

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA
FACULTE DES SCIENCES AGRONOMIQUES ET VETERINAIRES
DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MEMOIRE DE MAGISTER

SPECIALITE : AMELIORATION DES PRODUCTIONS VEGETALES

CONNAISSANCES SUR LES VIRUS DES CEREALES
IDENTIFICATION IMMUNO-ENZYMATIQUE TAS-ELISA
DU VIRUS DE LA MOSAIQUE STRIEE DE L'ORGE *BSMV*

PAR

Khaldia MEDJAHED

Devant le jury composé de :

M. BENMOUSSA	Maître de conférences, USD, Blida	Président
A. BENBELKACEM	Docteur d'Etat, Univ, Constantine	Examineur
Z. HADJI	Chargée de cours, USD, Blida	Examinatrice
H. BELKAHLA	Maître de conférences, USD, Blida	Promotrice

BLIDA le 19 septembre 2006

RESUME

Le virus de la mosaïque striée de l'orge (*BSMV*) est l'un des rares virus des céréales transmis par semence. le virus a été détecté pour la première fois en Amérique du Nord, puis il a été signalé dans plusieurs pays du monde. La détection du *BSMV* a fait l'objectif de notre travail qui a consisté d'identifier ce virus sur une gamme d'hôtes constituée de 37 variétés d'orge et 10 variétés de blé dur, et cela dans deux stations expérimentales de l'ITGC (Oued Smar et Beni Slimene). Le test sérologique DAS-ELISA a été utilisé durant cet essai. Par la suite l'étude épidémiologique effectuée à la station expérimentale de l'Institut d'Agronomie de Blida a permis le suivi de l'évolution de la mosaïque striée selon les stades phénologiques de la plante. Les résultats de la DAS-ELISA ont révélé la présence du *BSMV* sur 26 variétés d'orge et sur 7 variétés de blé dur. Les résultats ont montré aussi que l'analyse sérologique du test biologique (transmission par semence et inoculation mécanique) était positif ce qui confirme la transmission mécanique de ce virus et sa présence dans la semence.

Mots clés : Céréales, orge, *Hordeivirus*, *BSMV*, épidémiologie, semence, DAS-ELISA

ABSTRAT

Barley Stripe Mosaic Virus (*BSMV*) is one of the few seedborne viruses of grasses. Initially, the virus was reported to occur in North America, and then it was announced in several countries of the world. The main objective of our study was to detect and identify of *BSMV* in 37 varieties of barley and 10 varieties of durum wheat. The study was conducted in 2 different experimental stations of ITGC (Oeud Smar and Beni Slimene). The serological DAS- ELISA test was used in this study. In addition to that, epidemiological study was carried out at the Institute of Agronomy of Blida to follow-up the evolution of stripe mosaic virus according to the phonological stages of the plant. The results of DAS-ELISA revealed that *BSMV* was detected in 26 tested varieties of barley and 7 varieties of durum wheat. The results also showed that the serological analysis of the biological test (seed transmission & mechanical inoculation) was positive. What confirms the mechanical drive of the *virus* and its presence in the seed.

Key words: Cereals - barley - *Hordeiviruses* - *BSMV* - Epidemiology – seed – DAS-ELISA.

خلاصة

الهدف الرئيسي من دراستنا هذه هو كشف وتشخيص وجود فايروس فسيفساء الشعير المخطط في 37 صنفاً من الشعير و 10 اصناف من القمح الصلب. اجريت الدراسة في محطتين تجريبيتين للابحاث الزراعية هما محطة واد سمار ومحطة بني سليمان . وقد استخدمت طريقة اختبار " داس اليزا" في الكشف عن وجود الفايروس. اضافة الى ذلك فقد تم ايضاً دراسة وبائية المرض في محطة ابحاث المعهد الزراعي في مدينة البليدة وذلك لغرض متابعة تطور المرض وفقاً للاطوار المختلفة من عمر النبات. اظهرت نتائج الدراسة "داس اليزا" عن وجود فايروس فسيفساء الشعير المخطط في 26 صنفاً من اصناف الشعير المختبرة وفي 7 اصناف من القمح الصلب. كما اظهرت الدراسة بواسطة اجراء التحاليل البيولوجية امكانية انتقال الفايروس عن طريق البذور و العدوى الميكانيكية.

كلمات مفتاحية : الحبوب، الشعير, *VMSB*, وبائية المرض, البذرة , اختبار داس اليزا

REMERCIEMENTS

- ♣ - Je tiens à exprimer particulièrement mes profonds remerciements au Dr BELKAHLA. H, maître de conférences de l'université de Blida d'avoir accepté de m'encadrer.

- ♣ - Mes remerciements les plus chaleureux vont à Monsieur le Professeur BENMOUSSA.M, maître de conférences de l'université de Blida, qui a bien voulu de présider le jury.

- ♣ - A Monsieur BEN BELKACEM..A, maître de conférences de l'université de Constantine qui a bien voulu accepter d'être membre de jury et de juger ce travail.

- ♣ - Je tiens également à exprimer ma gratitude à Madame HADJI. Z, chargée de cours à l'université de Blida pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

- ♣ - Mes vifs remerciements et mon profond respect vont au Dr EMAD ABBES AL-TURAIHI, membre de la société arabe de protection des végétaux. Je le remercie infiniment pour son aide précieuse.

- ♣ - Je remercie profondément l'ensemble du personnel de l'ITGC de Oued Smar et de Beni Slimene pour leur accueil chaleureux.

- ♣ - Il m'est agréable de remercier chaleureusement tous les membres de ma famille en particulier mes parents pour leurs sacrifices, leur affection et leur compréhension.

- ♣ - Enfin, ma sympathie va vers mes amis et collègues en particulier ceux de la promotion DEUA (1996-1997).

MEDJAHED

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DE MATIERES	
LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
LISTE DES ABREVIATIONS	
INTRODUCTION	13
1. VIRUS A MOSAIQUES SUR ORGE ET BLE	
1.1. Virus de la mosaïque striée en fuseau du blé	16
1.2. Virus de la mosaïque striée du blé	17
2. ETUDE DU VIRUS DE LA MOSAIQUE STRIEE DE L'ORGE	
2.1. Répartition géographique	20
2.2. Composants du patho-système	20
2.3. Epidémie de la maladie	30
2.4. Méthodes de détection	31
2.5. Lutte et contrôle de la maladie	33
3. MATERIEL ET METHODES	
3.1. Prospections et échantillonnage	34
3.2. Etude épidémiologique	41
3.3. Séro détection du <i>BSMV</i>	43
4. RESULTATS ET DISCUSSIONS	
4.1. Essai orge de Oued Smar (campagne 2003/2004)	48
4.2. Essai National1 d'orge de Oued Smar (Campagne 2004/2005)	54
4.3. Essai National 2 d'orge de Oued Smar (campagne 2004/2005)	58
4.4. Essai orge National 2 de Beni Slimene (campagne 2004/2005)	62
4.5. Essai blé dur de Oued Smar (campagne 2004/2005)	66
4.6. Etude épidémiologique	70
4.7. Test de transmission biologique	72
CONCLUSION	75
ANNEXES	
REFERENCES	

LISTES DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1.1	Symptômes des rayures fusiformes dus au <i>BSMV</i>	17
Figure 1.2	Symptômes de striés vert clair et jaunes dus au <i>BSMV</i>	18
Figure 2.1	Symptômes de mosaïques en striés sur feuilles d'orge	21
Figure 2.2	Stérilité des épis d'un plant d'orge due au <i>BSMV</i>	21
Figure 2.3	Les particules filamenteuses du <i>BSMV</i>	23
Figure 2.4	Schéma des produits de la traduction des génomes des souches du <i>BSMV</i>	29
Figure 3.1	Principe du test ELISA	43
Figure 3.2	Plan d'une plaque ELISA	45
Figure 4.1	1. Témoin sain ; 2. Symptômes de stries marron observés sur feuilles d'orge	48
Figure 4.2	Taux d'infection calculés pour les variétés d'orge de l'essai de Oued Smar (campagne 2003/2004)	51
Figure 4.3	1. Témoin sain ; 2. Evolution de la maladie de la mosaïque striée sur orge de l'essai National 1 de Oued Smar	54
Figure 4.4	Taux d'infection calculés pour les variétés d'orge de l'essai National 1 de Oued Smar (campagne 2004/2005)	56
Figure 4.5	1. Témoin sain ; 2. Symptômes de mosaïques en stries observés sur les feuilles de la variété V11 de l'essai d'orge National 2	59
Figure 4.6	Taux d'infection calculés pour les variétés d'orge de l'essai National 2 de Oued Smar (campagne 2004/2005)	61
Figure 4.7	1. Témoin sain ; 2. Symptômes de stries marron sur les feuilles de la variété Rihane de l'essai d'orge National 2 de Beni Slimene	63
Figure 4.8	Taux d'infection calculés pour les variétés d'orge de l'essai National 2 de Beni Slimene (campagne 2004/2005)	65

Figure 4.9	Taux d'infection calculés pour les variétés de blé dur de l'essai de Oued Smar (campagne 2004/2005)	69
Figure 4.10	Incidence de la maladie de la mosaïque striée de l'orge	71
Tableau 2.1	Principales caractéristiques du <i>BSMV</i>	25
Tableau 2.2	Les souches du <i>BSMV</i>	26
Tableau 3.1	Origine des variétés prospectées	36
Tableau 3.2	Prélèvements effectués durant les campagnes (2003/2004), (2004/2005)	37
Tableau 3.3	Dispositif expérimental adopté pour l'évaluation des taux d'infection de la mosaïque striée	38
Tableau 3.4	Prélèvements effectués lors de l'étude épidémiologique	42
Tableau 4.1	Taux d'infection calculés pour les variétés de l'essai d'orge de Oued Smar (campagne 2003/2004)	49
Tableau 4.2	Résultats de l'analyse statistique relatifs aux taux d'infection calculés pour les variétés d'orge de l'essai de Oued Smar (campagne 2003/2004)	50
Tableau 4.3	Résultats de la DAS-ELISA obtenus pour les variétés de l'essai d'orge de Oued Smar (campagne 2003/2004)	52
Tableau 4.4	Taux d'infection calculés pour les variétés de l'essai d'orge National 1 de Oued Smar (campagne 2004/2005)	55
Tableau 4.5	Résultats de l'analyse statistique relatifs aux taux d'infection Enregistrés chez les variétés d'orge de l'essai National 1 de Oued Smar	56
Tableau 4.6	Résultats de la DAS-ELISA obtenus pour les variétés d'orge de l'essai National 1 de Oued Smar	57
Tableau 4.7	Taux d'infection calculés pour les variétés de l'essai d'orge National 2 de Oued Smar (campagne 2004/2005)	59
Tableau 4.8	Résultats de l'analyse statistique relatifs aux taux d'infection calculés pour les variétés d'orge de l'essai National 2 de Oued Smar	60
Tableau 4.9	Résultats de la DAS-ELISA obtenus pour les variétés d'orge de l'essai National 2 de Oued Smar	61

Tableau 4.10	Taux d'infection calculés pour les variétés de l'essai d'orge National 2 de Beni Slimene	63
Tableau 4.11	Résultats de l'analyse statistique relatifs aux taux d'infection calculés pour les variétés d'orge de l'essai National 2 de Beni Slimene	64
Tableau 4.12	Résultats de la DAS-ELISA obtenus pour les variétés d'orge de l'essai National 2 de Beni Slimene	65
Tableau 4.13	Taux d'infection calculés pour les variétés de l'essai de blé dur de Oued Smar	67
Tableau 4.14	Résultats de l'analyse statistique relatifs aux taux d'infection calculés pour les variétés de blé dur de l'essai de Oued Smar	68
Tableau 4.15	Résultats de la DAS-ELISA obtenus pour les variétés de blé dur de l'essai de Oued Smar	69
Tableau 4.16	Résultats de la DAS-ELISA obtenus après l'étude épidémiologique	71
Tableau 4.17	Résultats de la DAS-ELISA obtenus après le test de transmission par semence	72
Tableau 4.18	Résultats de la DAS-ELISA sur échantillons issus de l'inoculation Mécanique	74

LISTE DES ABREVIATIONS

- BMV* : *Brome Mosaic Virus*, virus de la mosaïque du brome
- BSMV* : Barley Stripe Mosaic Virus, *virus de la mosaïque striée de l'orge*
- BYDV* : Barley Yellow Dwarf Virus, virus de la jaunisse nanisante de l'orge
- LRSV* : *Lychnis Ring Spot Virus*, virus des taches annulaires de Lychnis
- PSLV* : Poa Semi Latent Virus, *virus semi latent de Poa*
- TMV* : Tobacco Mosaic Virus, virus de la mosaïque du tabac
- WSMV* : Wheat Streak Mosaic Virus, virus de la mosaïque striée du blé
- WSSMV* : Wheat Streak Mosaic Virus, virus de la mosaïque striée en fuseau du blé
- AM : Argentina Mild
- ARN : Acide Ribonucléique
- ARNss : Acide Ribonucléique simple brin
- B : Bloc
- BAC : Bloc Aléatoire Complet
- °C : Degrés celsius
- CP : Coat Protein
- CV : Coefficient de Variation
- Da : Dalton

DAS-ELISA: Double Antibody Sandwich ELISA

DO : Densité Optique

EILSA : Enzyme- Linked Immuno Sorbent Assay, test immuno-enzymatique

ET : Ecart Type

g : gramme

h : heure

I : Indice

IgG : Immunoglobuline G

IRPV : Institut Régional de Protection des Végétaux

ITGC : Institut Technique Des Grandes Cultures

L : litre

mg : milligramme

min : minute

ml : millilitre

n : nucléotide

Nbr : Nombre

ND : North Dakota

ng : nanogramme

nm : nanomètre

ORF : Open Reading Frame, cadre ouvert de la lecture

P : Polypeptide

PBS-T : Phosphate Buffered Saline

PCR : Polymerase Chain Reaction, réaction en chaine de polymérisation

pH : potentiel Hydrogène

:

pNPP	para- Nitro Phenyl Phosphate
PPDS	· Plus Petite Différence Significative
Prob	· Probabilité
PVP	· Polyvinylpyrrolidone
RT	· Reverse Transcriptase
S	· Stade de développement
SAB	· Serum Albumine Bovine
Se	· semaine
Sg	· subgénomique
T ⁺	· Témoin positif
T ⁻	· Témoin négatif
TP	· tampon
µl	· microlitre
V	· Variété
%	· pourcentage

INTRODUCTION

La domestication des espèces végétales et leurs cultures à échelle croissante ont permis à l'homme de s'affranchir de certaines contraintes et améliorer son alimentation, ce pendant les plantes qu'elles soient sauvages ou cultivées, sont sensibles à de nombreux agents pathogènes dont les virus [1].

