélange, mais en groupant la descendance d'une même souche-mère. L'ensemble de ces individus constitue un clone [71,72].

2.5.3. Thermothérapie, culture in vitro et micro greffage

La thermothérapie est la technique la plus ancienne de celles employées pour éliminer les particules virales dans le matériel végétal atteint, de sauvegarde des variétés de vigne atteintes de viroses [73, 74, 75]. Cette technique se base sur le principe de l'inhibition de la réplication virale aux températures de 38°C à 39°C pendant des durées allant de 2 à 3 mois [76]. La thermothérapie favorise la multiplication cellulaire en élevant la température, alors que cette hausse diminue la vitesse de multiplication des virus, cette technique a permis de guérir des plantes mais son application reste en générale limitée [77].

La répartition des virus semble très variable selon les organes du plant virosé; le méristème en particulier est une structure très protégée et est généralement indemne de virus. C'est à partir de cette observation que MOREL et MARTIN [78] ont démontré qu'il était possible d'obtenir des clones sains à partir des plantes virosées par la culture *in vitro* des tissus méristématiques [79].

Le micro-greffage consiste à greffer, dans des conditions d'asepsies, sur un porte-greffe sain, issu de semis *in vitro*, un méristème caulinaire prélevé sur la plante à guérir [64, 71,80].

2.5.4. Recherche de porte-greffes résistants aux nématodes

Etant donné que la désinfection préventive au moyen de nématocides ne supprime pas totalement les risques de recontamination progressive des parcelles, ceci nécessite la recherche d'un porte-greffe résistant à la transmission du virus [10].

Enfin les viticulteurs ont intérêt à planter dans un sol exempt de nématode, en particulier de *Xiphinema index*; de plus, il est préférable d'éviter la culture vigne sur vigne afin d'éviter conservation des nématodes dans le sol.

CHAPITRE 3

MATERIELS ET METHODES

3.1. Vignobles étudiés

Après des enquêtes préliminaires auprès des viticulteurs, dans le but de localiser les cas de dépérissement de la vigne dans quelques régions viticoles algériens; nous avons constaté des taux de dépérissement important principalement situé dans trois régions:deux régions à vocation viticoles qui sont Mascara et Médéa et la région de Blida où l'activité viticole commence de prendre de l'importance.

Le choix des ces régions a été motivé d'une part par la variabilité des cépages et de l'âge des vignobles, et d'autre part par la variabilité des conditions pédoclimatiques de ces régions.

3.1.1. Région de Mascara

La région de Mascara est située à 380 km à l'ouest de la capitale et à 474 mètres d'altitude, connue comme étant une région viticole depuis l'époque colonial. Selon les statistiques des services agricoles de cette wilaya [81], la superficie viticole de la wilaya est de 7.290 ha pour l'année 2004, cette surface est répartie en vigne de table (4200 ha), en vigne de cuve (2793 ha), en raisin sec (72 ha) et en champs de pieds mères (225 ha). Notre enquête épidémiologique a

été effectuée au niveau de deux sites viticoles, la ferme pilote de Téghnif (Maoussa) et le vignoble de Ouled el khamessa (Tableau 3.1).

3.1.2. Région de Médéa

La région de Médéa située à 1200 mètres d'altitude, sur l'atlas tellien à 90 km au sud ouest d'Alger, se caractérise par une superficie viticole de 7225 ha pour l'année 2004; dont 6259 ha pour une production de 171570 qx de raisin de table, 948 ha pour une production de 20900qx de raisin de cuve, et 23 ha pour champs de pieds mère [82]. Dans cette région notre étude a été effectuée au niveau de la localité du Benchicao ou la majorité de l'activité viticole de cette wilaya se concentre. Dans cette localité de Benchicao qui se trouve à 15 km au sud du chef lieu de la wilaya de Médéa, nous avons retenu pour notre étude deux sites viticoles (Tableau 3.1).

3.1.3. Région de Blida

Au niveau de la troisième région de notre étude, ces cinq dernières années la Wilaya de Blida a connu une intense activité en matière de création de vignobles. Ainsi la superficie viticole arrêté est approximatif de 1551.5 ha, dont 1181ha sont destinés à la production de raisin de table et 370,50 ha pour la production de 16500 qx de raisin de cuve [83].

Notre suivi épidémiologique du dépérissement de la vigne a été effectué au niveau d'un vignoble de 10 ha situés dans la localité de Chebli, distants de 20 km du chef lieu de la wilaya (Tableau3.1).

Notre suivi épidémiologique a été effectué durant la campagne viticole 2003, au niveau de quatre sites viticoles comportant six vignobles:

- le premier site situé dans la localité de Maoussa (Mascara) comporte deux vignobles, et deux cépages noir (Cabernet sauvignon et sultanine)
- le deuxième site situé dans la localité de Ouled el khamessa se trouve à 13 km à l'est du chef lieu, comporte un cépage blanc (Dattier de Beyrouth).

-le troisième site situé dans la localité de Benchicao comporte deux vignobles un contient un cépage noir Carignan et l'autre un cépage blanc (Dattier de Beyrouth).

-le quatrième site situé dans la localité de Blida comporte un vignoble et un cépage blanc (Dattier de Beyrouth)

D'une manière générale dans les quatre sites, l'âge des parcelles est compris entre 16 et 35 ans la superficie des parcelles varie de 4,5 à 12 ha. Deux modes de conduite sont adoptés ; le Goblet et le cordon double.

Tableau 3.1: Les caractéristiques des sites étudiés [81], [82] et [83]

Régions	Médéa		Blida	Mascara		
Site	Benchicao		Chebli	Maoussa (F.P Tighenif)		Ouled el khamessa
Cépage	Dattier de Beyrouth	Carignan	Dattier de Beyrouth	Cabernet sauvignon	Sultanine	Dattier de Beyrouth
Age (an)	35	27	16	19	15	16
Superficie (Ha)	12	06	10	06,5	04,5	05
Mode de taille	Cordon double	Cordon double	Cordon double	Goblet	Goblet	Goblet
Date de taille	Décembre	Décembre	Décembre	Décembre	Décembre	Décembre

3.2. Evaluation des dépérissements de la vigne

Dans notre enquête épidémiologique sur le dépérissement de la vigne, nous nous sommes basés sur la recherche et la détection des symptômes typiques des deux maladies concernées par notre étude. Il s'agit de rechercher les manifestations symptomatologiques du court noué causées par (GFLV) et de

l'eutypiose causée par *Eutypa lata*. Dans chaque vignoble prospecté, nous avons recueilli des informations pouvant afférer avec les états de dépérissement, notamment l'âge des ceps, l'encépagement, les modes de conduites, les traitements phytosanitaires effectués, en plus des conditions pédoclimatiques.

Selon DUBOS [4] le tirage aléatoire des échantillons est la manière la plus objective de choisir les ceps à observer et à analyser. Dans chacun des six vignobles étudiés, nous avons sélectionné 500 ceps répartis aléatoirement en évitant les lignes de bordures, dans 10 unités parcellaires où chaque unité est représentée par 50 ceps étudiés. Nos observations ont concernées 3000 ceps (500 x 6) au total à travers les trois régions (Annexe A).

Pour l'identification de l'origine biotique éventuelle des dépérissements observés, nous avons recherché les symptômes typiques de chaque maladie étudiée en notant l'état sanitaire des ceps étudiés.

Les symptômes de l'eutypiose étaient facilement confondus avec ceux provoqués par le virus du court noué, pour cette raison, et pour réaliser notre travail nous avons adopté des méthodologies symptomatologiques en fonction de chaque maladie.

3.2.1. Cas de l'eutypiose

3.2.1.1. Echelle d'évaluation

D'après la méthode élaborée par [44], l'échelle de l'évaluation des symptômes d'eutypiose se base sur le comptage des ceps présentant des anomalies (végétation chétive, régulière, partie ou totalité des bras morts et entres nœuds courts et réguliers). Cette méthode se compose d'une échelle d'évaluation de cinq indices, allant de l'indice 0 pour les ceps sains (aucun symptôme) à l'indice 4 pour les ceps morts (tableau 3.2), dans notre cas le ceps est considéré eutypié s'il présente au moins l'indice (2)

Tableau 3.2: Echelle d'évaluation des symptômes d'eutypiose [44]

Indice	Etat du cep (symptômes)
0	Cep sain (aucun symptôme)
1	Symptômes douteux : bras mort Une partie du bras morte
2	symptômes limités à une partie du cep Nécroses foliaires, rabougrissement et/ ou destruction foliaire
3	symptômes généralisés sur l'ensemble du cep
4	Cep mort

Pour l'évaluation des effets de dépérissements engendrés par les ceps eutypiés (atteint d'eutypiose), nous avons utilisé un paramètre de calculs " Incidence d'eutypiose".

Selon PEROS [46], l'incidence de l'eutypiose correspond au pourcentage de ceps vivants noté 2 et 3 selon l'échelle, par rapport aux ceps totaux observés soustraits des ceps morts.

Incidence (%) : (ceps notés 2 + ceps notés 3) / (ceps observés – ceps morts).

3.2.2. Cas du court noué

Le suivi des ceps soupçonner d'être virosé par le court noué, nous avons adapté une échelle symptomatologiques sur la base du descriptif établi par (Bovey, 1980 et Galet, 1995).

Tableau 3.3 : Echelle d'évaluation des symptômes du court noué adapté par (Bovey, 1980 et Galet, 1995).

Indice	Etat du cep (symptômes)
--------	-------------------------

0	Cep sain (aucun symptôme)
1	Rameaux en zigzag, parfois fasciés et mérithalles courts, présence parfois double nœuds
2	Les rameaux jeunes rabougris présentent des entre-nœuds doubles.
3	symptômes généralisés sur l'ensemble du cep
4	Cep mort

Cette incidence permet d'évaluer l'altération globale du potentiel de production de la parcelle, il est calculé selon la formule suivante

Incidence (%) : (ceps notés 2 + ceps notés 3) / (ceps observés – ceps morts).

3.3. Prélèvement des échantillons

Après réalisation des descriptifs symptomatologiques et localisation des ceps dépéris, nous avons prélevé aléatoirement de chaque vignoble 10 ceps parmi les 500 ceps observés pour mieux situer les causes du dépérissement, deux types d'échantillons ont été réalisés à partir du feuillage et du bois séparément.

3.3.1 Prélèvement des feuilles

De chaque cep, nous avons prélevé deux à cinq feuilles, selon l'abondance du feuillage, et conservées au froid afin d'éviter toute altération ou dessèchement pour subir ultérieurement les testes sérologiques de détection du virus du court noué.

3.3.2. Prélèvement du bois

Les ceps dépéris ont été sectionnés à la base du tronc, fractionnés et conservés dans des sacs en papier pour analyse au laboratoire, à l'aide d'une scie, des fragments ont été découpés à la limite de présence de symptômes suspectés, notamment les nécroses sectorielle.

De chaque cep 5 à 6 bûchettes de bois dépéris ont été découpées et de chaque bûchette six fragments (1x1 cm) ont été utilisés pour la détection éventuelle de l'agent causal de l'eutypiose.

3.4. Isolement et recherche de l'agent causal de l'eutypiose

3.4.1. Désinfection et isolement

Selon la technique décrite par (Dubos, 1987), chaque fragment a subi au préalable une désinfection pour éliminer le maximum de la microflore secondaire ou accessoire de la surface. Les fragments ont été désinfectés par leur passage dans un bain d'eau javellisée (10°) pendant 20 à 30 minutes, suivi d'un rinçage abondant à l'eau distillée stérile.

Après désinfection, les fragments de bois ont été déposés dans des boîtes de Pétri contenant un milieu gélose, les isollements ont été effectués sur deux milieux de cultures ; le milieu Malt (Annexe B) et le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (Annexe C) [84] (Figure 3.1 et 3.2)



Nécrose

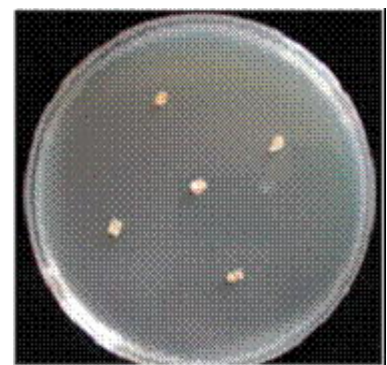


Figure 3.1: Une nécrose de culture position sectorielle fragments de bois

Figure 3.2: Mise en des

3.4.2. Observation et purification des cultures

Après 5 à 6 jours d'incubation à 25C° et à l'obscurité, seulement les colonies présentant des caractéristiques macro morphologiques ressemblant à ceux de l'agent causal recherché qui ont été délimités et transplantés dans de nouvelles boites de pétri sur le milieu PDA. Les caractéristiques culturelles recherchées sont surtout le type de croissance des colonies, la couleur et la texture du mycélium ().

Après incubation dans les mêmes conditions précitées, chaque colonie a été observée en vérifiant sa pureté culturelle, après plusieurs repiquages, jusqu'à l'obtention d'une culture pure. Pour s'assurer de la pureté de nos isolats des observations microscopiques ont été effectuées sous un grossissement (40x10x10).

Les principaux caractères microscopiques pris en considération; ce sont les champignons qui sont accusés dans le dépérissement, la nature des hyphes, les caractéristiques des asques et des ascospores, le type du mycélium et la présence des fructifications [85] et [86].

3.4.3. Recherche des fructifications de l'agent causal

Comme il est mentionné dans la bibliographie, les fructifications permettant une identification plus précise, sont difficiles à obtenir, des fragments de bois prélevés des ceps dépéris ont été conservés dans des sachets noir en plastiques, pour favoriser la fructification éventuelle de l'agent recherché pendant une période de trois mois.

3.4.4. Teste de pathogénicité

3. 4.4.1. Matériel végétal

Les testes de pathogénicité ont été réalisées sur des plants de vigne de trois à quatre bourgeons des variétés suivantes (Gros noir, Alphonse lavallé, Dattier de Beyrouth, Muscat et Cardinal) et sur deux portes greffes (41 B et So4) (Figure 3.3 ,3.4 et 3.5).

Les plants utilisés ont été plantés dans des pots en plastique contenant un substrat composé de la tourbe et le sol (2/3). Le matériel végétal utilisé provenant d'un complexe de greffage situé à Chiffa (Blida) avait un certificat sanitaire et un bulletin de conformité délivrés par le CNCC (Centre Nationale de Contrôle et Certification) d'El-Harrach sous le n°muro 00695/03 confirmant le bon état sanitaire.

En raison de la lenteur et la difficulté de développement des symptômes typiques de l'eutypiose sur les plants ou les porte greffes de vigne, d'autre essai de pathogénécité ont été réalisés sur des vitro plants et des cals (Dattier de Beyrouth, Hameur bouameur et Cinsault) (Figure 3.6, 3.7) obtenus par vitroculture âgé de 60 jours cultivé sur milieu Murashige et skoog [87] (Annexe D) auprès du laboratoire d'amélioration des plantes .



Figure 3.3: Plant de vigne
"Alphonse lavallé" avant inoculation

Figure 3.4: plant de vigne
Gros noir avant inoculation



Figure 3.5 : Plant de vigne " cardinal"
avant inoculation



Figure 3.6 : Vitro plant
avant inoculation

Figure 3.7: Vitroplant "Cinsault"
avant inoculation

3.4.4.2. Préparation d'inoculum fongique

Vu l'absence des fructifications dans les cultures, l'inoculum a été préparé avec le mycélium. Les cultures fongiques purifiées et caractérisées, ayant présenté des caractères similaires à ceux décrite pour *Eutypa lata*, ont été cultivés séparément dans des boites Pétri contenant le milieu PDA. De chaque boite, le mycélium âgé de 21 jour a été raclé et mis en suspension dans une solution $Mgso_4, 7H_2O$.