Dans le règne végétal, les milieux écologiques non bouleversés représentent un système en équilibre où les souches virales agressives et/ou les espèces végétales sensibles sont éliminées naturellement [2]. Dans ces milieux, les plantes sont statiques et elles possèdent des barrières physiques qui les protègent contre les infections virales. En revanche, les virus ne peuvent ni se déplacer de façon autonome ni surmonter ces barrières, ces opérations sont confiées à des organismes vecteurs (arthropodes, nématodes et champignons) dont le rôle épidémiologique est toujours important si non fondamental [3].

Certains virus présentent des mécanismes de diffusion naturelle indépendants de la présence des vecteurs, se sont des mécanismes biologiquement simples mais assez efficaces : à travers les graines infectées ou la transmission par contact direct ou par le sol [4]. Ces moyens aboutissent à la production d'un nombre élevé de particules virales très stables dont chacune représente l'unité infectieuse parce que chacune contient le génome viral entier et garantissent la diffusion de ces virus sur les cultures et leur suivie entre un cycle cultural et l'autre [5].

Malgré les connaissances plus approfondies sur les virus et leur écologie, des programmes de lutte sont aujourd'hui encore difficiles à concevoir. Bien que des mesures diverses, telles que la lutte contre les vecteurs, le désherbage et l'interruption forcée de la culture puissent donner des résultats intéressants dans des conditions favorables. Tant qu'on ne dispose d'aucun moyen résolutif; les seules voies possibles sont : L'emploi de

variétés résistantes obtenues par moyens traditionnels ou bien biotechnologiques, la prémunition avec des souches atténuées de virus et/ou des ARN satellites [6] et la réduction de l'inoculum primaire. Ce dernier but peut être atteint à travers les rotations de cultures et est une autre possibilité consiste à employer des semences, de semis et en général du matériel de multiplication sain [7].

Comme toutes les autres cultures, les céréales dont le blé et l'orge sont sujettes à de nombreuses maladies virales [8] et en absence de moyens de lutte curative, l'impact de ces viroses sur le rendement est très important. Ces maladies sont de deux types : Les viroses à jaunisse représentées par la jaunisse nanisante de l'orge et dont l'agent causal est le *BYDV*. L'importance de cette maladie dépendra de la douceur du climat, la précocité de l'attaque et la durée de présence des pucerons [9]. Le deuxième type c'est les viroses à mosaïques dont les symptômes sont caractérisés par une alternance de zones de coloration vert- pâle, vert foncé et de zones chlorotiques ou jaunâtres. La transmission de ces dernières est assurée par divers agents biotiques : acarien, champignon et cicadelle et par la semence [4].

En Algérie, des études ont montré que la jaunisse nanisante de l'orge est la principale virose des céréales. D'autres travaux ont permis de mettre en évidence l'existence de plusieurs autres maladies, mais l'identification de ces dernières sous nos conditions n'a pas fait l'objet d'une étude approfondie [10]. Parmi ces viroses, la mosaïque striée de l'orge dont l'agent causal est le *BSMV* qui a été signalée par BOUBETRA et MOUHAMEDI en 1998 [11] et par BENMOKHTAR et KARI en 1999 [10]. La réduction du rendement des plantes infectées par le *BSMV* a sérieusement touché la production mondiale de l'orge, puisque dans un champ infecté naturellement, les pertes de rendement varient de 25 à 30% ce qui a poussé d'avantage les chercheurs à étudier ce virus [12].

Le but de notre étude était de confirmer la présence du *BSMV* en Algérie, par des contrôles DAS-ELISA. Pour cela les objectifs visés étaient :

- Identifier le virus sur une gamme de plantes hôtes constituée de 37 variétés d'orge et de 10 variétés de blé dur et cela dans deux stations expérimentales de l'ITGC (Oued Smar et Beni Slimene.
- Suivi de la maladie par une étude épidémiologique effectuée à la station expérimentale de l'Institut d'Agronomie de Blida.

- Enfin rechercher le *BSMV* dans la semence et confirmer sa transmission mécanique.

CHAPITRE 1

VIRUS A MOSAIQUES SUR ORGE ET BLE

Les virus qui provoquent des mosaïques sur l'orge et le blé sont des virus qui induisent des symptômes caractérisés par la formation de stries. Ces virus sont: le virus de la mosaïque striée en fuseau du blé (*WSSMV*), le virus de la mosaïque striée de blé (*WSMV*) et le virus de la mosaïque striée de l'orge (*BSMV*).

1.1. Virus de la mosaïque striée en fuseau du blé (WSSMV) :

La mosaïque striée en fuseau du blé est une maladie virale qui est répandue en Amérique du Nord où les pertes de rendement sont de l'ordre de 22% chez les variétés sensibles [13].

1.1.1. Gamme d'hôtes et symptomatologie :

Le virus de la mosaïque striée en fuseau infecte seulement le blé, mais en Allemagne il a été trouvé sur seigle et orge. Le virus attaque les 2 blés d'hiver et de printemps [14]. Les symptômes se présentent essentiellement sur feuilles sous forme de rayures fusiformes chlorotiques à nécrotiques (figure 1.1) avec un léger ralentissement de la croissance de la plante [15] [16]. C'est un virus à manifestation hivernale dont les symptômes sont produits seulement durant les périodes à température basse, comprise entre 8 et 22 C°, et dont le développement cesse avec l'augmentation de la température au dessus de 18C° [17]. Au niveau cellulaire, le *WSSMV* se trouve dans le cytoplasme au niveau des feuilles et des racines, où il induit la formation d'inclusions cytoplasmiques, particulièrement au niveau du mésophile et du parenchyme vasculaire [18].

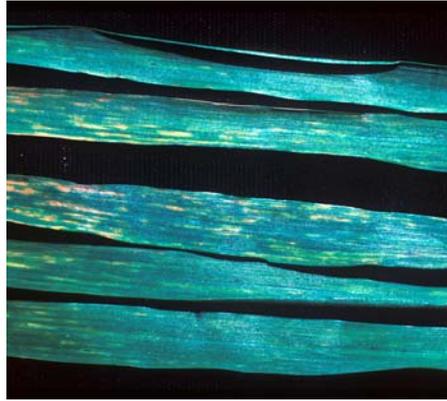


Figure 1.1 : Symptômes de rayures fusiformes dus au *WSSMV* [18]

1.1.2. Description du virus :

Le *WSSMV* est un virus à ARN simple brin, sens positif, bipartite. Il appartient à la famille des *Potyviridae*, genre *Bymovirus* [19]. Les particules virales se présentent sous forme de filaments flexueux de 200 à 300 nm de longueur et de 15 à 18 nm de diamètre [16].

1.1.3. Transmission :

Le *WSSMV* est transmis par un parasite obligatoire appartenant à l'ordre des *Plasmodiophorales* qui est le champignon : *Polymyxa graminis*. Le champignon peut survivre pendant des années dans le sol [16] [3], où la transmission la plus efficace est accomplie à des températures allant de 5 à 13 C° [20]. La transmission mécanique du *WSSMV* est difficile [21] Tandis qu'elle n'est possible ni par semence ou par pollen, ni par contact entre les plantes [18].

1.2. Virus de la mosaïque striée du blé (*WSMV*) :

La mosaïque striée du blé est une maladie dont l'effet est important sur blé. L'agent causal a été trouvé pour la première fois en 1937 par MC KINNEY aux Etats Unis [22], puis dans plusieurs pays européens et en Jordanie [23]. Aux Etats Unis, en 1976, le virus a causé une réduction moyenne de rendement sur blé estimée à 2,6% [24].

1.2.1. Gamme d'hôtes et symptomatologie :

La gamme d'hôtes du virus de la mosaïque striée de blé est limitée à des espèces de graminées [25]. Le virus infecte la plupart des variétés de blé, d'avoine, d'orge, de seigle et certaines variétés de maïs et de millet [26].

Les symptômes induits par la maladie varient selon les cultivars, les souches du virus, le temps d'infection et les conditions environnementales [14]. Ils apparaissent sur blé d'hiver généralement au printemps et deviennent plus sévères avec l'augmentation des températures [27]. Les symptômes sont sous forme de stries vert clair à jaune, parallèles et discontinues sur feuilles, suivies par un rabougrissement de plantes infectées (figure 1.2) [18] [28]. Le virus se trouve au niveau du cytoplasme des cellules des plantes infectées où il induit la formation d'inclusions de roues à aubes « PinWheels » [18].



Figure 1.2 : Symptômes de stries vert clair et jaunes dus au *WSMV* [18]

1.2.2. Description du virus :

Le *WSMV* appartient à la famille des *Potyviridae*, genre *Trimovirus* [18]. C'est un virus à ARN+ simple brin, sens positif et monopartite [3] [18]. Le microscope électronique a révélé que les particules du *WSMV* se présentent sous forme de filaments flexibles mesurant 700 nm de longueur et 15 nm de diamètre [18].

1.2.3. Transmission :

Le *WSMV* est transmis par un acarien : *Aceria tulipae* [29] à n'importe quel stade de son cycle biologique [20]. Ce vecteur transmet le virus en se nourrissant sur les plantes hôtes déjà infectées [27]. De plus le virus est transmis par inoculation mécanique [22] [18] et à un niveau moins important par semence. Le virus ne se transmet pas par contact de feuilles [18].

Le troisième virus provoquant des mosaïques est le *BSMV* qui sera étudié en détail dans le chapitre n° 2.

CHAPITRE 2

ETUDE DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE STRIÉE DE L'ORGE

2.1. Répartition géographique :

La mosaïque striée de l'orge a été décrite pour la première fois en Amérique du Nord [12] et le Japon [30]. Actuellement la maladie est signalée dans plusieurs pays, incluant l'Europe, l'Australie, l'ex-Union Soviétique, la Chine, la Corée [14], l'Algérie [11] et le Chili [31].

2.2. Composants du patho-système :

2.2.1. Plante hôte :

2.2.1.1. Hôtes naturels :

Dans la nature, seulement trois plantes ont été détectées comme hôtes du virus de la mosaïque striée de l'orge et qui appartiennent à la famille des graminées : L'orge (*Hordeum vulgare*) qui est l'hôte principal du virus et dont les symptômes sont plus caractéristiques [32] [33], le blé (*Triticum estivum*) qui est occasionnellement infecté [34] et l'avoine (*Avena fatua*) dont certaines souches du virus ont été identifiées par CHEIKO en 1975 [35].

2.2.1.2. Hôtes différentiels :

Environ 237 plantes de la famille des graminées ont été choisies comme hôtes différentiels des différentes souches du *BSMV* [36]. 13 membres de la famille des Dicotylédones dont 9 des *Chénopodiaceae*, des espèces de la famille des *Solanaceae*, de

l'*Armanthaceae*, de *Primulaceae* et aussi des plantes de maïs (*Zea mays*), de *Spinacia oleracea* et du tabac (*Nicotiana tabacum c.v Samsun*) [37] [12].

2.2.1.3. Symptomatologie :

2.2.1.3.1. Symptômes macroscopiques :

Les symptômes induits par le *BSMV* varient selon les souches du virus, la période d'infection, la plante hôte et aussi l'environnement [38][12]. Chez le blé, les symptômes sont moins fréquents [12]. Ils vont de la mosaïque modérée en stries à des nécroses létales [12]. Mais chez l'orge, les symptômes sont très marqués, ils sont de type mosaïque, ponctiforme, linéaire, blanchâtre suivie par des nécroses en stries [39]. Ces stries sont développées par la suite tout le long des feuilles où elles prennent aux sommets la forme de la lettre V [40] (figure 2.1). Les plantes malades apparaissent naines et l'infection par le virus induit la stérilité des épis due à l'avortement des fleurs (figure 2.2).