3.4.4.3. La technique d'inoculation

La technique d'inoculation consiste à pratiquer à l'aide d'un scalpel, trois blessures superficielles à des positions différentes sans toucher le cambium sur les plants de vigne, ou sur les portes greffes. Le scalpel est désinfecté avant et après chaque utilisation en le trempant dans l'alcool à (7%) de concentration puis dans l'eau distillée stérile, la même technique est réalisée sur les vitro plants avec une lame stérile.

A l'aide des seringues stériles (1 ml) de chaque suspension fongique a été injecté dans chaque blessure. Les points d'inoculations sont entourés par des tampons coton fortement humectés d'eau stérile. Des plants inoculés de la même manière avec de l'eau distillée ont été utilisés en qualité de témoins sains.

Sur les cultures des cals l'inoculation de l'agent fongique a été réalisée dans les mêmes conditions en déposant un disque mycélien d'un diamètre de 1 à 2 cm, à la surface de chaque culture. Les témoins sains sont traités de la même manière avec des disques de milieu de culture sans la culture du champignon.

3.4.4.4. Le taux d'infection

Une semaine après l'inoculations, des observations quotidiennes ont été réalisées sur les matériels végétaux inoculés (des plants, des portes greffes, des vitro plants et des cals). Les observations visent à rechercher d'éventuel développement des nécroses au niveau des parties infectées. Le suivi s'est basé sur une échelle qui nous permet de mettre en évidence l'apparition de l'infection, qui est composée de principales caractéristiques de la maladie selon la description de FALLOT [16].

- 0 : pas de symptômes
- 1 : nécrose de feuillage
- 2 : nécrose sur tige
- 3 : dépérissement latéral ou partiel
- 4 : dépérissement généralisé
- 5 : mortalité

3.5 Détection sérologique du GFLV par le test ELISA

3.5.1. Extraction du virus

Tous les échantillons prélevés du terrain sont pesés individuellement et uniquement; 1 g. de feuille fraîche est broyé séparément à l'aide d'un mortier dans un 5 ml de solution de broyage (Annexe E)

3.6. Le principe du test ELISA

Le test ELIAS (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) est une réaction sérologique entre antigène et anticorps « sérum » couplé à une enzyme phosphatase alcaline avec un substrat le PNPP (*paranitrophénylphosphosphate*) par une réaction d'hydrolyse [88].

Il existe deux variantes de la méthode ELISA, La DAS-ELISA et la TAS-ELISA .Dans ce travail c'est la DAS-ELISA qui est utilisée, l'anticorps spécifique est conjugué à une enzyme, la phosphatase alcaline qui est, en mesure de déclencher la réaction colorée du substrat, Cette technique permet de détecter de très petites quantités de virus, elle est très sensible et rapide.

3.6.1 Mode opératoire du test ELISA

La méthode Elisa est réalisée en 5 étapes successives, chacune d'elles est séparée par une période d'incubation et de lavage.

Etape 1 : Fixation des anticorps

La première étape du test Elisa consiste à déposer les anticorps dilués dans leur solution à raison de 1,1 ml par puits.

Les puits périphériques sont remplis d'eau distillée afin d'éviter tout effet de bordure. Les anticorps seront ensuite fixés par les parois et les fonds des puits de la plaque de microtitration. Cette dernière a été par la suite mise en incubation, à 37°C pendant 2 h, puis lavée deux fois par la solution de lavage à raison d'un lavage toutes les 10 mn.

Etape 2 : Dépôt des échantillons

La deuxième étape consiste à déposer séparément chacun des échantillons à analyser sur la plaque de microtitration à raison de 0,1 ml par puits pour chacun des 4 échantillons avec une répétition de 6 pour les échantillons virosés et de 4 pour les témoins négatifs.

Plaque de microtitration, cette dernière a été par la suite mise en incubation, à 37°C pendant 2 h, puis lavée deux fois par la solution de lavage à raison d'un lavage toutes les 10 mn.

Cette dernière a été par la suite mise en incubation, à 37°C pendant 2 h, puis lavée deux fois par la solution de lavage à raison d'un lavage toutes les 10 mn.

Etape 3 : Dépôt des conjugués

Nous avons ajouté dans chaque puits de la plaque ELISA 200 µl de sérum conjugué qui n'est autre que l'anticorps spécifique au virus testé, conjugué à une enzyme (la phosphatase alcaline), les plaques sont mises en incubation à 37° pendant 3 heures, puis lavées trois fois (10 min) avec la solution de lavage.

Etape 4 : Dépôt du substrat

Le substrat paranitrophenyl phosphate dilué dans sa solution est apporté en dernier dans les puits à raison de 200 µl par puits, l'incubation se fait à température ambiante de l'ordre de 37C°.

Etape 5 : Lecture des résultats

Le résultat des réactions de la DAS –ELISA est donné par l'intensité de coloration évaluée par lecture photométrique à 405 nm. La première lecture est faite après 30 minutes d'incubation à température ambiante L'opération est répétée 3 fois, ceci nous permettra de suivre l'évolution des réactions, mais les dernières lectures sont prises en considération. L'intensité de la coloration est comparée à celle du témoin négatif. Un échantillon est considéré positif quand sa densité optique (D.O) est supérieure 2 fois à la D.O moyenne de celle du témoin négatif. La lecture des plaques a été réalisée à L'ITAF "Tessala Elmerdja

Solution tampons

Les protocoles des solutions tampons sont décrits en annexe4.

CHAPITRE 4

RESULTATS ET INTERPRETATION

4.1. Diagnostic et symptomatologies

4.1.1. Aspect végétatif des vignobles

Les observations générales effectuées dans les vignobles étudiés ont montré une hétérogénéité notable dans la structure des parcelles et leur conduite. D'une manière générale, nous avons noté :

- Une densité de plantation assez élevée.

- Les viticulteurs arrachent les ceps au fur et à la mesure qu'ils observent des dépérissements, en procédant à leur remplacement par des jeunes plants, provoquant une hétérogénéité végétative et un déséquilibre dans la production. La mise en terre des jeunes et nouveaux plants au milieu d'une population déjà adulte et dans des trous précédemment occupés, présente des difficultés dans l'implantation.

- une autre hétérogénéité très remarquable dans les cépages, un mélange variétal montrant une vigueur plus au moins faible.

- Le sol mal travaillé et mal entretenu, envahi par de nombreuses espèces de mauvaises herbes.

- La pratique d'une taille anarchique, laissant apparaître de grandes plaies souvent non protégées.
- Un feuillage dense provoquant beaucoup d'ombre sur les feuilles inférieures qui présentent une coloration souvent jaunâtre, synonyme d'une faible activité photosynthétique due à une mauvaise exposition au soleil. Il est utile de rappeler que de telles conditions favorisent l'installation et le développement d'une multitude d'agents pathogènes, notamment les agents fongiques.

4.1.2. Symptomatologie

Le descriptif symptomatologique, effectué dans les différentes périodes printanière et estivale montre l'existence des cas de dépérissements typiques, telle que la présence de dépérissement touchant un ou plusieurs bras sur les mêmes sujets:

- Cas de mortalité totale du cep : Dans la plupart des parcelles prospectées, un nombre très important de cep dépéris a été noté surtout dans les localités de Benchicao (Médéa), à Mascara et un degré moindre dans la localité de Chebli (Blida) (Figure 4.1,4.2)

- Cas de mortalité partielle (bras mort): Pratiquement dans l'ensemble des sites viticoles, nous avons observé sur de nombreux ceps l'existence d'un seul bras mort, alors que le reste présente une végétation et un développement normal (Figure 4.3)

4. 1.2.1. Symptômes de' l'eutypiose

- Ce type de symptômes a été observé sur les quatre cépages étudiés, présentant un rabougrissement de la végétation avec un aspect buissonnant bien distinct des souches saines.

- Les feuilles sont petites par rapport à leur état normal, de taille très réduite, déformées et quelques fois chlorotiques et nécrosées sur les bords.

- Les pousses présentent des entre-nœuds très courts, réguliers parfois; les nœuds se succèdent avec un mérithalle très réduit et aucun dédoublement d'entre nœuds n'a été relevé.

- Une très forte coulure des inflorescences a été relevée, accompagnée parfois de bais millerandé sur les grappes.

Ces symptômes ont été rencontrés dans tous les vignobles et particulièrement dans la localité de Maoussa (Mascara).



Figure 4.1: Nombre important de ceps dépéris



Figure 4.2: Nombre important de ceps manquants



Bras morts

Figure 4.3: Symptômes d'eutypiose sur un seul bras

4.1.2.2. Les symptômes du Court noué

Les symptômes caractéristiques du court noué ont été observés particulièrement durant la période estivale montrant les aspects suivants:

- Les ceps présentent un aspect buissonnant avec un dessèchement total où partiel. Le regroupement des parties vertes sur les extrémités des ceps, alors que le reste est dégarni donnant un aspect de balai de sorcière.
- Les feuilles présentent une taille réduite et une morphologie déformée. chez les cépages blancs tel que le Dattier de Beyrouth où un jaunissement accentué a été observé. Souvent, nous avons noté la manifestation de cas de panachures sous diverses formes, particulièrement la panachure ordinaire (Figure 4.4 et 4.5).
- Un raccourcissement des entres nœuds provoquant un développement en touffe et parfois la présence des doubles nœuds.

Ces symptômes ont été notés surtout dans la localité de Benchicao (Médéa) et parfois dans la localité de Chebli (Blida).

En plus, des symptômes de l'eutypiose et du court noué, d'autre cas symptômes de dépérissement ont été relevés



Figure 4.4: Symptômes de décoloration des feuilles



Figure 4.5: Symptômes de dessèchements et décoloration

4.1.2.3. Autres types de dépérissement

Il est important de signaler la présence dans le site viticole de la localité de Chebli (Blida), des ceps qui présentaient à la fois les deux types de symptômes de l'eutypiose et de court noué, montrant une variation symptomatologique au niveau de la végétation telles que :

- Les feuilles présentent des dessiccations internervaires et marginales donnant des digitations entre les nervures principales, avec un aspect marbré et nécrosé entouré d'une lisère jaune chez les cépages blancs (Dattiers de Beyrouth) (Figure 4.6)

- Un dessèchement de la partie herbacée y compris les grappes qui sont touchées, car les baies sont petites; ces altérations sont localisées sur une partie et parfois sur la totalité du cep (Figure 4.7).

- Apparition des carpophores sur bois (Figure 4.8)



Figure 4.6: Symptômes de l'esca sur cep



Figure 4.7: Symptômes de l'esca sur grappe



Figure 4.8 : Apparition d'un carpophore sur le bois

4.2. Dépérissements au niveau des vignobles

4.2.1 Distribution des catégories de symptômes de dépérissement

Dans les six vignobles étudiés, nous avons constaté la présence des taux variables de différentes catégories des symptômes ciblés. Par ordre d'importance, les résultats (Tableau 4.1) montrent qu'en moyenne les symptômes caractérisant l'eutypiose présentaient des taux allant de 14,2 % à plus de 33,8 %. La deuxième catégorie de symptômes, qui semble aussi importante, concerne le court noué qui a été rencontré avec des taux allant de 2,4 % à 31%.

En ce qui concerne les deux autres types de symptômes, à savoir les mortalités totale et partielle des ceps, nous avons enregistré respectivement des taux allant de 18 % à 24,4 % et de 2,8 % à 21 %.

Tableau 4.1: Taux ^(a) de répartition des différents types de symptômes dans les régions prospectés

localités	eutypiose	court noué	mortalité	
			total	partielle (Bras)
MMC	33,8 ± 2,02 *	2,4 ± 2,01	24,4 ± 2,02	21 ± 2,01
MMS	24,4 ± 2,01	4,6 ± 2,01	18 ± 2,01	14 ± 2,01
MOD	28,6 ± 2,02	9,2 ± 2,01	22,8 ± 2,01	11,4 ± 2,01
MBC	17,2 ± 2,01	31 ± 2,01	22,8 ± 2,01	2,8 ± 2,01
MBD	14,2 ± 2,01	24,8 ± 2,01	24,2 ± 2,01	16,6 ± 2,01
BCD	14,6 ± 2,01	27 ± 2,01	21 ± 2,01	10,2 ± 2,01

^(a) : le taux moyen est estimé pour chaque catégorie symptomatologique de l'échantillon observé (n= 500 ceps)

* Taux moyen accompagné de l'écart type (α : risque d'erreur = 5%)

MMC : Mascara Maoussa Cabernet sauvignon

MMS : Mascara Maoussa Sultanine

MOD : Mascara Ouled el Khamessa Dattier de Beyrouth

MBC : Médéa Benchicao Carignon

MBD : Médéa Benchicao Dattier de Beyrouth

BCD : Blida Chebli Dattier de Beyrouth

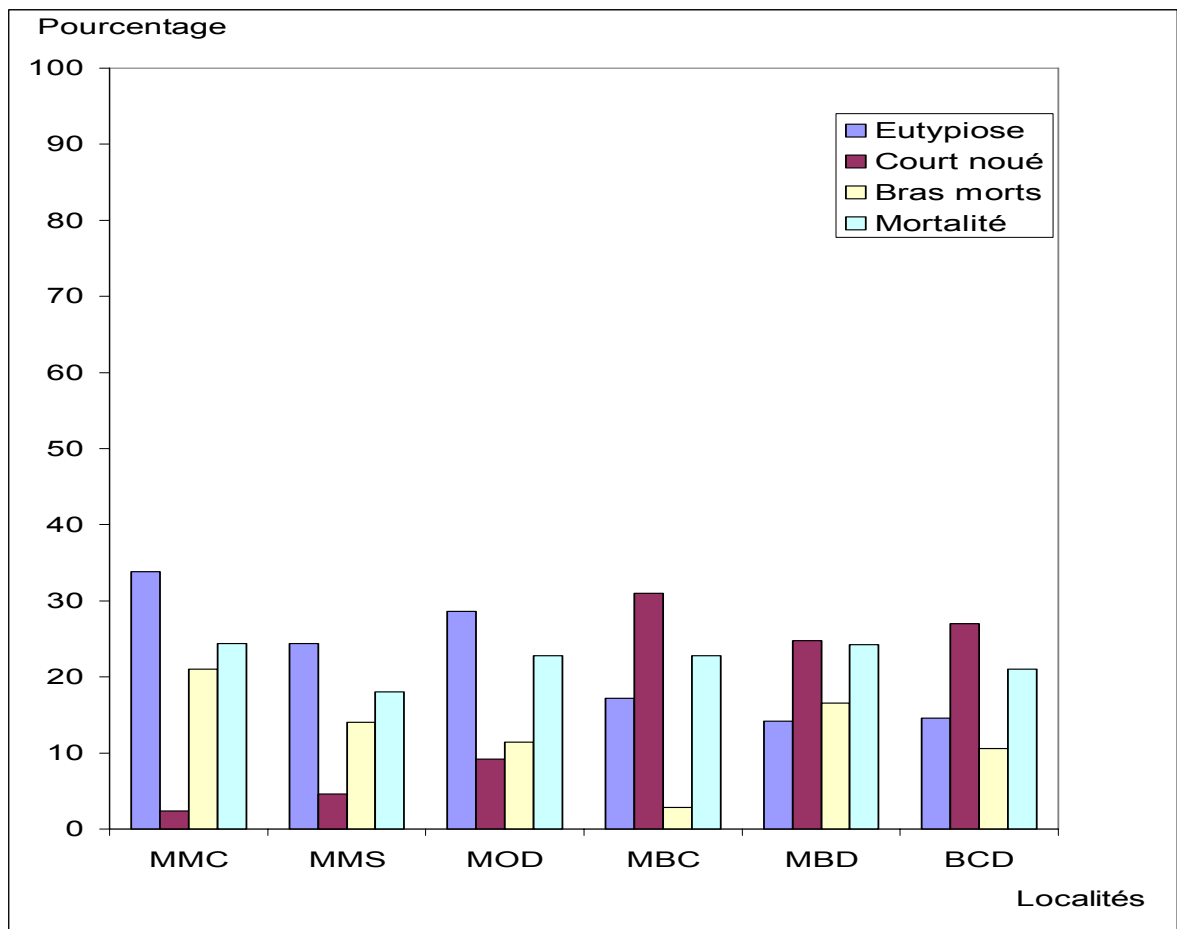


Figure 4.9 : Pourcentage (%) de ceps morts, bras mort, eutypiose et court noué (n : 500 ceps observés pour chaque vignoble)

MMC	Mascara Maoussa Cabernet sauvignon
MMS	Mascara Maoussa Sultanine
MOD	Mascara Ouled el Khamessa Dattier de Beyrouth
MBC	Médeá Benchicao Carignon
MBD	Médeá Benchicao Dattier de Beyrouth
MOD	Mascara Ouled el Khamessa Dattier de Beyrouth
BCD	Blida Chebli Dattier de Beyrouth

Les quatre catégories de symptômes ont été notées sur l'ensemble des sites viticoles prospectés. Le taux de mortalité des ceps le plus élevé a été noté à Maoussa (Mascara).