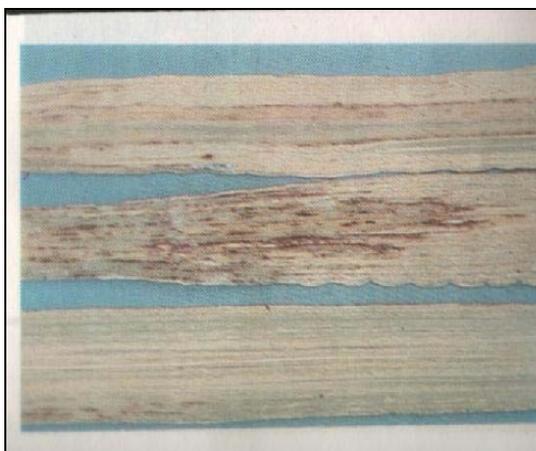


Figure 2.1 : Symptômes de mosaïques en stries sur feuilles d'orge [40]



Figure 2.2 : Stérilité des épis d'un plant d'orge due au *BSMV* [40]

La plupart des hôtes différentiels inoculés mécaniquement par le *BSMV* développent des symptômes de lésions jaunes et nécrotiques locales et des mosaïques systémiques [35].

2.2.1.3.2. Symptômes microscopiques :

Les études faites par le microscope optique et électronique ont montré que l'infection des hôtes par le *BSMV* induit des altérations pathologiques des cellules, qui se traduisent par l'apparition à l'intérieur de celles-ci des particules virales filamenteuses et des composants structuraux anormaux. Ces altérations sont fréquemment élevées dans le cytoplasme et la paroi cellulaire [32].

Dans le cytoplasme, les particules virales s'observent soit groupées, soit individuelles propagées autour des ribosomes, à la surface des chloroplastes[41], et autour du noyau. La présence de ces particules provoque la réduction du nombre des ribosomes dans quelques cellules [42], des dégénérescences membranaires, des légères inclusions globulaires et des déformations de chloroplastes [43].

Les anomalies physiologiques n'apparaissent pas directement développées avec la réplication du virus, elles se produisent dans les tissus infectés et se traduisent par une diminution de la respiration dans les tissus malades ainsi que les tissus sains et une réduction du taux de chlorophylle [44].

2.2.2. Virus :

2.2.2.1. Caractéristiques du genre *Hordeivirus* :

Le genre *Hordeivirus* est un genre non assigné à une famille [45]. Il est composé de trois virus sérologiquement distincts [46], et qui sont : le virus de la mosaïque striée de l'orge (*BSMV*), le virus semi latent de *Poa* (*PSLV*) qui attaquent les membres de la famille des graminées et le virus des tâches annulaires de *Lychnis* (*LRSV*) qui infecte plusieurs familles de Dicotylédones [14].

Les particules de ces virus ont un diamètre de 18 à 25nm et une longueur de 100 à 165 nm (tableau 2.1). Les trois virus sont transmis par inoculation mécanique, le *BSMV* et le *LRSV* sont également transmis par semence et par pollen [37] [20].

Le membre type du genre *Hordeivirus* est le *BSMV* qui représente ses caractéristiques typiques dont les plus importantes sont :

- La nature multipartite du génome [47] [48].

- La présence chez les souches de différents acides nucléiques [49] [43].
- La localisation du gène de la capsidie protéique dans la région terminale 5' du second composant génomique ARN_{2a} où il est traduit activement [50][51] [52].
- La transmission assurée par les *Hordeïvirus* est une transmission verticale [53].
- Et l'induction des mutations sur les plantes hôtes [54] [55] [56].

2.2.2.2. Biologie moléculaire associée au *BSMV* :

2.2.2.2.1. Nature du génome :

Le *BSMV* possède un génome à ARN simple brin à sens positif [57]. La nature du génome est tripartite. (tableau 2.1). Mais au niveau des souches, il peut être composé de plus de quatre segments d'ARN différents [57] [58]. Ses particules se présentent sous forme de filaments droits et rigides avec une structure hélicoïdale [3] [14] [18] (figure2.3).

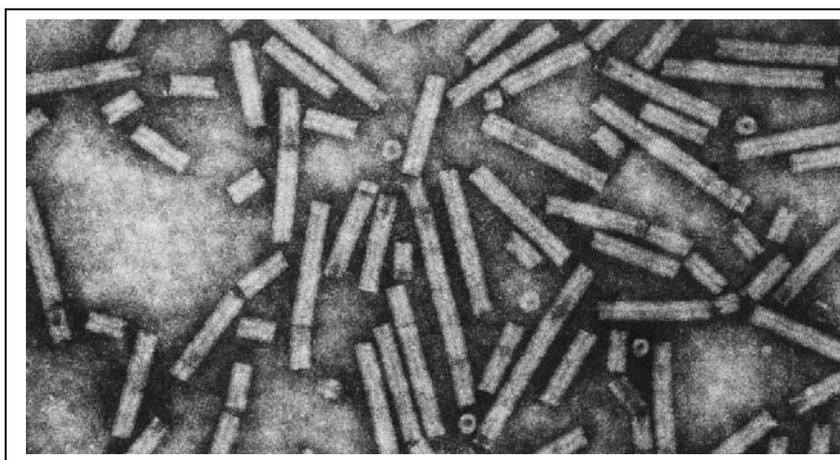


Figure2.3 : Les particules filamenteuses du *BSMV* [35]

2.2.2.2.2. Composition du virus :

Les particules qui entrent dans la composition du *BSMV* sont : Les acides nucléiques, les protéines et la capsidie protéique.

PRING en 1975, a découvert l'hétérogénéité de la préparation de l'ARN de ce virus. L'analyse électrophorétique a mis la possibilité de révéler deux à quatre composants dans la préparation et qui sont classés par ordre décroissant de la longueur en ARN₁, ARN₂, ARN₃ et ARN₄ [59]; L'ARN₁ et ARN₂ sont présent chez toutes les souches [54].

Les poids moléculaires de ces ARNs déterminés sont : ARN_1 , $1,35 \times 10^6$ (3000 nucléotides). ARN_2 , $1,1 \times 10^6$ (3300 nucléotides), ARN_3 , $1,0 \times 10^6$ (3000 nucléotides) et ARN_4 , $0,85 \times 10^6$ (2600 nucléotides) (tableau 2.1) [54]. Les protéines occupent 96% du poids du *BSMV* avec un poids moléculaire de 22 à 23×10^3 . [60][61]. Ces protéines contiennent une grande quantité d'acides aminés polaires, de proline et d'histidine mais n'ont pas de cystéine ou de méthionine [62]. En fin, la capsid protéique qui est un glycoprotéine [63] [38] [64] constitue de protéines ainsi que du glucose, mannose, xylose, galactosamine et du glucosamine [45] [43].

Tableau 2.1 : Caractéristiques des *Hordeivirus*

Genre	Virus	Gamme d'hôtes	Symptômes	Transmission	Source
<i>HORDEVIRUS</i>	<i>PLSV</i>	Orge, blé, maïs	Flétrissement Mosaïques Chlorotiques	Par contact	SLYHKUIS,1972 [] ; VAN REGENMORTEL et FREANKEL- CORNAT, 1986 []
	<i>LRSV</i>	Dicotylédones	Taches nécrotiques Anneaux nécrotiques	Mécanique Semence Pollen	LANE,1974 ; VAN REGENMORTEL et FREANKEL- CORNAT, 1986
	<i>BSMV</i>	Orge, blé, avoine	Mosaïques Striées Nanisme Stérilité	Mécanique Contact Semence Pollen Cicadelle	JACHSON et LANE,1981 ; VAV REGENMORTEL et FREANKEL- CORNAT,1986 ; WIESE,1998

PLSV : *Poa Semi Latent Virus* *LRSV* : *Lychnis Ring Spot Virus* *BSMV* : *Barley Stipe Mosaic virus*

2.2.2.2.3. Souches du virus :

Selon la composition en acides nucléiques, les souches du *BSMV* décrites sont : la souche bipartite, type Campana et type Russe, la souche tripartite, type Norwich (ND18) et la souche quadripartite, type Argentina douce (AM) [65] [66].

Malgré, la différence dans le nombre de composants du génome les souches du *BSMV*, ont un pourcentage élevé d'homogénéité [38] ; La souche bipartite contient l'ARN₁ et l'ARN₂. Ce dernier est une mixture de deux types de molécules qui ont la même longueur mais qui ont une structure primaire différente, l'ARN_{2a} et l'ARN_{2b} [38]. La souche tripartite, type Norwich possède ARN₁, ARN_{2a} et ARN₃. Ce dernier est analogue à l'ARN_{2b} de la souche bipartite dans 300 nucléotides. Enfin pour la souche quadripartite on trouve l'ARN₁, ARN_{2a}, ARN₃ et l'ARN₄ (tableau 2.2).

Tableau 2.2 : Les souches du *BSMV* [35] :

Souche	Acide nucléique	Nbr de nucléotides
Bipartite	ARN1	4000
	ARN2a	3600
	ARN2b	3600
Tripartite	ARN1	4000
	ARN2a	3600
	ARN2b	3600
	ARN3	3000
Quadripartite	ARN1	4000
	ARN2a	3600
	ARN2b	3600
	ARN3	3000
	ARN4	2600

2.2.2.2.4. Stratégie de réplication et de transcription :

Comme tous les ARNss sens positif, la stratégie de réplication et de transcription du *BSMV* est faite en quatre étapes : la décapsidation, la traduction, la transcription et l'encapsidation [1].

La décapsidation concerne le désassemblage des particules et la libération de l'acide nucléique pour les opérations successives. La synthèse des protéines virales est faite à

l'étape de la traduction où il y a une traduction du génome entier avec en même temps la synthèse de toutes les protéines structurales et non structurales. Ensuite, une traduction des gènes ouverts et la synthèse des protéines du complexe polymérisique. A la phase de la transcription on n'a la synthèse des molécules (-) utilisées comme moule pour les molécules (+) infectieuses et la production des ARNs subgénomiques pour la traduction des gènes fermes. Enfin, l'assemblage de l'acide nucléique et les protéines de la capsid donne la particule virale [1].

2.2.2.2.5. Les cadres ouverts de la lecture du génome du virus (ORFs) :

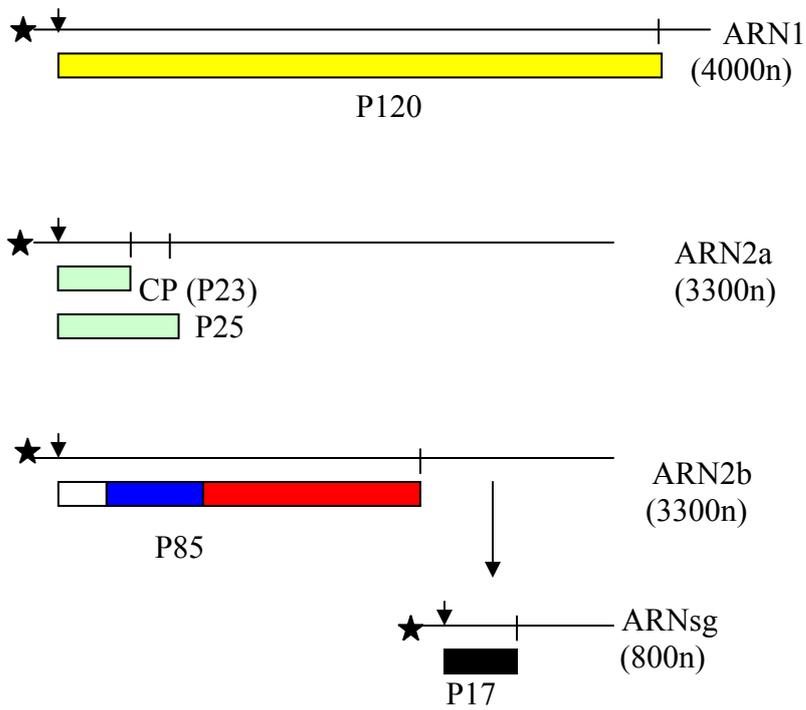
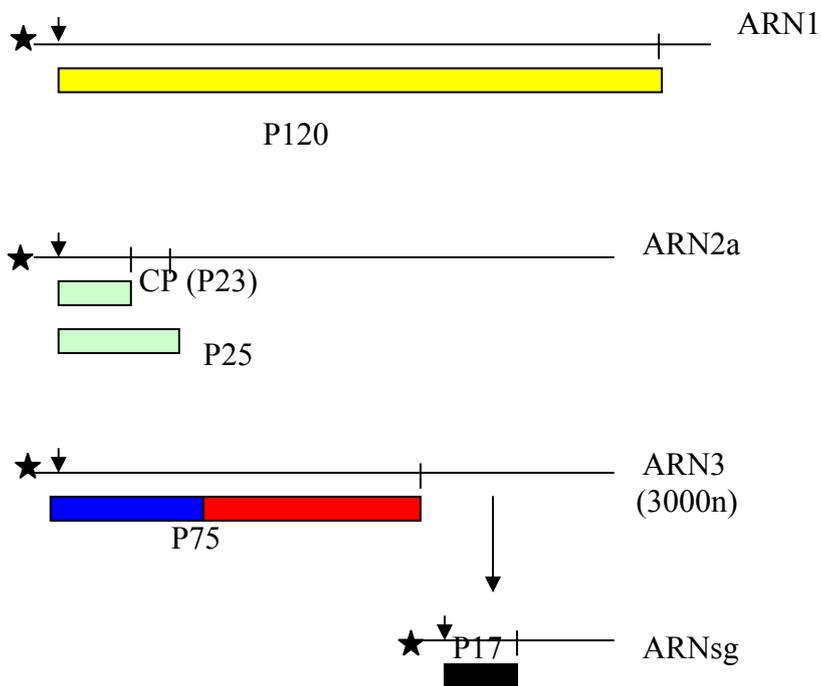
La traduction du génome du *BSMV* est monocitronique [46][48]. Il y' a plusieurs grilles de lecture (Open Reading Frames ORFs) et les produits de la traduction sont :

- Le polypeptide P120 codé par le gène de l'ARN₁ dont la séquence de 300 nucléotides de la région terminale 3' a été déterminée. Cette séquence est homologue au polypeptide 110K et 130K du virus de la mosaïque du brome (*BMV*) et du virus de la mosaïque du tabac (*TMV*) (figure2.4) [48].

- La capsid protéique ou bien le P23 qui est la traduction produite par l'ARN₂ à partir de la région terminale 5'. Cependant, certaines conditions induisent la synthèse de deux autres polypeptides qui sont le P25 et le P85. Les études ont montré que le P25 codé par l'ARN_{2a} est la capsid protéique et le P85 codé par l'ARN_{2b} participe à la réplication du virus (figure 2.4)) [35].

- Un seul produit majeur le P75 est codé par l'ARN₃. Ce polypeptide semble avoir le même rôle du P85 [46][48]. Une fonction similaire est assurée par le P55 traduit par le gène de l'ARN₄ (figure2.4.) [48] [38].

- Enfin, le polypeptide P17 dont le gène ferme est situé dans la région terminale 3' de la partie codante de l'ARN₃ et l'ARN_{2b}. Le P17 est exprimé dans les cellules des plantes infectées par l'ARN subgénomique (figure 2.4) [48] [38].

Souche bipartite :**Souche tripartite :**

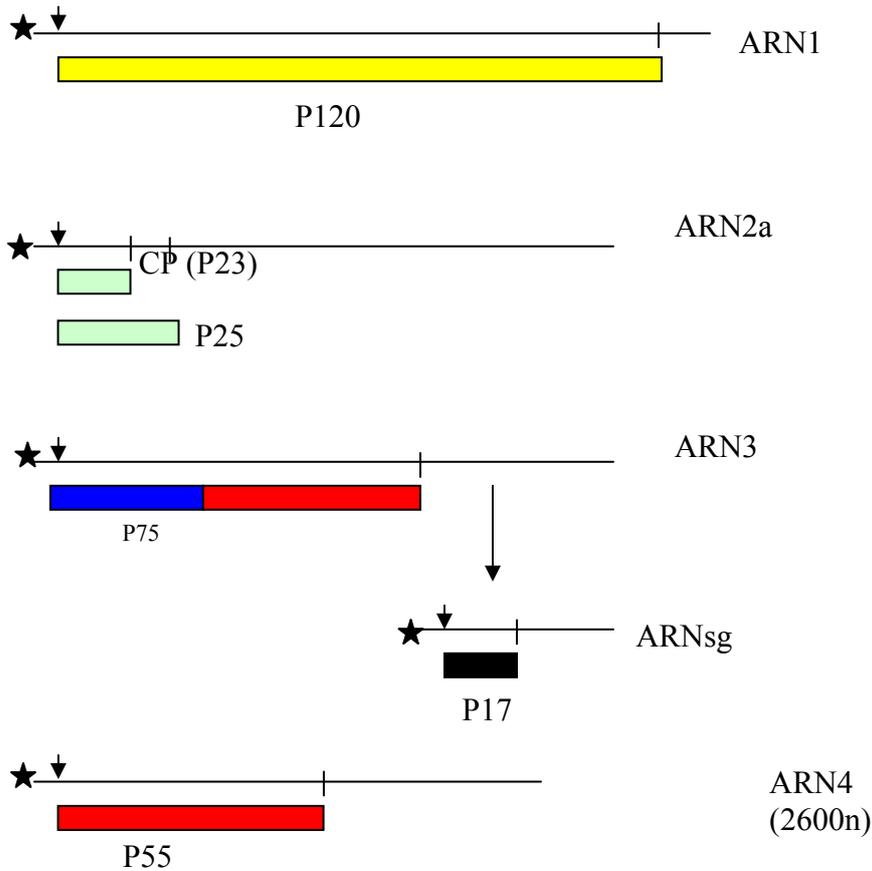
Souche quadripartite :

Figure2.4 : Schéma des produits de la traduction des génomes des souches du *BSMV* [46] [38][48])

★ : La région terminale 5'

▼ : Le codon initial

CP : Capside protéique

■ (jaune) : Le P 120

■ (vert clair) : Le P23, le P25

■ (rouge) : Partie commune entre le P85, P75 et le P55

■ (bleu) : La séquence commune entre le P75 et le P85

□ (blanc) : La séquence spécifique du P85

■ (noir) : Le P17

CP : protéine capsidale

Sg : l'ARN subgénomique

n : nucléotide

2.2.3. Transmission :

L'infection d'un végétal par un phytovirus exige que ce dernier soit introduit dans une cellule vivante de l'hôte, par l'intermédiaire d'une blessure ou par contact direct entre protoplasme infecté et protoplasme sain. La transmission du *BSMV* est assurée en grande partie par la semence [38]. Ce virus est transmis par la graine des jeunes plantules d'orge à 90% [67], ou même à 100% [68]. L'inoculum est maintenu dans les graines infectées pendant plusieurs années [12] [18].

Le taux de transmission varie avec le cultivar de l'orge, les souches du virus, la température et le stade de développement de la plante. Généralement, les plantes d'orge qui extériorisent peu ou pas de symptômes après inoculation mécanique ont un pourcentage de transmission très bas (<10%), au contraire celles qui montrent des symptômes sévères après l'inoculation ont un taux de transmission entre 11 et 90% [29]. L'infection des plantes mères après la floraison provoque des transmissions via la graine[38].

En plus de la transmission par la graine, le *BSMV* se transmet par le pollen, l'ovule [70] et la sève [71][72]. Dans le pollen, les particules virales sont localisées dans le cytoplasme et le noyau [73]. Dans l'ovule, le virus est présent dans le sac embryonnaire [74]. Le pourcentage de transmission par pollen et par ovule varie respectivement entre 10-30% et 17-66%.

Le virus peut également se propager par contact des feuilles de plantes avoisinantes infectées vers des plantes saines [12], et par la ciccadelle : *laodelphax striatellus* [75].

2.3. Epidémie de la maladie :

L'étude du développement des épidémies naturelles est très importante pour mieux comprendre la biologie des virus et pour définir des stratégies de lutte efficaces. L'ensemble des informations recueillies est utilisé pour déterminer la date et la vitesse à laquelle les viroses apparaissent, pour comprendre leurs modes de dissémination ou pour juger de l'efficacité d'une méthode de lutte [76].

Les virus des plantes sont des parasites obligatoires stricts qui pour se multiplier doivent se trouver dans des cellules vivantes. Les particules virales se dénaturent très rapidement dès que la plante ou les cultures hôtes meurent. Pour survivre, il faut donc que la population virale puisse se maintenir, soit en étant transmise à la descendance de la plante infectée, soit en contaminant d'autres individus de la même espèce ou d'autres espèces végétales [76]. Le *BSMV* est présent dans les champs d'orge non infectés grâce aux mouvements des semences contaminées. Ces semences ne sont pas seulement un moyen de transmission de virus vers de nouveaux endroits mais aussi elles assurent la conservation de l'inoculum d'une année à une autre et d'une culture à l'autre [77].

Dans le champ, la dissémination du *BSMV* des plantes infectées vers des plantes saines est le résultat d'un contact mécanique entre les feuilles des plantes voisines. Le pourcentage de dissémination dépend des souches du virus, du génotype de l'hôte et des facteurs environnementaux qui sont : la lumière, la température, le vent et les pluies qui assurent le contact entre les plantes malades et les plantes saines [36].

2.4. Méthodes de détection :

2.4.1. Bio détection :

Les premiers travaux mettant en évidence la variabilité des virus à ARN reposaient sur les observations phénotypiques. La symptomatologie est à l'origine de la description des maladies virales. Afin d'effectuer un test biologique, il est nécessaire de réaliser des collections d'isolats. Parfois, les symptômes sont suffisamment définis et spécifiques pour permettre d'identifier correctement la cause d'une maladie sans nécessiter d'autre analyse. Le plus souvent cependant, les situations sont complexes, différents agents peuvent causer des symptômes similaires tandis qu'inversement, un même agent peut produire des symptômes variables selon les circonstances [1].

2.4.2. Séro détection :

Parmi les méthodes modernes qui contribuent à faciliter le diagnostic en virologie, un rôle majeur est joué par la sérologie. Cette méthode est axée sur l'utilisation d'anticorps

sondes qui identifient de façon spécifique le virus cible, occasionnant une réaction de précipitation visible directement ou à l'aide de marqueurs.

La détection du *BSMV* était réalisée par plusieurs tests sérologiques qui sont : la méthode de double diffusion [78], la méthode de simple diffusion [62], l'immunofluorescence électronique [79] et le test ELISA [80]. Ce dernier est la méthode couramment utilisée pour le diagnostic des maladies à virus des plantes. Il existe désormais bien des exemples d'application dans les programmes de certification, d'éradication et de quarantaine, outre l'emploi lors d'études d'épidémiologie, de taxonomie et de caractérisation des virus.

De part sa simplicité, de maniement, les équipements requis et le coût des réactifs, le test ELISA s'adapte mieux aux essais de routine et à grande échelle sur le terrain. Il est préférable aux essais biologiques parce qu'il est plus rapide et il entraîne moins de difficultés logistiques à grande échelle.

L'utilisation du test ELISA pour la détection du *BSMV* dans les graines a été décrite par Lister et collaborateurs en 1981 [36]. Ce test a permis de faire un diagnostic sérologique fiable car le sérum a détecté une graine infectée dans un lot de 1000 à 2000 graines non infectées [39].

2.4.3. Détection moléculaire :

Les techniques moléculaires se sont très vite imposées en virologie végétale dont la versatilité d'emploi et la fiabilité des résultats obtenus font de ces techniques un outil précieux de recherche fondamentale, de diagnostic et d'analyse d'un grand nombre d'échantillons. L'évolution de ces techniques avec tout d'abord l'amplification des génomes par « reverse transcriptase » et « Réaction en chaîne de polymérisation (RT-PCR) » a permis d'étudier directement le génome du virus. Les premières techniques d'amplification enzymatique des acides nucléiques sont apparues en 1983, puis elles ont été adaptées en 1990 à la détection des virus de plantes [81]. Les fragments obtenus peuvent ensuite être analysés par différentes méthodes, et principalement le séquençage direct.

2.5. Lutte et contrôle de la maladie :

L'élimination des semences infectées était la seule approche prise pour le contrôle commercial des plantes d'orge. Aux Etats Unis, deux états ont utilisé certains types de plan de certification contre le *BSMV* [45]. Au Montana, ils ont adopté un plan de certification selon deux procédures. La première est une inspection des champs contenant des plantes montrant les symptômes. Dans ce cas les champs qui présentent des plantes symptomatiques sont éligibles à la certification. La seconde procédure est une inspection des semences à partir de tous les champs certifiés et qui est faite par des essais de tests sérologiques effectués sur les embryons [54]. 200 embryons ont été testés par lot de semences et à partir de chaque champ certifié. Aucun embryon infecté n'est accepté dans aucun lot de semences. En 1966, lorsque le laboratoire de semence de l'université de Montana a commencé les essais par les tests sérologiques plus de 40% de plus de 400 lots de semences inspectés ont été infectés [44]. Au contraire, en 1985 seulement 0,8% de 147 lots de semence éligibles pour la certification ont été contaminés. Le programme de certification a réduit de façon remarquable l'incidence et la sévérité du *BSMV* à Montana.

Un arrangement comparable était employé au Dakota du Nord, seulement les graines déterminées non infectées ont été autorisées pour la production des semences certifiées. En 1954, 93% des 214 plants d'orge ont montré des symptômes de *BSMV* [43]. Mais à partir de 1971 et à l'aide de toutes les propositions pratiques et utiles, le *BSMV* était presque éliminé de l'état de Dakota du Nord [82]. Autres régions des Etats Unis et plusieurs autres pays à travers le monde ont aussi contrôlé le *BSMV* par les inspections des champs et/ou les lots de semences.

L'utilisation des cultivars d'orge résistants au *BSMV* pour la production commerciale est aussi considérée comme un moyen qui a permis le contrôle de ce virus. Quatre variétés d'orge : Moreval (CI5724), Modjo (CI1321), Modjo 1 (CI14080) et CI 421 ont été classées résistantes à quelques souches du *BSMV* après inoculation mécanique [44] [83]. Ces variétés ont été utilisées dans les plans d'hybridation des plantes au Dakota du Nord. Montana et le Japon. A Montana, une variété appelée Mobet (CI 467884) était développée pour qu'elle soit résistante à la transmission par la semence de trois isolats de *BSMV* indigènes de Montana (MI-1-MI2 et MI-3). Cette variété était dérivée du croisement entre Modjo (13212) et Betzes (I6398) [44].

CHAPITRE 3

MATERIEL ET METHODES

3.1. Prospections et échantillonnage :

3.1.1. Zones prospectées :

Les prospections sur terrain ont été faites dans deux stations : la station expérimentale de l'Institut Technique de Grande Culture (ITGC) de Oued Smar et celle de l'ITGC de Beni Slimene

3.1.1.1. Station expérimentale de Oued Smar :

La station expérimentale de Oued Smar, se situe sur la partie Nord-Est de la plaine de la Mitidja à une altitude de 24 m, latitude 36° 43' Nord et longitude 3° 84' Est. Située à la limite des zones littorales, cette région bénéficie d'un climat méditerranéen à étage bioclimatique sub-humide à hiver doux, caractérisé par une alternance d'une saison sèche et chaude (Avril Septembre) suivie d'une saison humide (Octobre Mars).