Les symptômes typiques de l'eutypiose, bras morts, ont été observés surtout dans les localités de Maoussa (Mascara). Parfois ces symptômes ont été aussi observés au niveau des parcelles de Benchicao (Médéa) et de Chebli (Blida).

Dans la totalité des vignobles prospectés, il a été noté la présence de symptômes du court noué. Dans la région de Mascara les taux enregistrés étant,

inférieur à 10 %, alors que dans les localités de Benchicao et de Chebli ont atteint respectivement 31 % et 27 %.

4. 2.2 Evaluation des dépérissements au niveau des cépages

Quelque soit le cépage, nous avons observé le développement et l'existence des quatre catégories de symptômes étudiés (Tableau 4.2), les symptômes de l'eutypiose ont été observés avec des taux allant de 17,2% sur Carignan et dépassant le seuil de 33% sur Cabernet sauvignon.

Les symptômes du court noué ont été notés à des taux de contamination de plus de 30% sur Carignan, et plus de 20% sur Dattier de Beyrouth; alors que les cépages de Cabernet sauvignon et sultanine ont montré de faible taux respectivement de 2,4 % et 4,6%.

En ce qui concerne les mortalités, totale et partielle (bras mort) ont été observés et rencontrés sur les quatre cépages composant les sites viticoles étudiés avec des taux allant de 14 % à 24,4%.

Tableau 4.2 : Taux ^(a) de répartition des différents types de symptômes selon les cépages

Cépages	eutypiose	court noué	mortalité	bras morts
Cabernet sauvignon	33,8 ± 2,02 *	2,4 ± 2,01	24,4 ± 2,02	21 ± 2,02
Sultanine	24,4 ± 2,02	4,6 ± 2,01	18 ± 2,01	14 ± 2,01
Dattier de Beyrouth	19,13±2,01	20,33±2,01	22,7±2,02	12,9±2,01
Carignan	17,2 ± 2,0 1	31 ± 2,02	22,8 ± 2,02	21,1 ± 2,01

^(a) : le taux moyen est estimé pour chaque catégorie symptomatologique de l'échantillon observé (n= 500 ceps)

* Taux moyen accompagné de l'écart type (α : risque d'erreur = 5%)

4.2.3. Evaluation du dépérissement selon les régions

L'analyse de la répartition des symptômes sur les ceps atteints selon les trois régions étudiées a montré (Tableau: 4.3)

- La dominance des symptômes de l'eutypiose et ceux du bras morts sur les ceps dans la région de Mascara, cette région s'est montrée la plus affectée par l'eutypiose avec un taux de 28,9% et la moins touchée par le court noué avec un taux de 5,4%, moyennement noté dans les deux régions de Médéa et de Blida

- Les symptômes du court noué sont dominant surtout dans les régions de Médéa et de Blida, avec un taux dépassant 27 % alors qu'il est très moindre dans la région de Mascara (5,4).

- La mortalité des ceps est assez importante dans les trois régions prospectées allant de 18% à 24, %.

- Les deux régions Médéa et Blida sont moyennement touchées par l'eutypiose, Bras morts, mais les symptômes du court noué sont dominants avec des taux qui égalent où dépassent 27%.

Tableau 4.3:Taux ^(a) de répartition des différents types de symptômes selon les régions

Régions	eutypiose	court noué	bras morts	mortalité
Mascara	28,9 ± 2,02 *	5,4 ± 2,01	15,5 ± 2,01	21,7 ± 2,02
Médéa	15,7 ± 2,01	27,9 ± 2,02	9,7 ± 2,01	23,8 ± 2,01
Blida	14,6 ± 2,01	27 ± 2,02	10,6 ± 2,01	21 ± 2,01

^(a) : le taux moyen est estimé pour chaque catégorie symptomatologique de l'échantillon observé (n= 500)

* Taux moyen accompagné de l'écart type (α : risque d'erreur = 5%)

4.2.4. Incidence de l'eutypiose et de court noué

En examinant l'incidence des deux maladies (tableau 4.4), eutypiose et court noué, sur les différents vignobles nous constatons un impact très important de l'eutypiose dans la région de Mascara allant de 46,82 % à 72,29 %, alors qu'il n'est que de 3,6 % dans le cas des symptômes du court noué. Cette dernière maladie reste aussi importante dans la région de Médéa où les taux enregistrés varient de 32,71% à 40,46%; elle est dominante par rapport à l'incidence de l'eutypiose. Pour la région de Blida, les niveaux d'incidence se rapprochent et restent en moyenne importants respectivement avec des taux d'incidences de l'ordre de 34,17 % et est de 31,89 %.

Ces deux maladies ont des conséquences directes et néfastes pour le viticulteur provoquant au moins la perte d'une partie des récoltes. Il existe des conséquences bien que sournoises, lentes et progressives telles que la dépréciation de la qualité des produits viticoles, la dévalorisation du capital d'exploitation et la baisse de la valeur de la plantation et de son foncier. La difficulté réside dans le savoir quelle est la maladie responsable afin d'optimiser le choix des méthodes de lutte ?

L' eutypiose peut économiquement prendre des proportions considérables si les viticulteurs ne prennent pas des précautions à temps; la propagation de la maladie qui constitue un danger économique à plus long terme, l'arrachage et le remplacement des ceps dépris créent une hétérogénéité dans les parcelles. A propos de l'impact de l'eutypiose sur la quantité et la qualité des rendements des vignobles, LEGAT en 1945 a entrepris une étude sur plusieurs cépages dans plusieurs régions viticoles en France (Angon, Médoc, Haut pointaux) montrant que seule la présence de rameaux rabougris influence notablement la perte de récolte et déprécie la qualité des biais [89].

Tableau 4.4:Taux ^(a) d'incidence de deux types de maladies (eutypiose et court noué) selon les régions étudiés

Localités	eutypiose	court noué
MMC	72,29 ± 2,02 *	3,16 ± 2,01

MMS	46,82 ± 2,02	5,60 ± 2,01
MOD	51,81 ± 2,02	11,91 ± 2,02
MBC	26,10 ± 2,02	32,71 ± 2,02
MBD	40,63 ± 2,02	40,46 ± 2,02
BCD	31,89 ± 2,02	34,17 ± 2,02

(^a) : le taux moyen est estimé pour chaque catégorie symptomatologique de l'échantillon observé (n= 500)

* Taux d'incidence accompagné de l'écart type (α : risque d'erreur = 5%)

MMC : Mascara Maoussa Cabernet sauvignon

MBC : Médéa Benchicao Carignon

MMS : Mascara Maoussa Sultanine

MBD : Médéa Benchicao Dattier de Beyrouth

MOD : Mascara Ouled el Khamessa Dattier de Beyrouth

BCD : Blida Chebli Dattier de Beyrouth

4.3. Interprétation

4. 3.1 Diagnostic symptomatologique

La gravité des symptômes dans les régions de Mascara et de Médéa peut être lié aux conditions climatiques caractérisant ces régions durant la période printanière, où le rôle des gelées n'est pas à écarter. Les dégâts corrélés à la présence des gelées printanières ont été bien mentionnés dans de nombreux travaux, particulièrement durant les années 1985- 1987 dans les vignobles français.

La mortalité, que ce soit totale ou partielle, enregistrée dans les parcelles viticoles étudiées témoigne de l'existence des phénomènes de dépérissement au sein de nos vignobles, cela n'accuse pas seulement l'importance de l'eutypiose ou du court noué malgré que ces deux maladies induisent la mort certaine des ceps, mais laisse suggérer l'existence d'autres agents pathogènes. Les symptômes de bras morts ont été constatés surtout dans les localités de Maoussa (Mascara) et parfois au niveau des parcelles de Benchicao (Médéa) et de Chebli (Blida). Des enquêtes réalisées dans des régions viticoles européennes ont montré que la présence des symptômes de l'eutypiose tels que les bras morts, ne se montrent

pas de façon stable et régulière mais ils varient selon les cépages de chaque région [17].

Munkhvoid [90] ont noté en Grèce dans la région de Corinthe sur le cépage sultanine 41% de ceps présentait des bras morts sur un côté de la souche. Ces observations ont été rapportées dans les travaux de [14, 20,25] où il a été signalé des constatations similaires dans des vignobles français mais avec des fréquences variables.

Cet état de faits peut incriminer l'eutypiose comme cause principale de la présence des bras morts au niveau des ceps. [90] pensent que le principal effet de l'eutypiose étant la mort des coursons. D'après MOLLER et KASIMATIS [91] et DUBOS[4], *Phomopsis viticola* agent fongique de l'excoriose a été pendant longtemps accusé comme cause de la mortalité des bras, à cause de la ressemblance de ces caractères morphologiques et culturels avec *Eutypa lata*.

L'eutypiose est une infection qui provoque la perte des parties fructifères (coursons) des ceps. Les pourcentages des ceps qui présentent les symptômes de cette maladie (rabougrissement, réduction des feuilles accompagnée par des nécroses) ont été déterminés durant les périodes, il a été signalé que ces souches ne présentaient pas les symptômes de l'eutypiose chaque année [17].

Il a été noté que les premiers symptômes perceptibles s'observent au printemps sur les jeunes rameaux herbacés, tels que des entrenœuds courts et réguliers, des feuilles crispées ou frisottées parfois, déchiquetées avec des nécroses marginales qui peuvent se généraliser à l'ensemble du limbe à un stade plus avancé de la maladie; les rameaux portent en général des ébauches foliaires [32, 37,44].

L'expression des symptômes sur les végétations herbacées peut être liée à la production d'eutypine qui réagit à distance dans la plante loin des sites primaires de l'infection [16,21].

En ce qui concerne les symptômes du court noué, notés surtout dans la région de Médéa, ils sont identiques à ceux décrits par de nombreux auteurs [64, 70,72] . Il est à noter que le virus (GFLV) agent du court noué qui se transmet par

l'intermédiaire de deux nématodes, *Xiphinema index* espèce très rependue en France, en Suisse, en Allemagne, en Hongrie, en Italie, en Iran, en Tunisie et en Algérie [55]; cette diffusion presque mondiale de ce nématode est liée probablement aux échanges commerciaux de portes-gerffes de vigne.

Dans la totalité des vignobles prospectés, il a été noté la présence de symptômes du court noué avec des taux variables; les plus élevés ont été notés dans la localité de Benchicao (Médéa) sur Dattier de Beyrouth et au niveau de la parcelle de Chebli (Blida). Ce constat laisse suggérer que le court noué pourrait être la cause des mortalités enregistrées au niveau de ces vignobles, vu l'ampleur des dépérissements notés sur les ceps.

Dans le cas des dépérissements où il nous a été difficile d'observer les symptômes typiques de l'eutypiose et où du court noué un autre type de symptômes a été noté rappelant les symptômes de l'esca. Ce type de symptômes pourrait être attribué à l'agent causal de l'eutypiose *Eutypa lata* qui se développe dans le bois en position sectorielle en association avec d'autres champignons pionniers qui sévissent dans la nécrose brune en position centrale [85].

Les observations de [91,92], ont soulevé que cette symptomatologie directe ou visuelle ne peut pas permettre de se prononcer de façon certaine sur la présence des agents pathogènes de l'eutypiose ou de court noué, en raison de l'existence de confusions possibles avec d'autres maladies d'origine diverse (biotiques ou abiotiques).

Le diagnostic au laboratoire permettra de confirmer l'existence ou l'absence des agents responsables de ces deux maladies.

En analysant le développement des différentes catégories symptomatologiques sur les quatre cépages étudiés, il apparaît que leur répartition reste aléatoire et non spécifique au génotype végétal. Cabernet sauvignon et sultanine sont les cépages qui ont montré plus de contamination par les symptômes de l'eutypiose, de bras mort et de mortalité et une moindre contamination de ceps par le court noué. Dans ce cas de figure, l'eutypiose semble être une des causes importantes de la mortalité, ainsi que la présence de bras morts, bien que cabernet sauvignon est classé comme étant très tolérant à l'eutypiose par [25].

Dattier de Beyrouth est moyennement touché par le dépérissement; les taux de l'eutypiose, bras morts et de court noué se rapprochent sensiblement, mais il est affecté par une mortalité qui pourrait être le résultat de l'existence des deux maladies (eutypiose et court noué) qui étaient relativement assez élevées avec des taux respectivement (19,13 % et 20,33 %).

Pour le cépage Carignan, les symptômes de l'eutypiose, bras morts et de court noué varient de 17,2 %, 2,08 % et 31%, néanmoins les résultats montrent que l'expression la plus marquée des symptômes du court noué se trouve chez cette variété.

Un cépage tolérant est un cépage qui exprime une tolérance dans certaines conditions, mais il peut montrer un niveau très élevé de maladie à la suite de stress répétés ou des conditions particulières. La différence de sensibilité suggère l'existence d'interactions complexes entre le cépage, la localité, les conditions de culture et la pression qualitative et quantitative de l'inoculum [44]

Il est à signaler que la réponse d'un cépage peut dépendre d'un grand nombre de facteurs : présence et origine des blessures et durée de leur réceptivité, texture du bois agressivité des souches de *Eutypa lata* présentes, résistance de la plante à la colonisation (réaction de défense), la tolérances de la plante aux toxines, et sa capacité de défense aux stress et son aptitude de compenser le dépérissement partiel. Il n'existe pas des cépages résistants à l'eutypiose par contre, il existe des cépages de sensibilité variable, peu sensibles ou tolérants à l'eutypiose. Des travaux de classement des principaux cépages européens selon leur degré de sensibilité, selon l'expression relative des symptômes sur la végétation herbacée ont montré que certains cépages, tout en hébergeant le champignon, peuvent exprimer une tolérance dans certaines conditions particulières (5) .