3.1.1.2. Station expérimentale de Beni Slimene :

La région de Beni Slimene se situe entre deux barrières montagneuses : l'Atlas Blidien et le mont de Tablet au Nord et une partie des flancs Ouest chaînon des Bibans au Sud à une altitude de 789m, latitude 36,2 Nord et 32 Est. La région fait partie de l'étage bioclimatique semi aride à hiver froid et été chaud et sec. La pluviométrie moyenne de la région est de 367 mm/an, pour 69 jours de pluie. Les risques des gelées et de sirocco sont assez fréquents et atteignent respectivement 46 et 16 jours/an.

3.1.2. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans notre expérimentation provient des prospections effectuées sur orge et blé dur durant 2 campagnes (2003/2004 et 2004/2005). Le travail a porté sur 5 essais dont 4 essais d'orge et 1 essai de blé dur, composés de 47 variétés. Le tableau 3.1 nous montre l'origine des variétés prospectées.

Tableau 3.1 : Origine des variétés prospectées

Essai	Variété ou lignée	Pedigree	Origine	Espèce
Essai de Oued Smar (2003/2004)	V1. S14905		SERASEM	Orge
	V2. S14292		SERASEM	Orge
	V3. S16331		SERASEM	Orge
	V4. S16846		SERASEM	Orge
	V5. S21182		SERASEM	Orge
	V6. S25433		SERASEM	Orge
	V7. HD1100		SERASEM	Orge
	V8. S23727		SERASEM	Orge
	V9. S22833		SERASEM	Orge
	V10. S23833		SERASEM	Orge
	V11. S21487		SERASEM	Orge
	V12. S21705		SERASEM	Orge
	V13. S8100		SERASEM	Orge
	V14. Saïda	Sélection dans une population locale	ITGC	Orge
	V15. Rihane	1AP-3AP-OAP	ITGC	Orge
Essai National 1 de Oued Smar 2004/2005	V1.Lignée527/NK1272/N/76252/Jaidor/5/Alanda02/4/Arisona5908/Aths//Asse/3/F208-47	/CB97-0943-0AP	ICARDA	Orge
	V2. 80-5145/Hma-01/6/805132/4/Bera `s'/Cel//Oksamut/3/Orè's//Gloria `s'/Copal's/Lignée 640	/CB93-0209-0AP-1AP-0AP	ICARDA	Orge
	V3.Snn/Bda//Arar/3/CM67/Apro//Sv-02109/Mari	/CB90-0745-5AP-1AP-1AP-3AP-0AP	ICARDA	Orge
	V4.Ste/Lignée640/3/Roho//Alger/Ceres362-1-1-	/CBH90-0033-3AP-0AP-0AP-0AP-9AP-0AP	ICARDA	Orge
	V5.Hyb85-6//As46/Aths*2/4/Quinn/Run/Quinn/Lignée640/3/Comp.Cr.229//Mzq/DL71	/CB97-0814-0AP	ICARDA	Orge
	V6.Courlis/Harma	/CB93-0071-0AP-2AP-0AP	ICARDA	Orge
	V7.Arar/Lignée527//Alanda	/CB93-0373-0AP-8AP-0AP	ICARDA	Orge
	V8.Lignée527/Chn01/Lignée527/As45	/CB93-0813-0AP-1AP-0AP	ICARDA	Orge
	V9. Saïda			Orge
	V10. Jaidor			Orge

Tableau 3.1 : Origine des variétés prospectées

Essai	Variété ou lignée	Pedigree	Origine	Espèce
Essai National 2 de Oued Smar et de Beni Slimene (2004/2005)	V1.W12737/4/ALGER/CERES/SALMA S/3/ER/A/	CB93-1091-0AP	ICARDA	Orge
	V2.ALANDA//LIGNEE527/ARA/6/MAN/4/BAL	ICB95-0268-0AP	ICARDA	Orge
	V3.QB813-2//LIGNEE527/NKL1272	ICB95-0723-0AP	ICARDA	Orge
	V4.PATTT-B/RUDA 'S'//ALLELI	ICB98A-1007-H-2M-2Y	ICARDA	Orge
	V5.ALLANDA01/5/CIO1021/4/CM/4.SA SK.1800	ICB95-0259-0AP	ICARDA	Orge
	V6.ALANDA//LIGNEE527/ARAR/3/24/569	ICB95-051-0AP	ICARDA	Orge
	V7.ASCAD1380		ICARDA	Orge
	V8.ASCAD1420(HARMAL)//W12198/(EMIR)	ACS-B-9045-5IZ-3IZ-2IZ-0IZ	ICARDA	Orge
	V9.ATHS*/LIGNEE686//REBELLE351 F7		ICARDA	Orge
	V10.ASCAD1500-ACS1/AC S952	ACS-B9783-111Z-11Z-01Z-01Z	ICARDA	Orge
	V11.SAIDA 183		ITGC	Orge
	V12.RIHANE 03		ITGC	Orge
Essai blé dur de Oued Smar (2004/2005)	V1. ISLACIDO	CD91B2650-B-10M-030Y-030M-1Y	ICARDA	Blé dur
	V2. OTB-2	ICD110811-AB-3AP-0AP-4AP-0AP	ICARDA	Blé dur
	V3. OTB-4	ICD9110811-AB-3AP-OAP-2AP-0AP	ICARDA	Blé dur
	V4. AINZEN-01	ICD881120-ABL-0ATR-1BR-OTR-6AP-0AP	ICARDA	Blé dur
	V5. ASCAD 1031		ICARDA	Blé dur
	V6. ASCAD 1107		ICARDA	Blé dur
	V7. PLATA/FILO 09//PLATA21		ICARDA	Blé dur
	V8.MORROCO 10		ICARDA	Blé dur
	V9. HOGGAR		ISPAGNE	Blé dur
	V10. WAHA		ICARDA	Blé dur

Les prospections réalisées ont visé la collecte des échantillons malades. Il s'agit d'observer des plants présentant des symptômes caractéristiques de la maladie par comparaison à des photos bibliographiques et de prélever des échantillons correspondants. Chaque prélèvement effectué correspond à un seul plant, on a prélevé 5 à 6 échantillons de feuilles par plant selon l'importance et la sévérité des symptômes observés.

Le nombre de prélèvements était de 11 prélèvements par essai, effectués selon les trois stades phénologiques de la plante (fin tallage, montaison et épiaison). Pour les 2 campagnes, l'étude a été menée durant les mois d'Avril, Mai et Juin (tableau3.2).

Tableau3.2 : Prélèvements effectués durant les campagnes (2003/2004), (2004/2005)

Essai	Stade phénologique	Date de prélèvement
Orge de Oued Smar (2003/2004)	- Fin tallage - Montaison - Epiaison	22/26-04-2004 28-04//12-05-2004 14-05/01-06-2004
Orge : National 1 et National 2 de Oued Smar (2004/2005)	- Fin tallage - Montaison - Epiaison	13/17-04-2005 19-04/04-05-2005 06/21-05-2005
Orge de Beni Slimene (2004/2005)	- Fin tallage - Montaison - Epiaison	24/29-04-2005 02/16-05-2005 20-05/04-06-2005
Blé dur de Oued Smar (2004/2005)	- Fin tallage - Montaison - Epiaison	13/18-04-2005 22-04/07-05-2005 10/24-05-2005

3.1.3. Dispositif expérimental :

Le dispositif expérimental adopté pour les 5 essais au niveau des deux stations de l'ITGC de Oued Smar et de Beni Slimene était le bloc aléatoire complet (BAC) avec 4 répétitions.

Afin d'estimer le taux d'infection de la mosaïque striée sur les variétés d'orge et de blé dur en fonction du temps on a adopté ce même dispositif expérimental (Tableau 3.3).

Tableau 3.3 : Dispositif expérimental adopté pour l'évaluation des taux d'infection de la mosaïque striée

Essai	Paramètre étudié	Facteur	Niveau
Orge de Oued Smar (2003/2004)	Taux d'infection	- Variété (V) - Stade phénologique (S)	15 3
Orge de Oued Smar, National1 (2004/2005)	Taux d'infection	- Variété (V) - Stade phénologique (S)	10 3
Orge de Oued Smar et de Beni Slimene, National 2 (2004/2005)	Taux d'infection	- Variété (V) - Stade phénologique (S)	12 3
Blé dur de Oued Smar (2004/2005)	Taux d'infection	- Variété - Stade phénologique	10 3

3.1.4. Démarche d'analyse et d'interprétation statistique :

Les prospections effectuées durant les deux campagnes d'étude ont permis de calculer le taux de la mosaïque striée de l'orge (T).

$$T = \frac{\text{Nbr de plantes malades}}{\text{Nbr total des plantes}} \times 100$$

Les résultats de l'essai d'évaluation des taux d'infection ont été analysés à l'aide d'un logiciel statistique qui est le STATIT CF.

Lors de l'interprétation on a procédé à l'analyse de la variance, qui est un test qui nous a permis de déterminer les différences entre les moyennes des différents traitements. La démarche de l'interprétation consiste en premier lieu à examiner l'effet interaction entre les deux facteurs étudiés. S'il est significatif, on peut juger globalement l'effet des deux facteurs puisqu'ils ne sont pas indépendants. Il faut considérer séparément les effets simples. Si l'interaction est non significative, on admet qu'elle n'existe pas et l'on étudie séparément chaque facteur.

Le seuil de signification retenu est de 5%, si la probabilité calculée est inférieure à ce seuil, on admet l'existence d'un effet global significatif. Si la probabilité est supérieure ou égale à ce seuil, l'effet est non significatif. Si les différences qui ont été révélées sont significatives, on complète l'analyse par le test de PPRS. Ce test permet de classer les moyennes des différents traitements en groupes homogènes, ainsi ressortir les meilleurs traitements.

3.1.5. Conservation des échantillons :

Sur terrain, les feuilles prélevées ont été placées dans des sacs en papier sur lesquels on a noté le nom de la variété et les symptômes correspondants.

Au laboratoire et après chaque prospection, les échantillons récoltés sont dénombrés et classés dans des sacs en plastique numérotés ou chaque sac représente une variété, puis conservés à froid à 4 C°.

3.1.6. Gamme d'hôtes :

La gamme d'hôtes utilisée dans notre expérimentation était des espèces appartenant à 2 familles botaniques connues pour leurs réactions spécifiques vis-à-vis de ce virus. Il s'agit de la famille des graminées et la famille des *Solannaceae*. [38].

3.1.7. Tests de transmission biologique :

3.1.7.1. Transmission par semence :

Les semences infectées constituent la source la plus importante de contamination des plantes par le *BSMV* [35]. Vu l'importance de ce moyen de transmission et pour le confirmer pour les variétés prospectées, on a effectué un essai sur les graines des 15 variétés de l'essai de Oued Smar (campagne 2003/2004). La germination de ces graines était faite dans des boîtes de Petri contenant du papier Buvat, à raison de 20 graines/variété [84]. Le test sérologique DAS-ELISA a été effectué dès la levée des semences.

3.1.7.1.2. Inoculation mécanique :

Le test de transmission mécanique du *BSMV* a été réalisé sur plusieurs espèces appartenant à la famille des *Chénopodiaceae*, des *Solannaceae* et des graminées [38] [12].

Pour effectuer le test de transmission mécanique on a choisi 1 variété de la tomate, la variété Marmande et 2 variétés d'orge, la variété V11 : S21487 et la variété Rihane, ces dernières proviennent de l'essai d'orge de Oued Smar de la campagne 2003/2004. Le semis a été réalisé dans des pots en plastique contenant 1/3 du sol stérilisé et 2/3 de la tourbe, à

raison de 60 pots par variété et à raison de 4 graines par pot. L'inoculation mécanique a été effectuée une fois que les plantules ont atteint le stade optimum de l'inoculation, soit 1 à 2 feuilles pour les espèces de la famille des graminées et 4 feuilles pour l'espèce de la famille des *Solannaceae*. L'inoculum choisi était des feuilles fraîches de la variété Rihane, montrant des symptômes du *BSMV*. Ces feuilles ont été broyées à froid dans un mortier avec le tampon phosphate 0,1ml, PH 7,4 (1mg de poids frais/4 ml de tampon), en ajoutant du carborundum (1mg/l) [85]. Le jus virosé était ensuite appliqué sur la face supérieure des feuilles des plantes à inoculer. Ces feuilles ont été ensuite rincées à l'eau distillée après 2 à 3 minutes et maintenues à des températures entre 18 et 22 C°. Après 30 jours, les plantes ont subi un test sérologique DAS-ELISA.

3.2. Etude épidémiologique :

3.2.1. Notion d'épidémiologie virale :

L'épidémiologie décrit le développement d'une maladie virale au sein d'une population de plantes hôtes saines en fonction du temps et de l'espace [1]. Une épidémie englobe la série d'évènements qui se succèdent dans une population envahie par un agent pathogène, l'apport d'inoculum, le contact entre l'agent et la plante hôte, la pénétration du virus, l'infection, la constitution d'un nouvel inoculum et sa dispersion. Le déroulement des épidémies dépend d'interactions complexes entre les trois partenaires : le virus, le vecteur et l'hôte cultivé, soumis à un environnement physique et climatique donné [86].

L'intensité d'une maladie est généralement évaluée en quantifiant le nombre de plantes infectées. La connaissance des paramètres entrant en jeu dans l'extension des maladies doit permettre d'élaborer des systèmes prévisionnels permettant de conduire une lutte efficace. L'analyse des processus épidémiologique est alors un élément important pour la conception et le choix de moyens de lutte contre les virus [86].