Plusieurs hypothèses explicatives ont été formulées, telle que l'effet de la vigueur du cépage, car des mesures agronomiques effectuées dans des essais expérimentaux indiquent, en effet que le cépage le plus vigoureux et plus productif que d'autre cépage et le plus atteint par l'eutypiose que le cépage le moins vigoureux [93]

De même dans une unité expérimentale de Cazes (Aude – France) un groupe de neufs (9) cépages a montré un taux élevé de la maladie dans les conditions de culture favorisant la vigueur [50]

L'effet de la vigueur pourrait s'expliquer par l'augmentation, de la probabilité de l'infection du fait d'une plus grande surface de plaies de taille ou par l'expression de symptômes sur les rameaux qui ne se développeraient pas sur les souches peu vigoureuses.

Dans un autre travail, il a été soulevé une autre hypothèse contradictoire à la première qui concerne la vigueur, pour corriger une idée fautive qui s'est perpétuée dans la bibliographie.

Dans les années 1980, où début de manifestation de la maladie, les enquêtes réalisées montraient qu'il y'avait beaucoup plus de symptômes dans les parcelles vigoureuses (quelle que soit l'origine de la vigueur) que dans les parcelles normales ou plus faibles. La déduction qui en suivit fut que la vigueur favorisait la maladie. Or depuis, des résultats des enquêtes dans le vignoble charentais –France - ont montré que les plantes vigoureuses sont en fait plus résistantes, bien que elles expriment les symptômes plus longtemps, elles ne meurent pas rapidement comme c'est le cas des plantes à vigueur normale et surtout faible [94]

En ce qui concerne les facteurs explicatifs de l'expression des différents symptômes dans les trois régions étudiées, située dans des aires géographiques différentes, il ressort que :

- Il a été constaté des contaminations appréciables dans les vignobles âgés ou jeunes sans distinction (Tableau 3.1). Beaucoup de pathologistes [25, 85,95 et 91] présentent l'eutypiose comme étant une maladie des jeunes vignes.
- Les conditions climatiques des différentes régions étudiées peuvent influencer d'avantage, l'expression des symptômes de l'eutypiose, car leur présence dans les régions de Mascara et Médéa, situées approximativement à 1200 m d'altitude caractérisée par la chute de neige accentuer l'évolution de l'eutypiose. Dans ces régions viticoles européennes ; il a été mentionné que la

neige crée des conditions d'humectation des bois porteurs de périthèces susceptibles de libérer des ascospores. Cette émission est particulièrement importante en intensité (4 à 10 fois plus supérieur à une émission normale) et en durée (1 à 3 jours de plus) [31]

Les gelées hivernales et la neige provoquent l'éclatement des ceps, favorisant ainsi l'installation de *Eutypa lata* [4,10]. La confusion des symptômes du court noué surtout sur les ceps âgés où il est très difficile de réaliser un diagnostic symptomatologique final de la présence du GFLV cela nécessite obligatoirement la réalisation des tests sérologiques, où il est aussi fortement recommandé le choix d'un même végétal frais pour réussir les opérations de dépistage sérologique. Il est à noter que même avec les tests sérologiques, le diagnostic peut ne pas être efficace

4.3.2 Incidence des symptômes

L'incidence de l'eutypiose dépend en grande partie du climat local car les périthèces ne se forment que dans les régions où la pluviométrie annuelle excède 300 mm; de plus, la pluie et le vent jouent un rôle primordial dans la dissémination des ascospores [10]

Dans les enquêtes réalisées en France et dans d'autres pays européens, il a été rapporté que l'incidence de l'eutypiose varie beaucoup d'un vignoble à un autre à l'intérieur d'une même zone agro climatique [17].

Parmi d'autre facteurs qui peuvent intervenir, le cépage [25,44], le mode de conduite [96], le porte greffe [46,97], le nombre et l'époque de taille ainsi que la dimension des plaies de taille. D'une façon générale, les vignes en gobelets ou en cordons de Royat sont moins atteintes que les vignes conduites en taille guyot, où la suppression annuelle du bras provoque d'importantes plaies de taille [10,98].

D'autres études ont mis en évidence l'implication des traitements phytosanitaires sur la microflore saprophyte des organes aériens de la vigne, car la réceptivité des plaies de taille est moins importante si la microflore saprophyte est abondante empêche l'installation du parasite sur la plaie de taille [38]. Les

différents types de stress subis par les ceps peuvent influencer l'évolution et la gravité des maladies [44].

Du fait des différences très importantes d'agressivité entre les individus d'*Eutypa lata* l'agent causal peut également être tenu pour responsable d'une partie de la variabilité des incidences sur les cépages [32,99]

La variabilité de l'incidence de l'eutypiose n'est pas une fatalité, en raison des pratiques culturales, il serait possible de limiter ces effets car l'analyse plus précise de chacun des facteurs susceptibles d'influencer la maladie pourrait apporter d'autres solutions.

Néanmoins, ces résultats ne nous permettent pas de faire une idée précise sur l'ampleur de cette maladie, le fait de ne pouvoir mesurer l'incidence qu'à partir de la présence des symptômes des organes herbacés, induit une sous estimation de l'incidence réelle de chaque maladie[44].

Aussi dans une même parcelle, l'incidence annuelle est toujours inférieure à l'incidence cumulée sur plusieurs années d'observations, donc il faut suivre sur une plus longue période le devenir des ceps ayant présentés les symptômes.

Pour évaluer l'incidence réelle du dépérissement, il semble nécessaire de reconsidérer le méthode généralement retenue, en effet, les ceps infectés par *E lata* ne montrent pas chaque année les symptômes typiques de l'eutypiose tel que le rabougrissement et il semble même que ces symptômes ne puissent jamais apparaître malgré la présence du champignon dans une partie du cep. Parfois les symptômes apparaissent et disparaissent la même année et le végétal continue de croître normalement ce qui rend la maladie difficile a détecté [100]. Plusieurs facteurs tels que le niveau d'inoculum, le climat, âge et la vigueur des ceps, la stratégie de taille et les cultivars explique la variation de l'incidence de l'eutypiose [32]

Afin de limiter la sous –estimation de l'incidence réelle de l'eutypiose, il est donc nécessaire d'effectuer un suivi cep par cep permettant d'obtenir un pourcentage cumulé par plusieurs années, par ailleurs, l'effet principal du champignon étant la mort des coursons [86], il semble plus judicieux de suivre cette mortalité afin d'avoir une vision plus juste sur l'incidence réelle de l'eutypiose.

L'incidence du court noué dépend en grande partie de l'existence des vecteurs de transmission dans le sol des régions étudiées, ainsi l'origine et de l'état sanitaire des greffons, car ces deux facteurs assurent la déssimination du virus (GFLV) agent causal du court noué.

4.4. Caractérisation et identification de l'agent fongique

4.4.1. Les symptômes de dépérissement sur la partie herbacée

Les prélèvements d'échantillons, en vue de la recherche des agents pathogènes ont été effectués sur 60 ceps issus de l'ensemble des ceps présentant un ou plusieurs catégories de symptômes, ces échantillons ont été récoltés d'une manière aléatoire à raison de 10 ceps par vignoble.

Tableau 4.5: Nombre de ceps, présentant des symptômes de dépérissement sur la partie herbacée

vignobles	eutypiose	court noué	bras mort	Sans symptômes	total
MBC : Médéa, Benchicao, Carignan	02	04	03	1	10
MBD: Médéa, Benchicao, Dattier de Beyrouth	01	06	01	02	10
MMC: Mascara, Maoussa, Cabernet Sauvignon	05	0	04	1	10
MMS ; Mascara, Maoussa, Sultanine	06	0	04	00	10
MOD: Mascara,Ouled Elkhamessa,Dattier de Beyrouth	04	02	03	1	10
BCD: Blida, Chebli, Dattier de Beyrouth	04	03	03	00	10
Total	22	15	18	05	60

Chez les ceps qui présentent des symptômes de l'eutypiose au niveau des parties herbacées, nous avons noté deux types de nécroses; une de couleur brune en position sectorielle et de consistance dure; l'autre sous forme

d'association de nécroses, brunâtre et dure en position sectorielle et position centrale (Figures 4.10 et 4.11).

Nous constatons que les deux types de nécroses sont présents sur les ceps qui montrent les symptômes de l'eutypiose et les bras morts. Dans le cas des symptômes de bras morts c'est plutôt la nécrose dure d'une position sectorielle qui est la plus fréquente.



Figure 4.10: Coupe transversale d'une nécrose brune et de position centrale

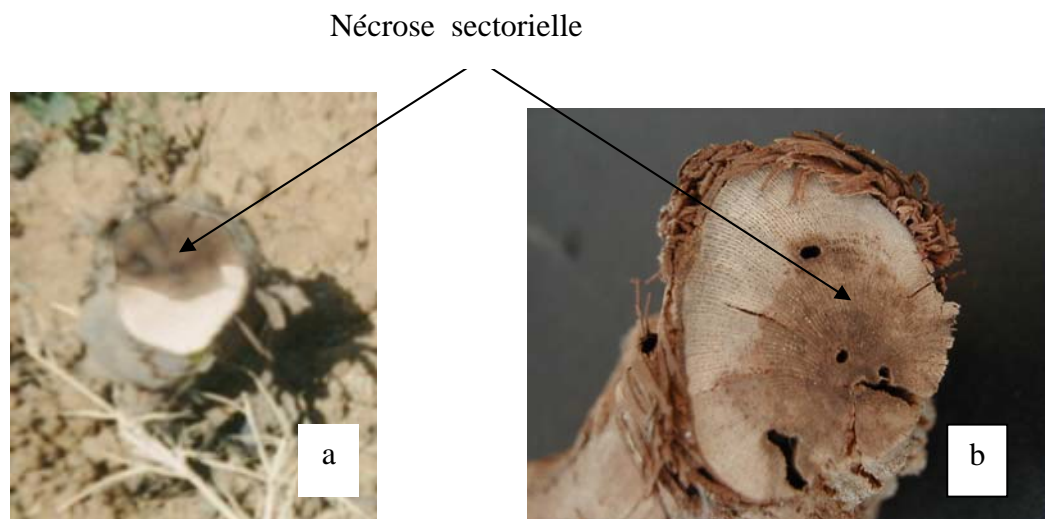


Figure 4.11 : Coupe transversale d'une nécrose brune et de position sectorielle
(a) Mascara et (b) Médéa

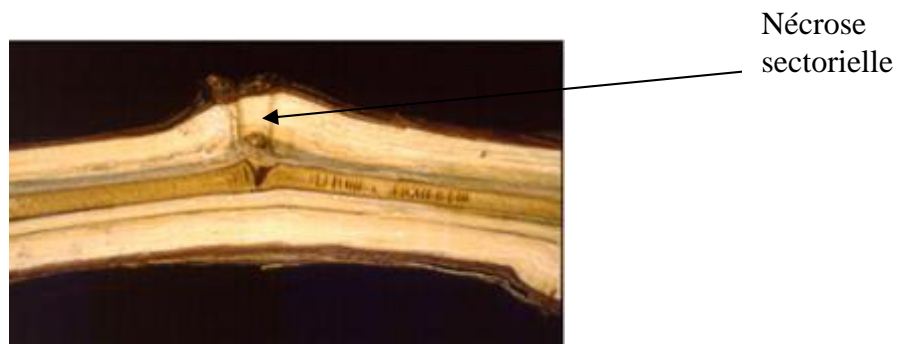


Figure 4.12: Coupe longitudinale d'une nécrose brune

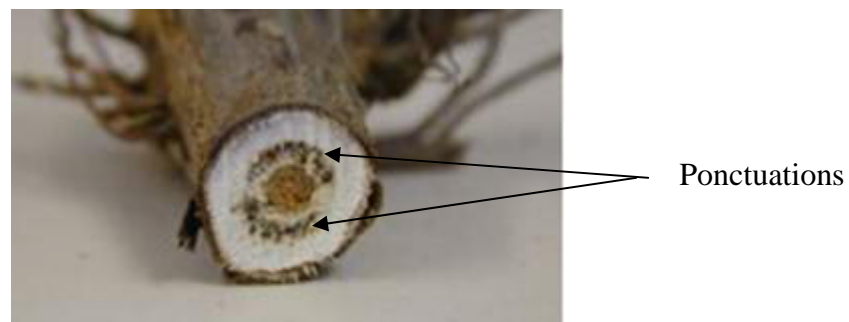


Figure 4.13: Formation des ponctuations noires sur un fragment de bois sain

Un autre type de symptômes de dépérissement a été noté, tels que la déformation des feuilles et leur décoloration (jaunissement), la réduction de la surface foliaire, le raccourcissement des entrenœuds donnant un aspect buissonneux.

L'ensemble de ces symptômes précités a été noté sur les ceps prélevés de la région de Médéa, rappelant les symptômes provoqués par le court noué qui sont identiques à ceux décrits par [73,101 et 102].

4. 4.2. Recherche de l'agent causal de l'eutypiose

Les isollements ont été réalisés avec 1590 bûchettes de bois à partir de 60 ceps présentant les nécroses caractéristiques de l'eutypiose. En plus de l'agent fongique recherché, nous avons relevé un développement d'une flore fongique accompagnée d'une flore bactérienne. Parmi les genres fongiques les plus rencontrés nous citons ; *Alternaria*, *Fusarium*, *Pestolozzia*, *Botrytis*, *Rhizopus* et *Penicillium*. Cette microflore est considérée comme une flore d'accompagnement associée aux isollements réalisés sur les ceps de vigne. Cette flore fongique a été

souvent citée comme inhibitrice de croissance du pathogène en question, *Eutypa lata* spp dans la plupart des milieux de culture [91,103]. Les différents isolements réalisés ont permis de purifier six isolats présentant des caractères cultureux ressemblant à ceux spécifiques à *Eutypa lata*

4. 4.2.1. Caractères morphologiques du champignon *Eutypa lata*

4. 4.2.1.1. Caractères cultureux

Sur le milieu PDA les six isolats étudiés ont montré, une croissance régulière par rapport à celle observée sur le milieu Malt. Les colonies de couleur blanche avec un aspect cotonneux, le mycélium intense aérien développe des hyphes en forme de cordons. Après trois à quatre semaines de culture, la densité mycélienne atteint son maximum et devient très dense (Figure 4.14 et 4.15).

Après deux semaines de développement sur le milieu PDA, le mycélium change de couleur et vire du blanc au jaune avec l'accumulation d'une coloration marron foncé au fond de la boîte qui devient de plus en plus sombre noirâtre, déterminant la mélanisation. Après un mois de culture et dans certaines conditions il y'aura formation de pycnides (fructification asexuées: *Libertella belpharis*) de couleur noirâtre et globuleuses à la surface de la boîte, dans notre cas ces fructifications ne sont pas développées pas même après le début de la sénescence des colonies



Figure 4.14: Développement de plusieurs souches fongiques

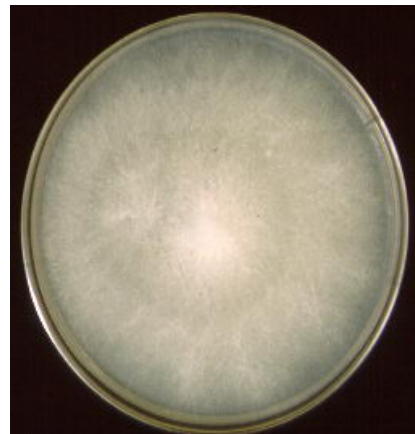


Figure 4.15 : Colonie de *Eutypa lata* spp

4. 4.2.2. Caractères Micro morphologiques

Entre lame et lamelle, et sans utilisation de colorant l'observation microscopique montre que le mycélium jeune est hyalin, cloisonné et ramifié, porte des bourgeons qui se développent rapidement pour donner un nouveau mycélium (Figure 4.16).

La caractérisation micro morphologique reste un élément incomplet pour établir une description à des fins d'identification et de classification. Même la bibliographie n'apporte pas des éléments consistants, quant à la caractérisation de ce champignon; d'où la difficulté d'apporter des indications sur la présence réelle de ce pathogène dans le même végétal dépéri.



Figure 4.16: Observation microscopique d'un mycélium de *Eutypa lata* spp

(G:40x10)

4.4.2.3. Tests de pathogénicité

Les tests de pathogénicité ont été réalisés sur des boutures de vigne âgées de 12 mois, des variétés (Cardinal, Alphonse lavallé, Dattier de Beyrouth, Muscat et Gros noir) et sur deux portes greffes (41 B et SO4). Chaque isolat a été inoculé sur trois plants de chaque variété.

Sur les boutures de vigne et sur les portes greffes et après 18 mois, nous n'avons noté aucune manifestation des symptômes de dépérissement caractérisant l'eutypiose (Figures 4.17, 4.18, 4.19 et 4.20)



Figure 4.17: Plant de vigne "MUSCAT" après 18 mois d'inoculation



Figure 4.18: Plant de vigne "Cardinal" après 18 mois d'inoculation



Figure 4.19: plant de vigne "Alphonse lavallé" après 18 mois d'inoculation



Figure 4.20: plant de vigne "Gros noir" après 18 mois d'inoculation

Sur les vitroplants et sur les cals et au bout d'une semaine à 10 jours les filaments mycéliens de ce même champignon se développent sur les tissus de quelques vitro plants de vigne qui ne tardait pas à se nécroser (Figure 4.21, 4.22, 4.23), sur les cals de vigne des nécroses plus au moins important ont été noté sur le cépage cinsault, alors que sur Dattier de Beyrouth et Hamr bouamar une nécrose limitée juste au pourtour de l'emplacement d'inoculation a été relevée (Figure 4.24).



Figure 4.21: Vitro plant "Dattier de Beyrouth" après 10 jours d'inoculation



Figure 4.22: Filaments mycéliens sur vitro plant



Figure 4.23 : Filaments mycéliens sur vitro plant:

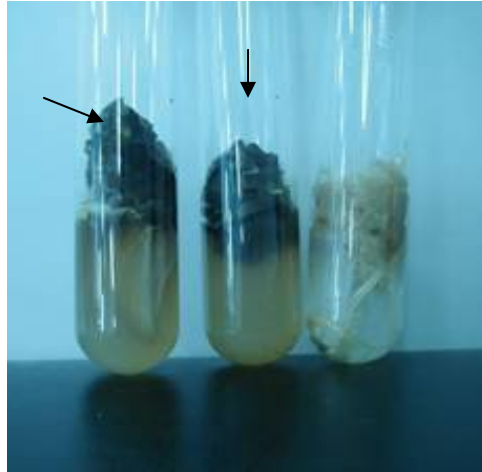


Figure 4.24: Cals "Cinsault" après 10 jours d'inoculation

4. 4.3. Fructification du champignon

Il est utile de rappeler que les fructifications n'ont pas été observées sur le milieu de culture (PDA) après un mois. Les fragments du bois nécrosé mis dans des conditions favorables à la fructification (l'obscurité) après trois mois, ont montré le développement e nombreuses ponctuations noirâtres, de forme globuleuse, dispersées sur une seule couche en dessous de l'écorce et parfois groupées (Figure 4.25 et 4.26).



Périthèces

Figure 4.25: Formation des périthèces à la surface du bois morts

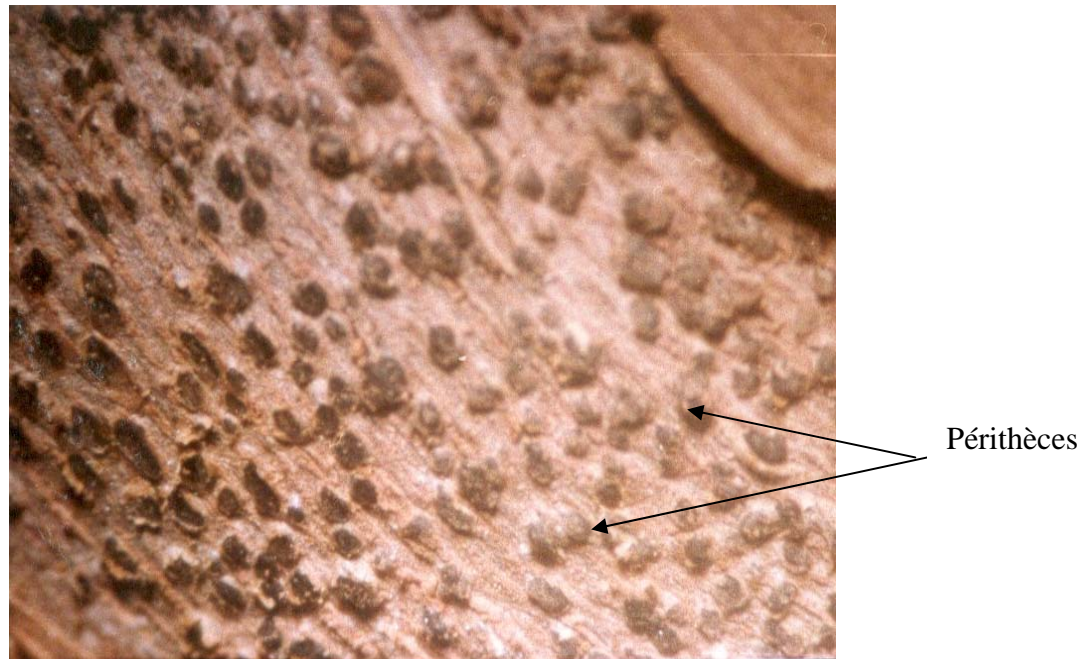


Figure 4.26: Formation des périthèces sur bois sous binoculaire

L'observation microscopique de ces fructifications nous a permis de distinguer de nombreux asques, arrondis au sommet, muni d'un pédicelle; chaque asque contient des ascospores arqués, libérés à partir d'un ostiole qui s'ouvre par un pore. Les périthèces représentent la forme infectieuse de l'agent fongique [104].

4.4.4. Distribution de l'agent fongique selon les cépages et les régions

Les résultats (tableau 4.6) montrent que le champignon *Eutypa lata* spp a été isolé à partir de trois cépages, particulièrement retrouvé sur Cabernet Sauvignon et beaucoup moins chez le Dattier de Beyrouth. Plus précisément cet agent a été isolé, des nécroses de consistance dure et en position sectorielle.

Tableau 4.6 : Fréquence d'isolement du champignon selon les cépages

Cépages	<i>Eutypa lata</i> spp	Fréquence d'isolement
Cabernet Sauvignon	3 ^a /10 _b	30%
Sultanine	1/10	10%
Carignan	0/10	0
Dattier de Beyrouth	2/30	20%
Total	6/60	10%

* Le rapport représente : (a) nombre de champignon isolés ; (b) nombre de ceps analysés

E. lata a été surtout retrouvé dans les échantillons provenant de la région de Mascara, en isolant 4 souches différentes à partir du bois provenant de 30 ceps, contrairement à la région de Blida et Médéa où il a été faiblement isolé à raison de deux champignons seulement sur la même quantité de matériel végétal (tableau 4.7).

Tableau 4.7 : Fréquence d'isolement du champignon en relation avec la localité et la région

Régions	Localité	<i>Eutypa lata</i>
Mascara	Maoussa	3 ^a /10 _b
Mascara	Ouled el khamessa	1/20
Médéa	Ben chicoa	1/20
Blida	Chebli	1/10
Total	4	6/60

* Le rapport représente : (a) nombre de champignon isolés ; (b) nombre de ceps analysés

4.5. Interprétation

La description des nécroses trouvées dans les troncs analysés est comparable à celle décrite dans les travaux de [5,32] qui ont montré que des coupes transversales réalisées sur le tronc où les bras des ceps malades ont présenté des nécroses sectorielles, bien délimitées constituées d'un bois de consistance dure; sans amadou comme le cas d'apoplexie, cassant très facilement, de couleur brun gris à brun violacé, selon les cépages. Cette cassure rappelle beaucoup celle d'une racine de carotte rompue à l'arrachage d'où la dénomination de "test carotte" indiquée par (péros,2000).

En analysant les résultats, nous constatons que les nécroses essentiellement retrouvées correspondent à celles décrites dans la littérature. Aussi, il existe une étroite relation entre le type de nécrose et les symptômes. Au niveau des parties herbacées, la nécrose sectorielle de consistance dure est caractéristique de l'eutypiose [20, 27 et 32] contrairement à la nécrose caractéristique de l'esca qui est une nécrose claire et tendre en position centrale [92, 103 et 104].

Quant à la comparaison des symptômes d'eutypiose et bras morts avec les nécroses du bois, nous constatons la présence de la nécrose brune sectorielle caractérisant l'eutypiose au niveau des ceps présentant un bras mort. Ce résultat pourrait bien confirmé l'implication de l'eutypiose dans la mortalité des bras des ceps morts [41].

Le mycélium du champignon *E lata* a été isolé à partir du bois de quelques souches de vigne montrant les symptômes de l'eutypiose et bras morts, la croissance mycélienne était rapide sur milieu PDA par rapport à celle issue sur milieu Malt. Cette observation était aussi notée dans les travaux de [28] qui a mentionné que la croissance du mycélium est très rapide sur ce milieu, aussi il a noté le développement de colonies vigoureuses, blanches à aspect cotonneux sur ce milieu de culture; ces caractéristiques sont déjà citées par [23,27] qui ont pu mettre en évidence le mycélium par l'incubation des rondelles de bois d'une souche atteinte.

Selon LECOMTE [34], l'aspect du mycélium est parfois variable selon les isolats où le milieu de culture peut être confondu avec d'autres champignons.

Pour l'identification avec certitude il convient d'attendre l'apparition des pycnides, malheureusement la formation des pycnides demande 3 à 8 semaines de délai et de conditions particulières d'incubation, ce qui suppose un suivi des colonies, long et fastidieux pour une identification précise. De plus, l'isolement d'*E lata*, en conditions naturelles de contamination où l'inoculation n'est pas toujours facile. En effet ce champignon à croissance plutôt lente est un mauvais compétiteur dans la présence est très facilement masqué par celle du champignon à croissance rapide ou par des bactéries et des levures [50].

L'analyse symptomatologique des parties herbacées suggère que la présence d'une relation étroite entre le cep et le champignon retrouve *E lata*. Car les cépages chez qui nous avons isolé le plus *Eutypa lata* sont les cépages qui ont montré le plus de symptômes sur parcelle. Selon DUBOS [20] les symptômes notés sur les organes herbacés laissent penser l'existence d'un complexe toxique responsable de l'action à distance, dit eutypine qui a été identifié dans les filtrats de culture mycélienne du parasite *E lata*, puis retrouvé dans des feuilles de vigne atteints.

DESWARTE [21] suggèrent que durant le développement des ceps de vigne atteints par l'eutypiose, le mycélium d' *E lata* synthétise une toxine (eutypine), (Fallot et al,1994) ont noté que la toxine est transportée du tronc vers les parties herbacées et induit plusieurs symptômes d'eutypiose telles que les nécroses marginales sur feuilles, des inflorescences chétives, jusqu'à la mort du bois, il a été noté aussi que *E lata* n'a jamais été isolé du système foliaire de la vigne [108].

En ce qui concerne le test de pathogénicité, il faudrait peut être laisser plus de temps pour la manifestation de symptômes, en effet l'inconvénient majeur de ce test de pathogène (*in situ*) reste la lenteur du développement de ce champignon lignivore dans les tissus des plants de vigne. Aussi une autre hypothèse peut être retenue, c'est la quantité réduite d'eutypine produite par ces isolats, car Tabbachi (2000) a cherché à mettre au point des méthodes rapides et valides permettant de tester l'effet du champignon *E lata* sur la vigne dans les essais effectués sur les boutures, il a noté après 5 semaines d'inoculation que quelques variétés tels que Cabernet sauvignon est très sensible, Merlot et Grenache sont nettement moins atteints; il a aussi noté que certains isolats de *E*

lata ne donnent pas de symptômes d'eutypiose sur bouture, et d'autre isolats donnent les symptômes parce qu'ils produisent une quantité suffisante d'eutypine tandis que l'autre isolats produisent peu d'eutypine.

Des études *in vitro* montrent que la toxine est rapidement prise par les cellules selon sa diffusion passive et son accumulation dans le cytoplasme selon le mécanisme ionique [106]. Le niveau de sensibilité de la vigne envers l'eutypiose dépend des génotypes de la plante hôte car la tolérance de quelques génotypes des ceps est en relation avec leur capacité de détoxifier l'eutypine en alcool "eutypinol"[19]. La capacité de détoxifier l'eutypine est déterminé par ERE, une enzyme réductase d'eutypine, non membranaires, qui réduit l'eutypine en eutypinol un composant non toxique vis – à – vis de la vigne, même à des concentrations élevées, de plus il ne possède pas d'activité protonophore [110].

Il était intéressant d'entreprendre les investigations histo-cytologiques au laboratoire sur les cals et sur les vitro plants montrant un développement de fin mycélium ainsi procédé en microscope optique ou électronique relèvent la nouvelle structure cellulaire [111].

Les tests de l'action de l'eutypine produit à partir d'*E lata* sur milieu liquide, d'où l'on tire des filtrats fractionnés et purifiés, sur feuille, sur vitro plants, sur protoplastes dans tous ces cas on observe l'apparition des nécroses, car l'eutypine provoque des altérations de l'ultrastructure des tissus de la souche. De toute façon, on constate que l'eutypine produit, *in vitro* cause des dommages cellulaires identiques à ceux subis par des plantes malades d'eutypa [112].

La constatation du bois mort a montré la présence de nombreuses fructifications globuleuses, noirâtres, disposées sur une seule couche, cette observation est comparable à celle décrite par Mur et al ., qui ont confirmé que ces fructification nommés périthèces ne se développent que sur le bras mort et peuvent rester en vie pendant 5 ans, contenant de nombreux asques. La dispersion des ascospores est assurée donc par les périthèces.

E lata est un champignon qui intervient dans les premières étapes de la colonisation du bois car il transforme le bois de couleur brune et de consistance dure, en bois clair et tendre d'où son rôle pionnier dans le syndrome de l'esca [113].

Il en ressort que *E lata* agent de l'eutypiose a été retrouvé beaucoup plus dans la région de Mascara où l'incidence de l'eutypiose est le plus élevé; le faible isolement de cet agent dans la région de Blida s'explique par le fait que les vignes ont été peut être surinfectées par d'autres agents pathogènes causant des autres types de dépérissement l'exemple de l'esca. Aussi dans la région de Médéa, *E lata spp* a été isolé pratiquement avec la même faible fréquence d'isolement que celle de Blida. En France l'eutypiose varie dans une large proportion dans la plupart des régions [25], plusieurs facteurs tels que le niveau d'inoculum, climat, âge, vigueur des ceps et stratégie de taille expliquent la variation de l'incidence de cette maladie d'une région à une autre [32].