3.2.2. Incidence de la mosaïque striée :

Afin d'estimer l'incidence de la mosaïque striée sur orge, un essai épidémiologique sur deux variétés (Rihane et V6 : S 25433) a été menée en 2005 à la station expérimentale de l'Institut d'Agronomie de Blida. Le terrain est composé de 2 parcelles d'une superficie de 10 m².

Les observations ont débuté au stade fin tallage sur les plantes présentant sur feuilles des symptômes typiques de la maladie, notamment des tâches blanchâtres et des stries marron. La progression de l'épidémie a été suivie par des prélèvements régulières de 50 feuilles malades par variété tous les trois jours du stade fin tallage, début montaison jusqu'au stade épiaison (tableau 3.4). Le nombre total des échantillons prélevés était 350 échantillon par variété et les observations ont été confirmées par des contrôles DAS-ELISA. L'incidence de la mosaïque striée est donnée par la formule suivante :

$$I = \frac{\text{Nbr de plants positifs}}{\text{Nbr de plants testés}} \times 100$$

I : Incidence

Tableau 3.4 : Prélèvements effectués lors de l'essai épidémiologique

Variété Rihane		Variété V6 : S254 33	
Semaine de prélèvement	Nombre d'échantillons prélevés	Semaine de Prélèvement	Nombre d'échantillons prélevés
Semaine 1	50	Semaine 1	50
Semaine 2	50	Semaine 2	50
Semaine 3	50	Semaine 3	50
Semaine 4	50	Semaine 4	50
Semaine 5	50	Semaine 5	50
Semaine 6	50	Semaine 6	50
Semaine 7	50	Semaine 7	50
Total	350	Total	350

3.3. Séro- détection du *BSMV* :

3.3.1. Test immuno-enzymatique :

Le test ELISA décrit pour la détection des virus de plantes, a révolutionné le diagnostic en virologie végétal. Il permet de s'affranchir des incertitudes liées à l'étude des symptômes et d'affirmer qu'une plante est affectivement infectée par le virus. Le principe de ce test est la reconnaissance hautement spécifique entre « antigène-anticorps » et fait intervenir le couplage des anticorps avec une enzyme [87] (figure 3.1). Cette technique est très sensible et permet de détecter entre 1 à 10 ng de virus par ml de broyat, selon le virus considéré [88][86].

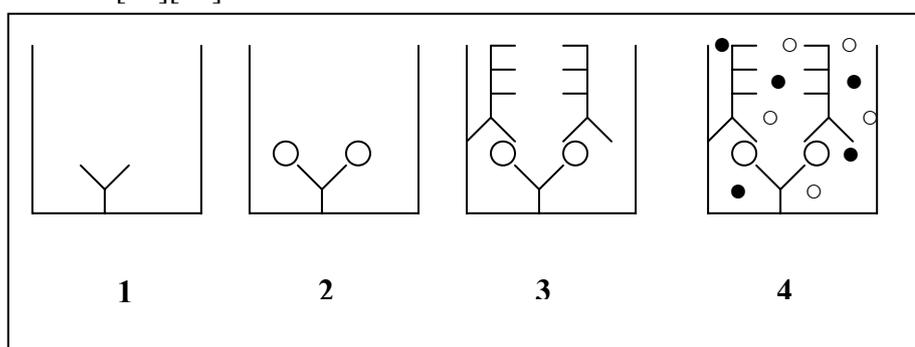


Figure 3.1 : Principe du test ELISA [1].

1. Adsorption de l'anticorps
2. Adsorption de l'antigène
3. Fixation d'un anticorps spécifique de l'antigène
couplé à la phosphate alcaline E
4. Addition du substrat de la phosphatase alcaline

3.3.2. Antiserum polyclonaux :

Un serum polyclonal est un mélange d'IgG dirigés contre une protéine virale, le plus souvent la protéine de la capside. Des anticorps polyclonaux sont obtenus à partir de prises de sang de lapin effectuées après une immunisation par le virus étudié. Un sérum polyclonal renferme de très nombreux anticorps de réactivités différentes [89][90][91].

Aujourd'hui, ces anticorps sont principalement utilisés grâce au test ELISA, mais ils sont très utiles pour d'autres tests comme l'immuno précipitation ou l'immuno diffusion et

l'immuno- électro- microscopie [92] [93] [86]. Ces sérums peuvent permettre, de révéler des relations sérologiques entre virus différents. Toutefois un anticorps reconnaît un grand nombre de sites antigéniques différents, ce qui ne permet pas toujours de différencier des souches d'un même virus.

3.3.3. Anticorps monoclonaux :

Le développement des anticorps monoclonaux permet une étude plus approfondie des structures antigéniques. Contrairement aux antiserum polyclonaux, chaque anticorps monoclonal reconnaît un site antigénique unique ou épitope de la protéine virale. L'utilisation des anticorps monoclonaux peut permettre de détecter des mutations ponctuelles ayant ou non une influence au niveau biologique. Ils reconnaissent en principe un épitope unique formé de quelques acides aminés, par conséquent une mutation d'un seul acide aminé impliqué dans la formation de l'épitope empêche la reconnaissance par l'anticorps. Cette méthode permet à la fois de différencier des souches de virus entre elles si l'épitope correspond à une partie variable de la séquence de la protéine virale et de mettre en évidence des relations sérologiques entre virus si l'épitope reconnaît une partie conservée [86].

Les anticorps monoclonaux sont des outils très fins qui permettent l'étude de la variabilité d'un virus. Ils sont fréquemment dirigés contre la capsid d'un virus et utilisés pour la distinction sérologique des souches virales [94][95].

3.3.4. Extraction du virus :

Les échantillons conservés ont été broyés à froid à l'aide d'un mortier dans une solution tampon (1g de poids frais/ 2ml de tampon phosphate Buffered Saline (PBS-T), pH7,4) en présence de Polyvinylpyrrolidone,1% (PVP) du Sérum Albumine Bovine (SAB), 0,1%. Les jus virosés récupérés des échantillons ont été ensuite mis dans des tubes en plastiques et conservés à froid.

3.3.5. Anticorps utilisés :

Dans notre expérimentation on a utilisé la technique DAS-ELISA avec des anticorps polyclonaux fournis par le laboratoire Bio Rad (France).

3.3.6. Préparation des plaques :

La réalisation du test ELISA a été effectuée selon les étapes suivantes :

- ne pas utiliser les puits de bordure
- déposer chaque échantillon dans un puit

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B	Substrat	TP	1	4	7	10	13	16	19	22	25	
C	Substrat	TP	1	4	7	10	13	16	19	22	25	
D	Substrat	T ⁺	2	5	8	11	14	17	20	23	26	
E	Substrat	T ⁺	2	5	8	11	14	17	20	23	26	
F	Substrat	T ⁻	3	6	9	12	15	18	21	24	27	
G	Substrat	T ⁻	3	6	9	12	15	18	21	24	27	
H												

TP : Tampon T⁺ : contrôle positif T⁻ : Contrôle négatif 1,2, Échantillons

Figure 3.2 : Plan d'une plaque ELISA

3.3.7. Protocole ELISA :

Etape 1 : Fixation des anticorps

Diluer les anticorps au 1/100 dans le tampon de fixation

Pour une plaque diluer juste avant utilisation

Tampon de fixation	10ml
Anticorps	100µl

Incubation : 2h à 37 C° (les plaques sont couvertes avec un film plastique adhésif).

Lavage : 3 lavages avec du PBS-TWEEN.

Etape 2 : Dépôt des échantillons

Selon les échantillons broyer au 1/3, 1/5 ou 1/10 dans un tampon de broyage adapté.

Les jus peuvent se conserver 12h à +2- 8 C°

Préparation des témoins : ils sont lyophilisés et doivent être réhydratés dans 0,5, 1 ou 2ml d'eau distillée. Après hydratation, les témoins doivent être conservés à +2-8 C° et utilisées dans la journée.

Incubation : 1 nuit à +2- 8 C° (les plaques sont couvertes avec un film plastique adhésif).

Lavage : 2 lavages PBS-TWEEN puis 2 lavages PBS-TWEEN avec 3min d'incubation entre chaque lavage.

Etape 3 : Dépôt des anticorps conjugués

Diluer les anticorps conjugués au 1/100 dans le tampon de conjugué

Pour une plaque diluer juste avant utilisation

Tampon conjugué	10ml
Anticorps conjugué	100µl

Incubation : 2h à 37 C° (les plaques sont couvertes avec un film plastique adhésif).

Lavage : 3 lavages avec du PBS-TWEEN

Etape 4 : Dépôt de substrat

Dissoudre le pNPP juste avant utilisation dans le tampon de substrat

Tampon substrat	10ml
pNPP	2 pastilles de 5mg

Incubation : 30 min à 37 C° puis à température ambiante.

Lecture : 30min, 1 h et 2 h après dépôt de substrat.

3.3.8. Lecture et interprétation :

L'évaluation des réactions ELISA a été effectuée dans un lecteur ELISA à 405 nm à l'IRPV de Boufarik.

Pour calculer les absorbances, les valeurs de DO des tampons, témoins et échantillons sont les valeurs brutes diminuées de DO du substrat.

$$\text{DO échantillons} = \text{DO brute} - \text{moyenne des DO des puits de substrat}$$

L'interprétation du résultat est faite par le calcul d'un seuil de détection. Un échantillon est considéré positif lorsque sa densité optique est deux fois la densité du témoin sain.

CHAPITRE 4

RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.1. Essai orge de Oued Smar (campagne 2003/2004) :

4.1.1. Evaluation de la maladie de la mosaïque striée :

4.1.1.1. Symptômes observés lors des prospections :

L'observation des symptômes sur les variétés d'orge de Oued Smar de la campagne 2003/2004 a commencé au stade fin tallage où on a observé sur la plupart des variétés, des tâches blanchâtres qui ont débuté de la base des feuilles. Ces tâches étaient de couleur jaune pour les variétés V2, V5, V8 et V11. A la montaison, les symptômes ont évolué en petites stries de couleur marron plus ou moins foncée selon les variétés ; ces stries étaient très abondantes pour les variétés Rihane et V6 (figure 4.1). Un autre symptôme de tâches nécrotiques a été observé sur les variétés Saïda, V2, V8, V11, V12 et V13. Au stade épiaison on a remarqué une destruction totale des plants de la variété Saïda et un arrêt de l'évolution de la maladie pour les autres variétés. A la fin de ce stade aucun symptôme de la maladie n'a été observé et par contre le champ a été complètement envahi par les maladies fongiques.



1



2

Figure 4.1 : 1. Témoin sain; 2. Symptômes de stries marron observés sur
feuille d'orge

4.1.1.2. Analyse statistique :

Avant la réalisation de l'analyse statistique on a calculé les taux d'infection de la mosaïque striée sur les 15 variétés d'orge étudiées (tableau 4.1).

Tableau 4.1 : Taux d'infection calculés pour les variétés de l'essai d'orge de Oued Smar (capmagne 2003/2004)

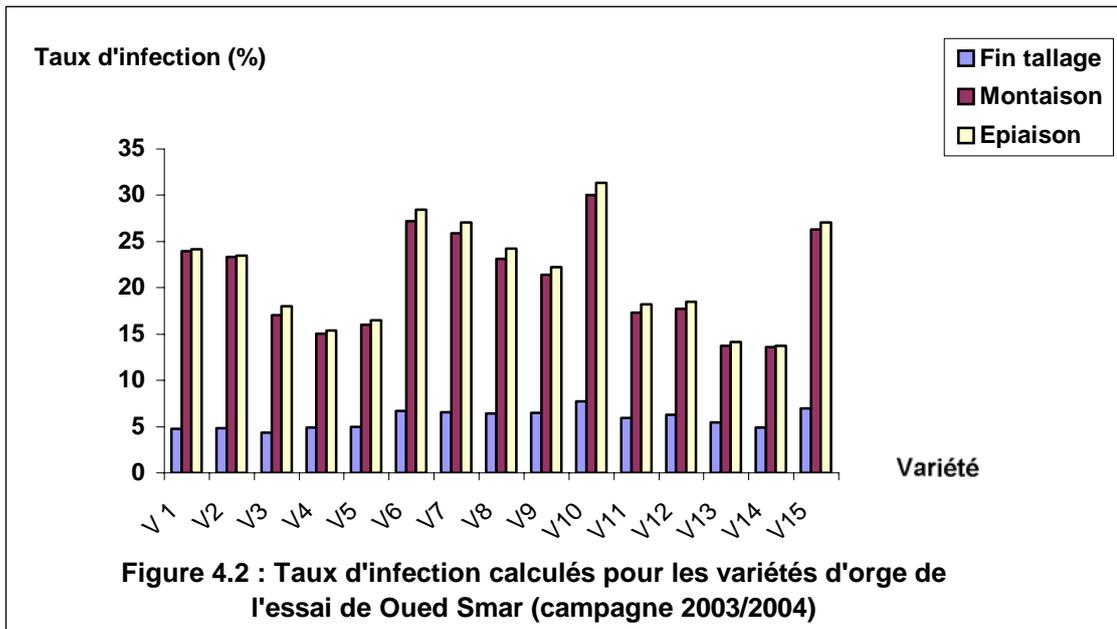
V \ SB	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15
S1B1	4,8	5	4,1	4,8	5,2	6,9	6,7	6,3	6,5	7,9	6	6,2	5,2	4,9	7
S2B1	24,3	23,9	17,3	15,2	15,2	27,7	26	23	21,58	30	17,4	17,7	13,8	13,6	26,3
S3B1	24,5	24,1	18,4	15,4	15,4	28,4	27,3	24,2	22,2	31,6	18,2	18,2	14,1	13,8	27,2
S1B2	4,5	4,8	4,4	5	4,9	6,7	6,4	6,5	6,4	7,6	5,9	6,3	5,9	4,8	6,9
S2B2	23	22,9	16,9	14,9	16,3	28,1	25,8	23,2	21,3	29,8	17,2	17,9	13,7	13,5	26,2
S3B2	23,2	23	17,5	15	16,8	28,7	26,9	24,3	22	30,7	18	18,5	14,1	13,6	27,1
S1B3	4,7	4,7	4,4	4,9	5	6,6	6,6	6,3	6,5	7,7	6	6,2	5,4	4,9	6,8
S2B3	24	23,3	16,9	14,9	15,9	27,4	26,1	23,1	21,3	30	17,5	17,7	13,9	13,6	26
S3B3	24,2	23,6	17,5	15,3	16,5	28,2	27,2	24,1	22,2	31,5	18,4	18,4	14,3	13,8	26,8
S1B4	5	4,7	4,5	4,8	4,7	6,7	6,4	6,5	6,5	7,8	5,8	6,5	5,2	5	7,1
S2B4	24,6	23,1	16,8	15,3	15,9	27,7	25,6	23,1	21,6	30,2	17,1	17,8	13,6	13,6	26,6
S3B4	24,8	23,3	17,8	15,8	16,1	28,5	26,9	24,1	22,4	31,6	18,2	18,6	14,1	13,8	27,2