Malgré la présence de nombreux foyers de dépérissement dans les localités viticoles étudiées, la fréquence d'isolement du pathogène *Eutypa lata* demeure très faible. Vu l'absence de fructifications dans le milieu de culture, ainsi que la difficulté de reproduire des symptômes typiques de l'eutypiose par le biais des tests de pathogénécité, il est important de recourir aux méthodes sérologiques et génotypiques pour une identification plus précise et plus rapide.

Pour cette raison une méthode d'identification permettant la détection spécifique et rapide, est plus nécessaire pour faciliter le diagnostic d' *E lata spp* La technique PCR (Polymérase Chain Réaction) évoque des perspectives de diagnostic afin d'élucider les paramètres épidémiologiques de ce pathogènes et améliorer les techniques de prévention et de lutte. La détection rapide du champignon dans les extraits végétaux, permettra aussi de mesurer plus précisément les taux de contamination lorsque ceux ci sont faibles ou lorsque la concurrence avec d'autre microorganisme est très forte [34].

Pour un diagnostic fiable et précoce, il est conseillé également d'utiliser des marqueurs biochimiques, notamment ceux relatifs à l'eutypine [114]. Egalement, les tests de pathogénécité peuvent être effectués sur des boutures de vigne en inoculant par des

extraits ou filtrats de culture du pathogène produits *in vitro* dans des milieux de cultures. Même si la causalité de l'eutypine sur le dépérissement n'est pas totalement tranchée, l'utilisation des techniques spectrophotométriques [42].

Plusieurs travaux ont tenté, avec des techniques biochimiques ou spectrophotométriques, de mettre en évidence l'effet principal ou partiel de l'eutypiose sur la phytotoxicité des parties foliaires des ceps de vigne et leur action sur le dépérissement [114]. Il en ressort qu'au plus de l'eutypine, il y a d'autres métabolites secondaires qui peuvent s'interférer avec les aspects de dépérissement [42]. D'autres études doivent s'orienter dans la détermination de chaque type de métabolite et son interférence avec le dépérissement de la vigne d'origine fongique.

Les travaux de recherche s'orientent particulièrement sur la compréhension des conditions, relatives à l'hôte et au pathogène, favorable si la synthèse de l'eutypine, sa circulation et sa transaction dans les tissus de la plante [114]. Certaines études ont suggéré la mise en œuvre de mécanisation favorisant la détoxification de l'eutypine dans les parties vertes de la plante [16]

Le recours aux techniques de biologie moléculaire peut apporter des informations précises sur la présence de l'agent pathogène et sa dispersion dans les différentes parties de la plante. Ces techniques permettent de mieux comprendre la variabilité génétique et ses éventuelles relations avec la pathogénicité et l'agressivité des isolats fongiques, permettant une meilleure maîtrise dans les techniques et les moyens de lutte.

4.6. Les tests sérologiques

A partir des différents ceps présentant les symptômes du court noué, des tests sérologiques ont été réalisés. Durant la période printanière, favorisant plus le développement foliaire, 112 échantillons provenant de 60 ceps présentant de symptômes de dépérissement ont été testés par la technique DAS-ELISA. Le taux moyen (Tableau 4.8) de détection du GFLV est de 12,5% tout cépage et région confondus. La majorité de ces infections ont été détectées dans la région de Médéa, (10), le reste des 4 échantillons positifs provenant de la région de Blida.

Sur les échantillons provenant des localités de Mascara, les tests étaient négatifs. (Annexe F)

Sur un total de 14 tests positifs, 12 tests ont été notés avec les échantillons provenant du cépage Dattier de Beyrouth et les deux restants sont ceux de cépage Carignan. Tableau 4.8 : Taux de détection du GFLV par le test ELISA

Régions	Cépages	Nombre d'échantillons testés	Nombre d'échantillons positifs*	Taux d'infection (%)
Médeá	Dattier de Beyrouth	16	08	50
	Carigan	08	2	25
Blida	Dattier de Beyrouth	16	4	25
Mascara	Cabernet sauvignon	32	0	0
	Sultanine	24	0	0
	Dattier de Beyrouth	16	0	0
Total		112	14	12,5%

* Détection positive par la technique DAS ELISA

4.7. Interprétation

La sévérité des symptômes visuels préalablement provoqués par GFLV était marquée surtout dans les deux régions Médéa et Blida, il s'agit des décolorations des feuilles (jaunissement et rougissement), des déformations des feuilles, un raccourcissement des entre-nœuds a été noté rappelant celles qui sont produites par le court noué et comparable a celles décrites [101]. Dans de telles conditions la confusion de l'origine du dépérissement entre GFLV et *Eutypa lata* spp devient très complexe et difficile, un suivi symptomatologique minutieux s'impose, puisque cause un dépérissement progressif des ceps, donnant des sarments rabougris très semblables à ceux infectés par une forme très virulente de court noué [54]. La détection sérologique du GFLV par DAS-ELISA à partir des feuilles des ceps dont le bois est infecté et analysés pour l'isolement de *Eutypa lata* spp , était très nécessaire pour confirmer l'origine de l'infection.

Ces tests ont révélé des réactions positives à partir des échantillons prélevés des vignobles des régions de Blida et Médéa. La DAS-ELISA, nous a permis de détecter les ceps de vigne atteints par le court noué. Ces résultats positifs nous confirment que le dépérissement des cépages au niveau des parcelles des localités de Blida et Médéa est causé aussi par le GFLV.

Le court noué est très répandu dans tous les vignobles Algériens, [61] a signalé des cas très graves du GFLV sur plusieurs variétés de vigne au centre du Mitidja, Tipaza et Médéa. [115,116] ont détecté dans la région de Ben chicao, la présence du GFLV avec des taux d'infection élevés.

L'absence du GFLV dans la station de Mascara nous permet de conclure que tous les ceps testés ne présentent pas le virus du court noué mais le dépérissement observé est causé par *Eutypa lata*.

Vu la faiblesse des taux de présence de GFLV, révélé par le test DAC ELISA, il devient difficile de relier la présence de cette virose aux nombreux cas de dépérissement observé dans notre enquête expérimentale.

Dans la région de Mascara, les taux de dépérissement sous forme de bras morts total ou partiel varient entre 11,4 % à 24,4 % (Tab 4.1) alors que les analyses sérologiques sont négatives.

Donc, la présence du GFLV à forte concentration, dans la région de Médéa par rapport aux autres régions, ne peut être corrélée à cette virose, La complexité de différence entre les différents agents biotique et abiotique des dépérissements de la vigne.

CONCLUSION

L'eutypiose et le court noué apparaissent comme deux maladies graves de dépérissement de la vigne car il n'existe pas de moyens de lutte efficaces permettant de contrôler ou de sauvegarder les ceps atteints, de plus les viticulteurs n'ont pas pris conscience de l'importance de la gravité de ces deux maladies qui semblent affecter le patrimoine viticole à des proportions importantes.

Notre travail a permis d'apporter une contribution partielle quant à l'origine biotique du dépérissement, et de soulever particulièrement, l'importance de l'eutypiose et le court noué dans les vignobles objets de notre étude.

Nos enquêtes épidémiologiques ont concerné trois régions : deux régions à vocation viticole depuis l'époque coloniale (Mascara et Médéa) et la région de Blida où cette filière commence à prendre de l'importance. Les taux de dépérissement constatés sont assez importants.

Les résultats des diagnostics symptomatologiques ont révélé la présence de diverses catégories de symptômes dans la quasi-totalité des vignobles prospectés; il s'agit principalement de:

- Dépérissement total avec des taux variant de 18 % à 24,4 % où le maximum a été noté dans la région de Mascara.
- Dépérissement partiel (un seul ou plusieurs bras morts) avec des taux de 2,8 % à 21 % toujours dans la région de Mascara.
- Symptômes typiques de court noué, avec des taux de 2,4 % à 31% où le maximum a été dans la région de Médéa.
- Symptômes typiques de l'eutypiose avec des taux de 14,2 % à 33,8 % notamment aussi dans la région de Mascara.

Nous notons une grande variabilité de l'expression des symptômes de dépérissement sur les quatre principaux cépages cultivés dans ces régions, qui semblent en totalité atteints par les différents aspects du dépérissement. Les taux d'infection, selon l'encépagement sont de : Cabernet sauvignon (2,4 % à 33,8%), Sultanine (4,6 % à 24,4 %), Dattier de Beyrouth (12,9 % à 22,7 %) et Carignan (17,2 % à 31 %). Il apparaît que Cabernet sauvignon et Sultanine sont les cépages les plus atteints par l'eutypiose.

Globalement pour les deux maladies ciblées par notre étude, leurs incidences varient de 26,10 % à 72,29 % pour l'eutypiose et de 3,16 % à 40,46 % pour le court noué. La manifestation des symptômes témoigne d'une assez forte présence de l'eutypiose et du court noué dans les différents vignobles prospectés. Il semble que le rôle de ces maladies et leur implication dans la mortalité des ceps n'est pas négligeable.

L'analyse des ceps présentant des symptômes de dépérissement a révélé l'existence de deux types de nécroses dans les tronc et les bras des ceps, qui diffèrent selon la forme, la couleur et la consistance.

Les analyses microbiologiques effectués sur des échantillons de bois de vigne, présentant des symptômes de dépérissement, ayant montré l'existence d'une nécrose de couleur brune, de consistance dure et de position sectorielle dans les troncs et les bras caractérisant l'eutypiose, ont permis, même si les procédures d'isolement de l'agent fongique sont difficiles, d'isoler six isolats différents de *Eutypa lata spp* . Sur les milieux de culture, malgré la variation des conditions d'incubation (Température, obscurité, humidité...) il n'a pas été possible d'observer des fructifications de ce champignon. L'observation des périthèces n'a été possible que sur des fragments de bois de vigne mis en incubation. La confirmation de l'identité de *Eutypa lata spp* , par voie du test de pathogénicité n'a été possible que sur les vitroplants et sur les cals. Il demeure difficile de se baser sur des tests d'identifications classique et de pathogénicité pour confirmer la causalité de cet agent fongique, malgré la présence de nombreux foyers de dépérissement dans les localités viticoles étudiées.

Concernant la détection du court noué, les analyses sérologiques par le test ELISA, ont révélé la présence de l'agent viral (GFLV) avec une fréquence de 12,5% dans les vignobles des régions de Médéa et de Blida.

L'enquête épidémiologique réalisée sur terrain; associée aux analyses effectuées au laboratoire indiquent que les dépérissements observés sont complexes et de diverses origines. Même s'il est certain que les deux maladies, objets de notre étude, et plus particulièrement l'eutypiose sont impliqués dans les dépérissements constatés, il est aussi claire que d'autres facteurs, notamment abiotiques ont un impact direct sur cette pathologie . Pour mieux élucider ce syndrome, il est nécessaire d'associer dans d'autres études épidémiologiques, l'ensemble facteurs susceptibles d'influencer directement ou indirectement ce

syndrome de dépérissement, tels que l'encépagement, porte-greffes, les modes de conduite, l'âge ainsi que les conditions climatiques.

Devant une telle situation, pour résoudre cette problématique et d'en tirer les conclusions concernant le rôle de *Eutypa lata* il est indispensable de recourir à d'autres méthodes de diagnostic complémentaire notamment le dosage biochimique de l'eutypine et éventuellement l'application des techniques moléculaires. La technique PCR (Polymérase Chain Réaction) évoque des perspectives de diagnostic afin d'élucider les paramètres épidémiologiques de ce pathogène. L'utilisation des marqueurs biochimiques ainsi que les techniques spectrophotométriques et tests sérologiques peuvent apporter des nouvelles perspectives pour un diagnostic plus rapide et plus fiable.

Pour ralentir la progression du dépérissement, dans l'immédiat un travail de vulgarisation et de communication ainsi que de sensibilisation auprès des viticulteurs doit être entamé; pour une éventuelle orientation de leur conduite culturale afin d'arrêter son extension brutal. Il serait judicieux de concevoir une enquête épidémiologique à grande échelle touchant les régions viticoles pour identifier les origines susceptibles de ce dépérissement. Un contrôle sanitaire sévère doit être appliqué, par les services concernés auprès des viticulteurs et surtout chez les multiplicateurs pour éviter au moins ou freiner son évolution qui constitue une réelle menace dans les vignobles algériens.

L'intérêt de la prophylaxie est clairement démontré, en l'absence de traitement contre ces deux maladies; il est donc indispensable de détruire les souches atteintes qui hébergent les sources de contamination.

REFERENCES

1. Anonyme, "Larousse agricole", Edition.Larousse, (1981),1184p.
2. Anonyme , " Statique agricole", ED. Ministère de l'Agriculture", (Mai 2005).
3. Reyner, A., "Manuel de viticulture", 6 éme édition .J.B. Baillière,(1991),414 p.
4. Dubos, B ., " Les maladies cryptogamiques de la vigne champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne", Edition Ferret (2 éme édition), (2002), 200 p.
5. Dubos, B., " Incidence économique de l'Eutypiose dans un vignoble de grand cru de Bordeaux", Phytoma, la défense des végétaux, N°467, (1994),pp 15-18 .
6. Chauvet, M., "Manuel de viticulture ",Ed .J.B. Baillière, (1979) ,319p.
7. FAO, " Database Results [on line].FAO STAT.<<http://apps1.fao.org/servlet/X te Servlet>>",[Lastdate of consultation: 1 MaiAI 2002]
8. Anonyme, " Statique agricole", ED. Ministère de l'Agriculture, (Décembre, 2004).
9. Reyner, A., "Manuel de viticulture",8 éme édition .J.B. Baillière, (2001) ,514p.
10. Galet, P., " Précis de pathologie viticole", 3 éme édition, (1999) ,pp81-86.
11. Galet, P., "Précis de pathologie viticole" , Imp .JF Impression, Montpellier, (1995), 246 P.

12. Rappaz, F., "Les espèces sanctionnés du genre *Eutypa* (Diatrypacea: Ascomycètes) étude taxonomique et nomenclature", *Mycotaxon*, 20, (1984), pp567-586.
13. Carter, v. , "The status of *Eutypa lata* as a pathogen", *International Mycological institutu,phytopathological paper N° 32* (1991).
14. Dubos, B ., " Les maladies cryptogamiques de la vigne champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne" . Edition Ferret , (1999), 175p.
15. Le Gall, D ., Le Gat , Y .," Evaluation de la nuisibilité de l'eutypiose au vignoble", *Ann .A.N.P.P. , 3*, (1994),pp1271-1285.
16. Fallot, J ., Deswartes , C., Dalmayrac , S ., Colrat,S., et Roustan , J.P., " L'eutypiose de la vigne : Isolement d'une molécule synthétisé par *Eutypa lata* et toxique pour la vigne",.c.r Acad.Sci.Paris, *Science de la vie , 320*, (1997),pp 149-158.
17. Mimiague, J. et Le Gall, D .," Bilan sur les enquêtes eutypiose dans le vignoble européen" , *Ann. A.N.P.P.*, 3 , (1994),1263-1270.
18. Long, P.G., Nicoll, C.L., Davis , L.Kand Bradshaw , R.E ., "Producing the sexual stage of *Eutypa lata* in vivo and characterizing parents and progeny", 3 rd International Workshop on Grapevine Trunk Disease (I CGTD), New Zealand, (2003).
19. Péros,J.P., and Berger.G., "A rapid method to assess the aggressivines of *Eutypa lata* isolates and the susceptibility of grapevine cultivars to Eutpa dieback", *Agronome*,14,(1994),515-523.
20. Dubos, B ., " L'eutypiose de la vigne . *Eutypa lata* (pers:Fr)Tul.",*C.R cad .Agric. France*, 82 (1), (1996) , pp21-30.
21. Deswarte,C.,Roustan,J.P., Canut.H., Eychenne.J., Fallot.J.P.,"Recherche du mode d'action de l'eutypine,toxine produite par *Eutypa lata* ",In : *Annales ANPP*, 3,(1994), pp1303-1310
22. Fallot ,J., Deswarte,C.,Rouquier ,P., Dargent,R.,Roustan,J.P .,"Altération structurale des cellules de feuilles de vigne provoquées in situ par l'eutypiose et in vitro par l'eutypine",In: *Annales ANPP*,3,(1994),pp1311-1318.
23. Mur, G. et Branas, J ., "Les maladies du vieux bois . Apoplexie et Eutypiose", *Progrès Agricole et Viticole*, N° 5, (1991) ,108-114.
24. Carter,M.V., "Eutypa Canker and Dieback of Apricots ",*EPPO Bull*,7(1),;(1975),85-94.

25. Dubos, B .," Mise au point sur les maladies de dépérissement dans le vignoble Français", Prog.Agric . Viti, 104,(1987), 135-140.
26. Bolay,A., and Carter.M.V., " Newly recorded hosts of *Eutypa lata* (*E.Armeniaca*) in Australia",Plant Protectiob Quarterly,1,(1985),7-13.
27. Bolay, A. et Moller, w.J .," *Eutypa armeniaca* Hansf et Carter ,agent d'un grave dépérissement de vignes en production", Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture 9, (1977),pp241-251.
28. Belarbi, B ., "Contribution à l'étude de la résistance des vitacées à l'eutypiose (*Eutypa armeniaca* Hansf et Carter) et à l'esca (*Sternum hirsutum* Wild Pirsoon)", Thèse, EC .Nat.Sup.Agron.Montpellier, (1983),68p.
29. Bolay.A., "Comment protéger la vigne et les arbres fruitiers des attaques d'eutypiose"Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture, Vol.18, (1986), pp7-13.
30. Ramos, D.E., Moller, W.J., English, H.," Production and dispersal of ascospores of *Eutypa arminaca* in California" Phytopathology, 65, (1975), pp1364-1370.
31. Paillassa, E ., Dubos , D ., Larignon, P et Chevrier , J.C .," L'inoculum infectieux d'*Eutypa lata* sa formation, son évolution et sa dispersion:les facteurs qui influencent", Pytoma. La défense des végétaux, 440 (1992),pp 184-196.
32. Péros, J.P ., "Influence du porte greffe et du cépage sur l'expression des symptômes d'Eutypiose",.Prog. Agric. Viti. , N° 116, (1999),pp 407-414.
33. Bonnet, A ., Marty, J.P et Mur, G.," l'eutypiose, maladie du tronc et des bras des souches de vigne", Progrès Agricole et Viticole N°12, (1980), pp 232-235 .
34. Lecomte ,P .; Péros ,J.P .; Blancard , D.; Bastien ,N .; and Dély ,CH.," PCR Assays That ; identify the Grapevine Dieback Fungus *Eutypa lata* ", Applied an Environmental Microbiology, Vol. 66, N° 10, (2000), pp4475-4480.
35. Carter, M.V., " *Eutypa armeniaca*. Hansf et Carter Sp An airborne vascular pathogen of *Prunus armeniaca* L. In Southern Australia ", Australian Journal of botany N° 5, (1957),pp 21-35.

36. Dubos, B., Bugaret, Y., Bullit, J et Roudet, J., " Vigne .Maladies du bois:symptômes et méthodes de lutte.", Phtoma-Défense des cultures, (1983), pp16-19.
37. Fallot, J., Roustan, J.P., Petitprez, M., et Tabacchi, R., " Découverte de l'eutypiose, phytotoxine synthésée par *Eutypa lata* agent de l' eutypiose de la vigne", Revue des œnologues, N° 62 (1991), 9p.
38. Chapuis, L., " L'Eutypiose de la vigne : Contribution à l'étude des relations hôte parasite", Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux II (France), (1995), 39p.
39. Dubos, B., Paillassa, E., "Dynamique de la sporée aérienne de *Eutypa lata* (Pers.:Fr) Tull agent pathogène de l'eutypiose de la vigne ", Revue des œnologues n° 62 ,(1992) pp8-9.
40. Colrat, S., Latché, A., Guis, M., Pech, J.C., Bouzayen, M., Fallot, J. and Roustan, J.P., "Purification and characterisic of a NADPH-Dependent Aldehyde Reductase from Mung Bean That Detoxifies Eutypine, a Toxin *Eutypa lata* ", Plant Physiol. 119, (1999), pp 621-626.
41. Moller, W.J. and Kasimatis, A.N., "Further evidence that *Eutypa armeniaca* not phomopsis viticola Incites dead arm symptoms on grappe", Plant Disease Vol.65 N°5, (1981), 429-431.
42. Lardener, R., Stummer, B., and Scott, E., "Molecular and biochemical characterization of *Eutypa lata* in Australia", 3rd International Workshop on Grapevine Trunk Diseases (ICGTD), New Zealand, (2003).
43. De Angelis, P., "Isolement et caractérisation de l'eutypine et d'autres métabolites secodaires d'*Eutypa lata* (Per:Fr) Tul parasite de la vigne ", Thèse université Neuchâtel, Suisse, (1990), 188p.
44. Tabbachi, R., Fkyerat, A., Poliart, C and Dubin, G.M., "Phytotoxine from fungi of Esca of grapine, Phytopathology", Médit. N° 39, (2000), pp159-161.
45. Bernard, A.C. et Mur, G., "les sites de présence de la souche du mycélium d'*Eutypa lata*, agent causal de l'eutypiose de la vigne", Le Progrès Agricole et Viticole 103, N° 11, (1986), pp288-289.
46. Péros, J.P., "Sensibilité des cépages à l'Eutypiose : Comportement de référence au vignoble", Prog. Agric. Viti., 112, (1995), 61-67.

47. Chapuis ,L., LeMenn ,R., Dubos, B., "L'eutypiose de la vigne étude de la dégradation du bois induite par *Eutypa lata* " , Annales ANPP, 3,(1994),1293-1302.
48. Désaché, F., Maserolles, G., Lurton, L., et Cantagrel, R.,"Connaissance de l'eutypiose et moyens de lutte:observation sur l'influence du porte-greffe et sur le recépage", Revue des œnologues, N° 68, (1992), p8.
49. Chapuis, L., Richard, B., and Dubos,B., "Variation in susceptibility of grapevine pruninig Wound to infection by *Eutypa lata* in South-Western France", Plant Pathology;N°47,(1998), pp463-472.
50. Pouget, R., "Le porte greffe: un facteur efficace pour maîtriser la vigueur et la qualité du vin " , Bull.OIV, 60,(1987),pp919-928.
51. Bovey, R.,"Les maladies virales de la vigne : Court –noué", Lausanne: ED. Payot, (1973), 120p.
52. Bovey,R., and Martelli, G.P., "Directory of major virus and likes diseases of grapvine.Description, Historicol" , Review and bibliography , Médit. Fr.Crop. Improvement council.ICVG, (1992), 111p.
- 53 Martelli, G.P.," Maladie à virus de la vigne", Département Patho. Végétal de l'université de Sassari. Ed. Centre International des hautes Etudes Agronomiques Méditerranéen,(1997), 39p.
54. Bovey, R;Gartel ,W., Hewitt ,W., Martelli ,G et Vuittenez, A.,"Maladies à virus et affections similaires de la vigne", Lausanne: ED. Payot, (1980), 181p.
55. Walter., " Sanitary sélection of the grapvine",Ed.INRA , France , (2000),225p.
- 56.Walter, B., " Effet des viroses sur la vigne et ses produits, l' enroulement et le complexe du bois strié" , Le progrès agricole et viticole ,114, (1997), 79p.
57. Quacquarelli, A., Gallitelli, D., Savino, v et Marteli, G.P.," Properties grapvine fanleaf virus",3.J.Gen .Virology, 32, (1976), pp 349-360.

58. Pinck , L ., Fuchs,M ., Pinck , M ., Ravelonandro ,M et Walter , B . , " Satellite RNA in grape fanleaf virus Strain",3 13 .J .Gen. Virology , 69,(1988),pp233-239.
59. Taylor, C.E et Brown, D.J.R., " Nématode Vectors of Plant Viruses", CAB, International, Wallingford, (1997), 286 p.
60. Viry,H., Serghini M.A., Hans,F.,Retzenthaler,C., Pink,M., et Pink , L ., " Biologically active transcripts from cloned cDNA of genomic grapevine fanleaf virus RNAs " , J, Gen.Virology,74, (1993), pp169-174.
61. Martelli, G.P., "Clostervirus et maladies de la vigne: Révision de la situation actuelle et possible lignes de recherche future",Ed. Centre international de hautes Etudes agronomiques méditerranéenne, (1994) , 24p
62. Walter, B., "Le court noué de la vigne Avantage de la détection par ELISA", 11,(1994),321-322.
63. Walter, B., Vuittenz, A., Kuszala, J., Stoky, G., Burckard, J., et VanRegenmortel, M.H.V., "Detection sérologique des virus du court noué de la vigne par le test ELISA", Agronomie, 4 ,(1994),527p.
64. Martelli, G.P.,"Classification and nomenclature of virus", Arch.Virol., 4, (2000), pp124-185.
66. Desvigne, J.C.,"Maladies à virus des arbres fruitieres(Maladies à virus, à Mycoplasmes et à Viroides)",(1991),126p.
67. Raski, D.G.," La protection phytosanitaire en viticulture " , Rev.Sui.Vit. Arbo.Hortic, 11,(2000),pp16-20.
68. Brandt, S., et Himmler,G ., 'Detection of grape fanleaf virus (GFLV) from woody material by using immunocapture polymérase chain reaction",Vitis 34,(1995),127p.
69. Long, J.,"Vignes et vignobles.Edition", Paris, Hachettes, (1979), 251p.
70. Vuittenez, A., et Kuszala, J., " Souche de virus à haut agressivité isolées des vignes atteints de dégénérescence infectieuse", Etud, Virolol.Appli.4, (1963), 133p.

71. Viala, P., "Recherche sur les maladies de la vigne", Ann.Epiphyt. N°12 (1929), 5-108.
72. Galet, P ., " Les maladies et les parasites de la vigne", Tome 1. Imp .Paysan du Midi, Montpellier, (1977), P 871.
73. Boublas, D., "Replantation des vignes et gestion du risque court noué. 1 ère partie. Présentation du court noué ", Le progrès Agricole et viticole, 18,(2001),333p.
74. Vuittenz, A ., " Méthodes de diagnostic des virus de la vigne",Bulletin.O.I.V,43, (1970), pp926-943.
75. Vuittenez, A., " Etat actuel des connaissances sur les maladies à virus de la vigne. Incidence sur la sélection et la multiplication", Ed .Bordeaux.(1982),pp23-25.
76. Valat ,C., Grenan,S., Aurgon, G.,et Bonnet,A.,"Guérison de quelques maladies à virus de la vigne par thermo-thérapie de plantule cultivées in vitro", I, vignes et vin) 2894 (1979),pp19-22.
77. Martelli, G.P.,"Graft transmissible diseases of grapevine.Handbook for detection and diagnosis", Ed F.A.O .Rome, (1993), 263p.
78. Morel, F., et Martin,C .,"Guerison de dahlias atteints d(une maladie à virus",C.R.Acad.Sci.235,(1952),pp1324-1325.
79. Scriban, R., "Biotechnologie", 5ème édition.Lavoisier (1999),514p.
80. Dore, R., "Cinquantenaire de la culture in vitro chez les végétaux",X°Colloque de la sélection française de l'international association for plant tissue culture. Versailles (France).(1989).
81. Anonyme. , " Statistique agricole", Direction des services agricole de Mascara, (2005).
82. Anonyme," Statistique agricole", Direction des services agricole de Médéa, (2005)

83. Anonyme, " Statistique agricole"Direction des services agricole de Blida, (2005)
84. Jonhston,A., and Booth,C., "plant pathologist pocket book",2nd Ed .Commwealth Mycological Institute,Kew,Surey,England,(1983), 439p.
85. Larignon, P., "Contribution à l'identification et au mode d'action des champignons associés au syndrome de l'esca de la vigne", Thèse de Doctorat; Université de Bordeaux II, France, (1991).134p
86. Munkvold, G.P., Duthie, P., et Marois,J.J., "Reduction in yield and vegetation growth of grapevine due to *Eutypa dieback* ",Phytopatho,84,(1994),pp 186-192.
87. Murashigue,T., and Skoog,GF.," revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures" ,Phsioloplant ,15 (1962) pp473-497.
88. Clarck, M.F., and Adams,A.N., "Characteristics of the microplates méthode of enzyme –linked immuno sorbent assay for the detection of plants viruses", J.Gen.Virol.34 (1977) ,pp475-483.
89. Armengol,J., Vicent,A., Torné,L., Figueres ,F.G and Jiménez,J.G.,"Fungi associated with esca and grapevine declines in Spain ",a three-year survey.Phytopatho.Médit.40,suppelement,(2001),pp325-329.
90. Munkvold,G.P.,and Marois;J.J., " Pertecia of *Eutypa lata* on sweet cherry in the central vally of California", Plant Dis.75,(1991),431p.
91. Mungai,L., Surico,G.,and Espositi,A., "Microflora associata al mal dell'esca della vite in Toscana", inform,Fitopatol ,N° 46,(1996) , 49-55.
92. Stamp, J., "The contribution of imperfections in nursery stock to the decline of young vines in California", Phytopath. Médit.40, Supplement, (2001), 369-375.
93. Desaché, F.,Courlit,Y., et Ménard ,E.,"Optimiser la lutte chimique contre l'esca", Pytoma .la défense des végétaux.(1995),N° 470.
94. Hight, A., Wicks, T., "The incidence of *Euypa lata* dieback in south Australian vineyards",The Australian Grapevine & Winemake.(1998); 135-136.
95. Arnaud, G., et Arnaud, D., "Traité de pathologie végétale", tome I, édition Lechevalier;(1931),pp 428-444.