V : Variété S: Stade de développement B: Bloc

Les résultats de l'analyse statistique relatifs à ces taux d'infection sont représentés dans le tableau 4.1 et sont illustrés par l'histogramme figure 4.2. L'analyse de la variance indique que l'interaction variété, stade de développement est très hautement significative (prob= 0,0000), au seuil de 5% (annexe 1). Ce résultat mène à épargner les effets simples. Le test de student NEWMAN and KEULS, a permis de classer les différents traitements en groupes homogènes et a révélé les taux d'infection les moins élevés chez les variétés V1, V2 et V3 au stade fin tallage (S1) et les taux les plus élevés pour les variétés V10, V6 et V15 au stade montaison (S2) et au stade épiaison (S3).

Tableau 4.2 : Résultats de l'analyse statistique relatifs aux taux d'infection calculés
pour les variétés d'orge de l'essai de Oued Smar (campagne 2003/2004)

N=°	Traitement	M ± E.T	G H	Prob	ET résiduel	CV %
1	V10 S3	31,35± 0,36	A	0,0000	0,25	1,5
2	V10 S2	30,00± 0,12	B			
3	V6 S3	28,45± 0,25	C			
4	V6 S2	27,73± 0,34	D			
5	V15 S3	27,08± 0,17	E			
6	V7 S3	27,07± 0,18	E			
7	V15 S2	26,27± 0,22	F			
8	V7 S2	25,88± 0,24	G			
9	V8 S3	24,20± 0,14	H			
10	V1 S3	24,17± 0,07	H			
11	V1 S2	23,98± 0,62	H			
12	V2 S3	23,50± 0,04	I			
13	V2 S2	23,30± 0,37	I			
14	V8 S2	23,10± 0,16	I			
15	V9 S3	22,20± 0,12	J			
16	V9 S2	21,42± 0,09	K			
17	V12 S3	18,50± 0,09	L			
18	V11 S3	18,20± 0,15	LM			
19	V3 S3	18 ±0,34	MN			
20	V12 S3	17,77± 0,17	N			
21	V11 S2	17,30 ±0,19	O			
22	V3 S2	17,02± 0,16	O			
23	V5 S3	16,50± 0,35	P			
24	V5 S2	16,05± 0,25	Q			
25	V4 S3	15,38 ±0,27	R			
26	V4 S2	15,07± 0,14	R			
27	V13 S3	14,15± 0,14	S			
28	V14 S3	13,75± 0,06	ST			
29	V13 S2	13,75 ±0,16	ST			
30	V14 S2	13,58 ±0,05	T			
31	V10 S1	7,75 ±0,05	U			
32	V15 S1	6,95± 0,10	V			
33	V6 S1	6,73± 0,10	VW			
34	V7 S1	6,53± 0,13	W			
35	V9 S1	6,47± 0,05	W			
36	V8 S1	6,40 0,17	W			
37	V12 S1	6,30 0,16	W			
38	V11 S1	5,93± 0,12	X			
39	V13 S1	5,43± 0,41	Y			
40	V5 S1	4,95± 0,20	Z			
41	V14 S1	4,90± 0,06	Z			
42	V4 S1	4,88± 0,18	Z			
43	V2 S1	4,80± 0,13	Z			
44	V1 S1	4,75± 0,15	Z			
45	V3 S1	4,38± 0,24	0			



4.1.2. Dosage immuno-enzymatique :

L'ensemble des échantillons de feuilles collectées des 15 variétés ont été analysées par la DAS-ELISA. Le test sérologique a révélé la présence du *BSMV* sur 7 variétés y compris la variété Rihane. La valeur de la densité optique la plus faible a été enregistrée par la variété V1 (DO=2,140) et la valeur la plus élevée par la variété V6 (DO=2,285). La variété Saida connue par sa sensibilité au *BSMV* n'a pas réagi au serum et le test était négatif (tableau 4.3).

Tableau 4.3 : Résultats de la DAS-ELISA obtenus pour les variétés de l'essai d'orge de Oued Smar (campagne 2003/2004)

N^o	Variétés	DO	Observation
01	V1	2,140	+
02	V2	2,150	+
03	V3	0,008	-
04	V4	0,009	-
05	V5	0,0010	-
06	V6	2,285	+
07	V7	2,250	+
08	V8	2,245	+
09	V9	0,0010	-
10	V10	2,135	+
11	V11	0,005	-
12	V12	0,008	-
13	V13	0,006	-
14	V14	0,003	-
15	V15	2,235	+
16	contrôle positif	2,432	+
17	Contrôle négatif	0,014	-

4.1.3. Discussion :

Les symptômes observés sur les variétés d'orge de l'essai de Oued Smar de la campagne 2003/2004 étaient à la fin tallage, de type mosaïques blanchâtres pour l'ensemble des variétés et qui ont débuté de la base des feuilles et remonté tout le long du limbe. Ces mosaïques étaient devenues au stade épiaison des stries marron plus ou moins longues. Ceci correspond aux symptômes du *BSMV* décrits par CORNUET en 1959 [96], JACKSON et LANE en 1981[12] et BRUNT et *al* en 1997 [18]. Ces symptômes étaient très développés au stade montaison puis à l'épiaison on a remarqué un arrêt de l'évolution de la maladie. Ce cas de figure pourrait s'expliquer par le fait que les plantes ont surmonté l'attaque du *BSMV* ou bien c'est dû à l'effet des pluies irrégulières enregistrées durant le mois de Mai où l'humidité a favorisé le développement des maladies fongiques avec un taux très élevé.

L'analyse de la variance a permis de déduire qu'il y'a une interaction entre les variétés étudiées et les stades de développement. Les taux d'infection les plus faibles ont été observés au stade fin tallage alors que les plus élevés ont été enregistrés au stade montaison et épiaison. Ce qui mène à penser que les symptômes induits par le *BSMV* sont sévères entre le stade montaison et le stade épiaison alors que ces symptômes sont modérés au stade fin tallage.

Le test ELISA direct appliqué aux échantillons de feuilles des variétés d'orge testées a permis la détection du *BSMV*. Sur les 15 variétés testées, seulement 7 ont réagi positivement à la DAS-ELISA. Pour cet essai, la variété V6 s'est montrée sensible au *BSMV* avec des symptômes de mosaïques striées caractérisés par de longues stries de couleur marron. La réponse négative de la variété Saida mène à dire que la DAS-ELISA n'a pas détecté le virus dans cette variété.

4.2. Essai orge National 1 de Oued Smar (campagne 2004/2005) :

4.2.1. Evaluation de la maladie de la mosaïque striée :

4.2.1.1. Symptômes observés lors des prospections :

Les variétés d'orge de l'essai National 1 de Oued Smar de la campagne 2004/2005 ont montré des symptômes très importants. A la fin tallage, on a observé des mosaïques ponctiformes sur l'ensemble des variétés. Ces mosaïques étaient plus caractéristiques et plus abondantes sur les variétés Saida et Jaidor. Puis à la montaison, on a remarqué une alternance de couleur jaune et brune sur les feuilles des variétés V3, V5, V7 et Jaidor et la présence des stries courtes de couleur marron sur les autres variétés. Ensuite à l'épiaison, les symptômes étaient développés en stries marron foncé tout le long des feuilles. Ces stries étaient très marquées sur les variétés Saida, Jaidor, V1 et V5 où ils ont pris aux sommets des feuilles la forme de la lettre V (figure 4.3). Les plantes malades étaient naines et elles ont présenté des épis stériles.

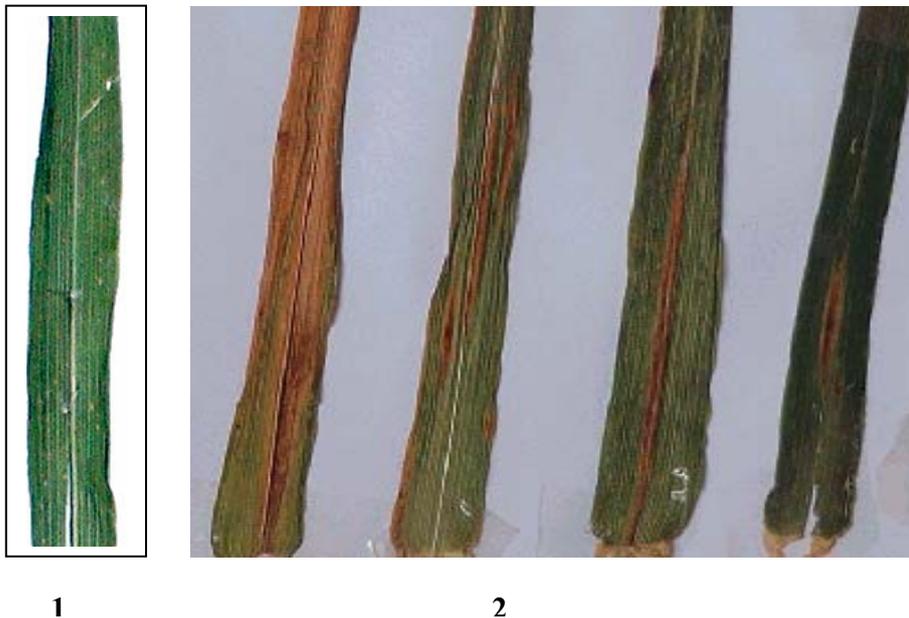


Figure 4.3 : **1.** Témoin sain; **2.** Evolution de la maladie de la mosaïque striée sur orge de l'essai National 1 de Oued Smar

4.2.1.2 . Analyse statistique :

Les résultats correspondent aux taux d'infection de la mosaïque striée enregistrés sur les variétés d'orge de l'essai National 1 sont donnés dans le tableau 4.4.

Tableau 4.4 : Taux d'infection calculés pour les variétés de l'essai d'orge National 1 de Oued Smar

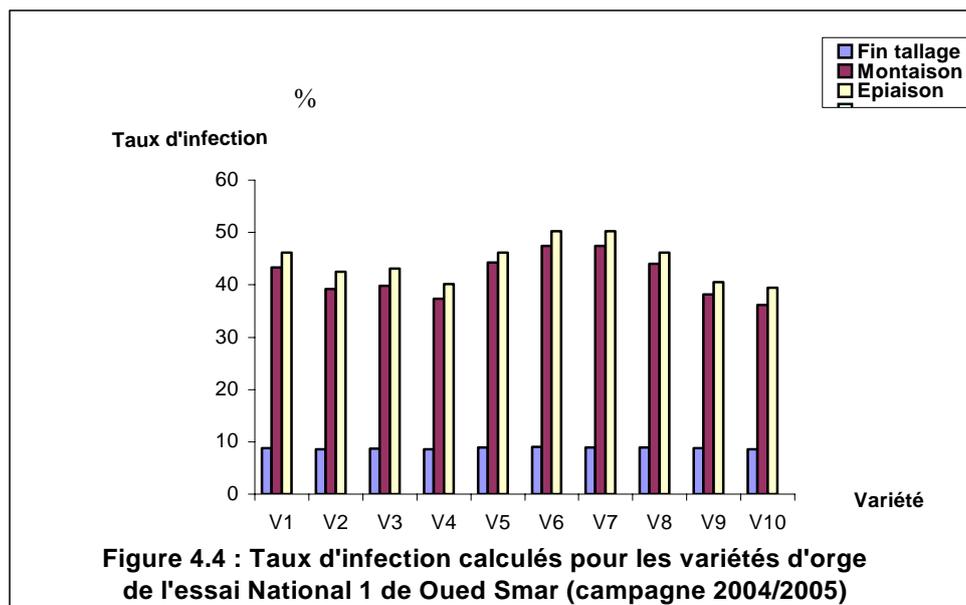
V \ SB	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10
S1B1	9,1	8,5	9	8,7	9	9,1	9	8,7	8,7	8,5
S2B1	43,3	39,1	40	37,5	44,6	47,5	44,1	30,8	38,3	36,6
S3B1	46,2	42,6	43	40,1	46,2	50,2	46,2	34,4	40,6	39,5
S1B2	8,7	8,5	8,7	8,5	8,9	9,1	9	9	9	8,7
S2B2	43,1	39	39,8	37,3	44,1	47,5	44	30,9	38,3	36,3
S3B2	46,1	42,4	43,2	40	46,1	50,1	46,1	34,2	40,4	39,4
S1B3	8,9	8,5	8,3	8,3	8,9	9	9,1	8,8	8,7	8,3
S2B3	43,4	39,2	39,6	37	44	47,3	44	30,7	38,1	36
S3B3	46,2	42,5	43,2	40,1	46,2	50,3	46,1	34,3	40,4	39,5
S1B4	8,3	8,6	8,9	8,6	9	8,9	8,8	8,9	8,9	8,6
S2B4	43,3	30,7	40	37,4	44,2	47,5	44,1	30,8	38	36
S3B4	46	42,5	43,1	40,2	46,1	50,2	46,2	34,2	40,5	39,4

V : Variété S : Stade de développement B: Bloc

Les résultats de l'analyse statistique sont représentés par le tableau 4.5 et illustrés par l'histogramme figure 4.4. Sur les 10 variétés testées on a observé une différence entre les moyennes des différents traitements très hautement significative ($prob= 0,0000$) au seuil de signification 5% (annexe 2). L'effet interaction existe entre les deux facteurs étudiés. Le test NEWMAN- KEULS nous a permis de classer les différents traitements en groupes homogènes et a révélé le taux d'infection le plus faible chez les variétés V2, V4 et V10 au stade fin tallage (S1) (8,52%) et le taux d'infection le plus élevé chez la variété V6 au stade épiaison (S3) (50,20%).