96. Boublas, D., et Mur, G., "Influence du mode de taille de la vigne sur l'attaque du tronc des souches par le champignon *Eutypa lata* . Cas du Cabernet- Sauvignon", Prog.Agric.Vitic, 107, (1990), pp499-501.
97. Ferreira, J.H.S., "Effet of rootstock on the incidence of dying arm of chenin blanc vines", S. Afr.JEncol.Vitic., (1985), pp23-24.
98. Petzoldt, C.H.,Moller,W.J.,and Sall,M.A.,"*Eutypa* dieback of grapevine seasonal différences in infection and duration of susceptibility of pruning wounds",Phytopathology,N°71,(1981),pp540-453.
99. Péros,J.P., Berger,G., and Lahogue,F., "Variation in pathogenicity and genetic structure in the *Eutypa lata* population of a single vineyard", Phytopath,87 ,(1997), 799-806.
100. Ceraser,M. and Wicks,T.,"*Yearly variation in Eutypa dieback symptom's and the relationship to grapevine yield*", the Australian Grapegrower & Winemaker,450,(2001),50-52.
101. Martelli, G.P., Digiario,M.,"*Proceedings of the Mediterranean Network on Grapevine Closteroviruses 1992-1997.And the viruses like diseases of the Grapevine a bibliographic report.1985-1997*",Ed .CIHEAM, Bari, (1999), 47-57pp.
102. Martelli, G.P., "*Virus and virus like diseases of grapevine in Algéria* " ,Rapport to the government of Algéria ,F.A.O.,Rome, (1985);53p.
103. Mauro;M.C.,Vaillant,V.,Tey Rulh, P.,Mathieu,Y.,and Fallot,J., "*In vitro study of the relationship between Vitis vinifera and Eutypa lata (Pers.Fr.)Tul.I. Demonstration of toxic compounds secreted by the fungus*",.Am.J, Enol .Vitic.39,(1988),200-204.
104. Larigion, P., and Dubos,B ., "*Fungi associated with esca disease in grapivine*" , Europ.J.Plant Pathol.N° 103;(1997);147-157.
105. Péros , J.P., Jamaux-Despréaux , I., Berger, G ., "*Populqton genetic of fungi associated with esca disease in French vineyards*" ,Phytopathol. Mediterr N° 103,(2000),1385-1390.
- 106.Lardner,R., Mahoney,R., Molyneux ,R .,and Scott, E., "*Eutypa dieback: development of early diagnostic techniques*", Annual Technical Issue ,The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker,(2002),78-79.

107. Tey Rulh,P.,Philippe,I.,Renaud ,J.M.,Tsoupras,G., Angelis,P., Fallot,J., and Tabacchi,R., " Eutypine ,a phytotoxin produced by *Eutypa lata* the causal agent of dying-arm disease of grapevine ", Pytochemistry,30,(1991),471-473.
108. Deswarte,C., Canut,H., Klaebe ,A., Roustan,J.P., and Fallot,J., " Transport of eutypine into *Vitis vinifera* cells and its cytoplasmic accumulation are related ti the ionization stages of toxine",.J.Plant Physiol,149,(1996),336-342.
109. Phillipe, I., Fallot, J., Petitprez ,M., Dargent, R.,"Effet de l'eutypiose dur lkes feuillkes de *Vitis Vinifera* cv Cabernet Sauvignon ,Etude écologique",*Vitis*,31 ,(1993),45-53.
110. Guillen,P.,Guis , M., Martinez-Reina,G., Clorat,S., Dalmayrac,S.,Roustan, J.P.,Bouzayen,M., Fallot,J., Pech,J.C.,Latché,A., "Anovel gene conferring resistance to eutypine , a toxin from *Eutypa lata* , the causal agent of eutypa dieback of grapevine", *Plant Journal* 16 51998-m335-343.
- 111.Molyneux,R.J., Mahoney,N.,Bayman,P.,Wong,R.Y.,Meyer,K.and Irelan,N., "Differential production of acetylenic phenol metabolites by strains of *Eutypa lata* ",*Journal of Agricultural and Food Chemistry*,50, (2002),1393-1399.
112. Hadji, Z.," Identification biologique et sérologique du virus court noué de la vigne dans la région de Benchicao (Médéa)",*Mem .Ing.Agro Blida* (1991),28p.
113. Morseli, D.,"Evaluation sanitaire du vignoble et identification par voie biologique et sérologique d'un isolat du court noué à partir d'une variété autohtone",*Mem .Mag.INA.ElHarrach*, (1995),87p.

Annexe A
RESULTATS DE L'ETUDE EPIDIMIOLOGIQUE

Tableau : Nombre de ceps présentant les symptômes d'eutypiose, bras morts, court noué et la mortalité par région, localité, cépage, et unité parcellaire

Régions	Localités	cépage	Unité parcellaire	Sans symptômes	Eutypiose	Bras mort	Court noué	Mortalité
Mascara	Maoussa	Cabernet sauvignon	1	20	16	04	00	10
			2	08	17	10	00	15
			3	15	08	15	00	12
			4	08	18	12	04	08
			5	06	15	04	05	19
			6	12	10	12	02	15

			7	24	08	08	00	10
			8	08	12	15	01	14
			9	04	25	11	00	10
			10	02	26	14	00	08
			Total	107	155	105	12	121
	Maoussa	Sultanine	1	26	16	04	02	02
			2	13	12	10	00	15
			3	19	23	02	00	07
			4	07	18	10	00	15
			5	24	12	06	05	03
			6	10	09	20	02	09
			7	25	18	00	07	00
			8	16	09	02	03	20
			9	10	12	06	00	12
			10	19	10	10	04	07
			Total	169	122	70	23	90
	Ouledelkhamessa	Dattier de Beyrouth	1	16	13	07	02	12
			2	22	11	05	10	08
			3	13	17	03	02	15
			4	08	24	07	03	08
			5	22	02	01	04	21
			6	21	12	05	10	02
			7	09	20	12	00	09
			8	02	17	03	04	24
			9	17	07	06	06	04
			10	10	20	08	05	07
			Total	140	143	57	46	114
Médéa	Benchicao	Carigan	1	07	10	02	12	22
			2	02	09	02	16	19
			3	09	05	01	19	15
			4	12	07	03	25	14
			5	15	12	04	12	08
			6	03	08	06	13	12
			7	20	09	04	17	00
			8	07	12	10	09	17
			9	09	06	12	22	05
			10	14	08	00	24	12
			Total	64	73	53	135	105
	Benchicao	Dattier de	1	14	04	04	20	10

		Beyrout						
			2	05	05	03	15	15
			3	23	05	05	15	06
			4	06	12	10	09	08
			5	04	04	06	22	18
			6	10	06	04	16	07
			7	12	06	07	31	09
			8	09	03	04	12	07
			9	10	19	09	19	02
			10	08	07	10	25	00
			Total	98	86	14	169	103
Blida	Chebli	Dattier de Beyrouth	1	08	02	01	04	30
			2	07	06	04	05	00
			3	12	10	08	06	07
			4	05	07	03	05	15
			5	00	04	02	08	38
			6	06	03	06	00	11
			7	06	12	04	12	10
			8	12	09	08	09	08
			9	00	11	10	06	00
			10	08	09	07	10	15
			Total	101	71	53	184	91

Annexe B

MILIEU DE CULTURE

Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)

Annexe a : Pomme de terre	200 g
Glucose	20g
Agar (gélose)	20g
Eau distillée	1000 ml

Mode opératoire

Faire bouillir la pomme de terre

Filtrer et récupérer le jus

Mettre l'agar

Ajuster jusqu'à 1000 ml avec de l'eau distillée

Remuer jusqu'à dissolution totale

Stériliser 20 mn à 120°C

Annexe C MILIEU DE CULTURE

Milieu Malt

Annexe B : Malt	20 g
Agar (gélose)	20g
Eau distillée	1000 ml

Mode opératoire

Faire bouillir la pomme de terre

Filtrer et récupérer le jus

Mettre l'agar

Ajuster jusqu'à 1000 ml avec de l'eau distillée

Remuer jusqu'à dissolution totale

Stériliser 20 mn à 120°C

Annexe D MILIEU MURACHIGUE ET SKOOG

Composition de milieu de culture de base MURASHIGUE et SKOOG (1962) avec $\frac{1}{4}$ (NH₄ Ni₃) et sans (CaCl₂).

Macro éléments	(Mg/L)
NH ₄ NO ₃	412,5
KNO ₃	1900
MgSO ₄ , 7H ₂ O	370

CaCl ₂ , 2H ₂ O	-
KH ₂ PO ₄	170
Micro-éléments	(Mg/L)
H ₃ BO ₄	6,2
K I	0,83
MnSO 4, 4H ₂ O	22,30
Na ₂ MO ₄ , 2H ₂ O	8,60
ZnSO ₄ , 2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ , 5 H ₂ O	0,025
CoCL ₂ , 6 H ₂ O	0,02
FeSO ₄ , 7H ₂ O	2 7,85
Na ₂ EDTA	40,5
Vitamines	(Mg/L)
Thiamine HCL	0,1
Acide nicotinique	0,5
Pyridoxine HCL	0,5
Glycine	2
Myoinositol	100
Divers	(g/l)
Saccharose	30
Gélose	10

Annexe E

LES SOLUTIONS TAMPONS

Plusieurs solutions tampons ont été préparées pour pouvoir réaliser le test ELISA:

a- Solutions PBS (Phosphate Buffer Saline), pH = 7,4

C'est une solution de base qui permet la préparation d'autres solutions tampons: solution de lavage et de broyage, elle est composée de:

Nacl8g
KH₂PO₄.....0,2g
Na₂ HPO₄.....2,9g
Kcl.....0,2 g
NaN₃0,2 g
Eau distillée.....1000ml

b- Solution de lavage (Washing Buffer), pH=7,4

Les lavages des plaques à la fin de chaque étape du test ELISA se font par une solution contient un détergent, celle ci est composée de 1000ml de tampon de PBS additionnée de 0,5ml de TEWEEN 20.

c- Solution de broyage (Extraction Buffer), Ph=7,8

C'est une solution qui permet de stabiliser les virus lors de leurs extractions pour 1000 ml de P.B.S , nous ajoutons:

Polvinyl-Pyrolidone.....20g
HCL.....37,2g
NaN₃.....0,2g
TWEEN 20.....0,5g
Polyéthylène-Glycolidone.....10g

d- Solutions de substrat (Substrat Buffer)

Elle est utilisée pour dissoudre le réactif de l'enzyme qui est le PNPP elle contient:

Diethanolamine.....97ml
NaN₃.....0,20g
Eau distillée.....1000ml

e- Solutions du conjuguée (Conjugate Buffer), pH=9,6

Elle permet des sérums conjugués, elle est composée:

Polyvinyl-pyrrolidone.....20g

Ovalbumine.....2 g

TWENN20.....0,5 g

P.B.S.....1000ml

f- Solution de fixation (Coating Buffer), pH=9,7

C'est une solution de sensibilisation, elle est utilisée pour la dilution et la fixation des anticorps sur la plaque de microtitration ; sa composition est:

Na₂CO₃.....1,59g

NaHCO₃.....2,93g

NaN₃.....0,20g.

Eau distillée.....1000ml

Annexe A

RESULTATS DE L'ETUDE EPIDIMIOLOGIQUE

Tableau : Nombre de ceps présentant les symptômes d'eutypiose, bras morts, court noué et la mortalité par région, localité, cépage, et unité parcellaire

Régions	Localités	cépage	Unité parcellaire	Sans symptômes	Eutypiose	Bras mort	Court noué	Mortalité
Mascara	Maoussa	Cabernet sauvignon	1	20	16	04	00	10

			2	08	17	10	00	15
			3	15	08	15	00	12
			4	08	18	12	04	08
			5	06	15	04	05	19
			6	12	10	12	02	15
			7	24	08	08	00	10
			8	08	12	15	01	14
			9	04	25	11	00	10
			10	02	26	14	00	08
			Total	107	155	105	12	121
	Maoussa	Sultanine	1	26	16	04	02	02
			2	13	12	10	00	15
			3	19	23	02	00	07
			4	07	18	10	00	15
			5	24	12	06	05	03
			6	10	09	20	02	09
			7	25	18	00	07	00
			8	16	09	02	03	20
			9	10	12	06	00	12
			10	19	10	10	04	07
			Total	169	122	70	23	90
	Ouledelkhamessa	Dattier de Beyrouth	1	16	13	07	02	12
			2	22	11	05	10	08
			3	13	17	03	02	15
			4	08	24	07	03	08
			5	22	02	01	04	21
			6	21	12	05	10	02
			7	09	20	12	00	09
			8	02	17	03	04	24
			9	17	07	06	06	04
			10	10	20	08	05	07
			Total	140	143	57	46	114
Médéa	Benchicao	Carigan	1	07	10	02	12	22
			2	02	09	02	16	19
			3	09	05	01	19	15
			4	12	07	03	25	14
			5	15	12	04	12	08
			6	03	08	06	13	12
			7	20	09	04	17	00

			8	07	12	10	09	17
			9	09	06	12	22	05
			10	14	08	00	24	12
			Total	64	73	53	135	105
	Benchicao	Dattier de Beyrouth	1	14	04	04	20	10
			2	05	05	03	15	15
			3	23	05	05	15	06
			4	06	12	10	09	08
			5	04	04	06	22	18
			6	10	06	04	16	07
			7	12	06	07	31	09
			8	09	03	04	12	07
			9	10	19	09	19	02
			10	08	07	10	25	00
			Total	98	86	14	169	103
Blida	Chebli	Dattier de Beyrouth	1	08	02	01	04	30
			2	07	06	04	05	00
			3	12	10	08	06	07
			4	05	07	03	05	15
			5	00	04	02	08	38
			6	06	03	06	00	11
			7	06	12	04	12	10
			8	12	09	08	09	08
			9	00	11	10	06	00
			10	08	09	07	10	15
			Total	101	71	53	184	91

Annexe F

LA LECTURE DES DENSITES OPTIQUES DU TEST DAS ELISA

Une première lecture

1	2	2	4	5	6	7	
0,043	0,047	0,056	0,047	0,049	0,055	0,063	

0,052	0,212	0,582	0,620	0,480	0,427	0,047	
0,056	0,258	0,298	0,323	0,269	0,276	0,053	
0,040	0,251	2,554	0,403	0,283	0,653	0,065	
0,039	0,254	2,554	0,403	0,283	0,563	0,058	
0,047	0,263	0,264	0,270	0,282	0,651	0,064	
0,048	0,284	0,263	0,271	0,274	0,547	0,046	
0,047	0,042	0,049	0,043	0,066	0,061	0,048	
1	2	3	4	5	6	7	

Une deuxième lecture

1	2	3	4	5	6	7
0,053	0,050	0,046	0,048	0,052	0,052	0,045
0,047	0,302	0,365	0,165	0,203	0,339	0,043

0,047	1,216	0,598	0,448	0,0713	0,953	0,036
0,058	0,686	0,682	0,476	0,342	0,331	0,044
0,051	0,570	0,426	0,333	0,406	0,393	0,048
0,078	0,763	0,693	0,341	0,293	0,771	0,037
0,066	0,489	0,270	0,274	0,288	1,055	0,033
0,042	0,042	0,043	0,042	0,073	0,439	0,036
1	2	3	4	5	6	7

Une troisième lecture

1	2	3	4	5	6	7
0,044	0,048	0,051	0,050	0,050	0,043	0,056
0,071	0,244	0,267	0,253	0,251	0,258	0,078
0,063	0,334	0,303	0,274	0,266	0,271	0,072
0,056	0,263	0,263	0,255	0,261	0,279	0,078
0,057	0,549	0,438	0,349	0,310	0,287	0,002
0,068	0,284	0,275	0,256	0,266	0,412	0,084
0,060	0,256	0,264	0,272	0,271	0,492	0,076
0,060	0,053	0,068	0,046	0,044	0,354	0,050
1	2	3	4	5	6	7

Une quatrième lecture

1	2	3	4	5	6	7
0,079	0,069	0,072	0,165	0,066	0,061	0,062
0,058	0,267	0,308	0,293	0,277	0,304	0,040

0,056	0,252	0,263	0,323	0,281	0,272	0,042
0,051	0,250	0,259	0,262	0,290	0,277	0,051
0,054	0,247	0,282	0,278	0,291	0,295	0,044
0,054	0,267	0,261	0,272	0,265	0,566	0,042
0,062	0,270	0,306	0,269	0,201	0,469	0,043
0,053	0,058	0,048	0,059	0,053	0,050	0,049
1	2	3	4	5	6	7