Tableau 4.5 : Résultats de l'analyse statistique relatifs aux taux d'infection enregistrés
chez les variétés d'orge de l'essai National 1 de Oued Smar

N=°	Traitement	M ± ET	G H	Prob	ET résiduel	CV %
1	V6 S3	50,20± 0,12	A	0,0000	0,15	0.5
2	V6 S2	47,45± 0,07	B			
3	V5 S3	46,15 ±0,08	C			
4	V7 S3	46,15 0,04	C			
5	V1 S3	46,13± 0,01	C			
6	V5 S2	44,22 ±0,21	D			
7	V7 S2	44,05± 0,04	D			
8	V1 S2	43,27 0,15	E			
9	V 3 S3	43,13± 0,15	E			
10	V2 S3	42,50± 0,14	F			
11	V9 S3	40,47± 0,05	G			
12	V4 S3	40,1± 0,09	H			
13	V3 S2	39,85± 0,14	J			
14	V10 S 3	39,45 ±0,08	J			
15	V2 S2	39,25 ±0,32	J			
16	V9 S2	38,17 ±0,13	K			
17	V4 S2	37,30 0,16	L			
18	V10 S2	36,22± 0,24	M			
19	V8 S3	34,28 ±0,08	N			
20	V8 S2	30,80 ±0,08	O			
21	V6 S1	9,02 ±0,09	P			
22	V7 S1	8,98 ±0,15	P			
23	V5 S1	8,95 ±0,04	P			
24	V8 S1	8,85± 0,16	PQ			
25	V9 S1	8,8±3 0,17	PQ			
26	V1 S1	8,75± 0,33	PQ			
27	V3 S1	8,73± 0,26	PQ			
28	V4 S1	8,52± 0,12	Q			
29	V10 S1	8,52 ± 0,16	Q			
30	V2 S2	8,52± 0,08	Q			



4.2.2 . Dosage immuno enzymatique :

Les résultats du test DAS-ELISA effectué sur les variétés d'orge de l'essai National 1 ont montré la présence du *BSMV* sur ces variétés. De 10 variétés testées, 9 ont réagi positivement au test avec des moyennes des DO qui varient entre 2.351 et 2.491 (tableau 4.6).

Tableau 4.6 : Résultats de la DAS-ELISA obtenus sur les variétés d'orge de l'essai National 1 de Oued Smar (campagne 2004/2005)

N ^o	Variété	D O	Observation
1	V1	2,402	+
2	V2	2,399	+
3	V3	2,342	+
4	V4	2,491	+
5	V5	2,393	+
6	V6	2,474	+
7	V7	2 ,451	+
8	V8	0,010	-
9	V9	2,372	+
10	V10	2,351	+
11	T ⁺	2,430	+
12	T ⁻	0,014	-

DO : Densité optique

T⁺ : Témoin positif

T⁻ : Témoin

4.2.3. Discussion :

Les symptômes observés sur les variétés d'orge de l'essai National 1 étaient au début des mosaïques ponctiformes sur toutes les variétés. Ces symptômes ont évolué au stade épiaison en mosaïques striées typiques du *BSMV* et qui ont entraîné le nanisme de certaines plantes attaquées et la stérilité des épis de ces plantes. Ce type de symptômes est décrit par CORNUET en 1959 [96], JACKSON et LANE en 1981 [12] et BRUNT et al en 1997 [18]. Pour cet essai on a remarqué que le *BSMV* était présent durant tous les stades phénologiques et s'est répliqué au cours du développement de la plante.

L'analyse de la variance des moyennes des taux d'infection a permis de classer les différents traitements en groupes homogènes et a révélé que l'infection des plants d'orge par le virus est moins importante au stade fin tallage qu'au stade montaison et épiaison.

Les réponses positives au test sérologique DAS- ELISA enregistrées ont expliqué la forte présence du virus dans ces variétés d'orge.

4.3. Essai orge National 2 de Oued Smar (campagne 2004/2005) :

4.3.1. Evaluation de la maladie de la mosaïque striée :

4.3.1.1. Symptômes observés lors des prospections :

Les variétés d'orge de l'essai National 2 de Oued Smar de la campagne 2004/2005 ont présenté à la fin tallage, des symptômes de tâches blanchâtres qui ont débuté de la base des feuilles et remonté progressivement vers les sommets. On a observé également une alternance des plages jaunes et marron sur les variétés V3, V5 et V6. A la montaison, ces symptômes étaient développés en stries marron. A l'épiaison, ces stries étaient plus longues et plus épaisses pour les variétés V8, V9 et V11 (figure 4.5). A ce stade, on a remarqué que les symptômes du *BSMV* étaient accompagnés par un jaunissement apical.



1



2

Figure 4.5 : 1. Témoin sain; 2. Symptômes de mosaïques en stries observés sur les feuilles de la variété V11 de l'essai d'orge National 2.

4.3.1.2. Analyse statistique :

Les pourcentages des taux d'infection calculés pour les variétés d'orge de l'essai National 1 de Oued Smar sont représentés dans le tableau 4.7

Tableau 4.7 : Taux d'infection calculés pour les variétés de l'essai National 2 de Oued Smar (campagne 2004/2005)

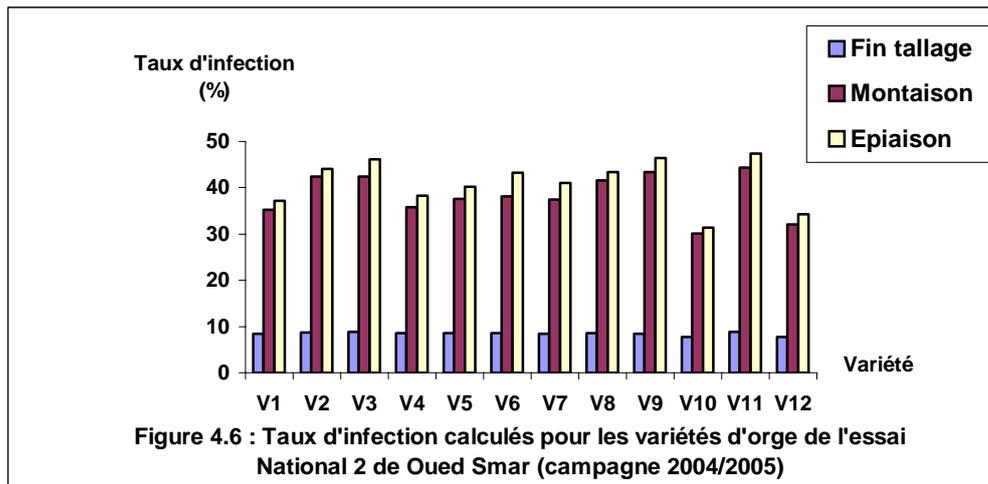
V \ SB	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
S1B1	8,3	8,5	8,9	8,5	8,7	8,7	8,3	8,6	8,3	7,8	8,9	7,7
S2B1	35	42,5	42,5	35,8	37,7	38	37,5	41,6	43,3	30,2	44,5	32
S3B1	37,1	44,2	46,2	38,2	40,3	43,1	41	43,4	46,5	31,4	47,4	34,2
S1B2	8,4	8,7	9	8,5	8,5	8,5	8,3	8,5	8,5	7,6	9	7,8
S2B2	35,1	42,3	42,3	35,6	37,5	38,2	37,3	41,7	43,2	30	44,3	32,1
S3B2	37	44,1	46,1	38,3	40,2	43,3	41	43,4	46,3	31,2	47,4	34,2
S1B3	8,5	8,9	8,8	8,5	8,7	8,7	8,5	8,5	8,5	7,6	8,9	7,7
S2B3	35,1	42,4	42,3	35,8	37,6	38,1	37,5	41,6	43,4	30,1	44,4	32,2
S3B3	37,2	44,1	46,2	38,3	40,3	43,2	41,1	43,3	46,5	31,3	47,3	34,4
S1B4	8,4	8,6	8,7	8,6	8,5	8,5	8,4	8,7	8,4	7,8	8,8	7,6
S2B4	35	42,4	42,4	35,7	37,5	38,2	37,4	41,5	43,4	30,3	44,3	32
S3B4	37,2	44,1	46,3	38,2	40,2	43,2	41,1	43,4	46,3	31,3	47,3	34,1

V : Variété S : Stade de développement B: Bloc

Les résultats de l'analyse statistique sont reportés dans le tableau 4.8 et illustrés par l'histogramme figure 4.6. L'analyse de la variance révèle que l'interaction variété stade de développement est très hautement significative (prob=0,0000) (annexe 3). Le test NEWMAN and KEULS, a permis de classer les différents traitements en groupes homogènes et a révélé le taux d'infection le plus faible pour les variétés V10 et V12 au stade fin tallage (S1) (7,70%) et le taux d'infection le plus élevé pour la variété V11 au stade épiaison (S3) (37,35).

Tableau 4.8 : Résultats de l'analyse statistique relatifs aux taux d'infection enregistrés pour les variétés d'orge de l'essai National 2 de Oued Smar

N=°	Traitement	M ± ET	G H	Prob	ET résiduel	CV %
1	V11 S3	47,35± 0,07	A	0,0000	0,10	0,3
2	V9 S3	46,40± 0,09	B			
3	V3 S3	46,20± 0,02	C			
4	V11 S2	44,38± 0,08	D			
5	V2 S3	44,10± 0,08	E			
6	V8 S3	43,40± 0,03	F			
7	V9 S2	43,32± 0,09	FG			
8	V6 S3	43,20± 0,10	G			
9	V2 S2	42,40± 0,07	H			
10	V3 S2	42,38± 0,09	H			
11	V8 S2	41,60± 0,09	I			
12	V7 S3	41,05± 0,06	J			
13	V5 S3	40,25± 0,03	K			
14	V4 S3	38,25±0,06	L			
15	V6 S2	38,13± 0,12	L			
16	V5 S2	37,57± 0,08	M			
17	V7 S2	37,43± 0,07	N			
18	V1 S3	37,43± 0,07	O			
19	V4 S2	35,72± 0,07	P			
20	V1 S2	35,17± 0,30	Q			
21	V12 S3	34,22± 0,11	R			
22	V12 S2	32,08± 0,09	S			
23	V10 S3	31,30± 0,07	T			
24	V10 S2	30,15± 0,13	U			
25	V11 S1	8,90± 0,09	V			
26	V3 S1	8,85± 0,13	V			
27	V2 S1	8,77± 0,13	V			
28	V6 S1	8,60± 0,09	W			
29	V5 S1	8,55± 0,09	W			
30	V8 S1	8,55± 0,11	W			
31	V4 S1	8,45± 0,06	WX			
32	V1 S1	8,42± 0,09	WX			
33	V9 S1	8,38± 0,10	WX			
34	V7 S1	7,70± 0,09	X			
35	V12 S1	7,70± 0,09	Y			
36	V10 S1	7,70± 0,12	Z			



4.3.2. Dosage immuno enzymatique :

La DAS- ELISA effectuée sur les 12 variétés d'orge de l'essai National 2 a montré que le *BSMV* était présent sur 10 variétés avec des moyennes de DO comprises entre 2.171 et 2.351 (tableau 4.9).

Tableau 4.9 : Résultats de la DAS-ELISA obtenus pour les variétés d'orge National 2

N=°	Variété	DO	Observation
1	V1	2,223	+
2	V2	2,271	+
3	V3	2,310	+
4	V4	2,192	+
5	V5	2,211	+
6	V6	2,253	+
7	V7	2,172	+
8	V8	2,322	+
9	V9	2,265	+
10	V10	0,011	-
11	V11	2,351	+
12	V12	0,011	-
13	T ⁺	2,430	+
14	T ⁻	0,014	-

DO : Densité optique

T⁺ : Témoin positif

T⁻ : Témoin négatif

4.3.3. Discussion :

Les prospections faites sur les variétés d'orge de l'essai National 2 ont permis d'observer des symptômes du *BSMV* sur toutes ces variétés. Ces symptômes étaient les mêmes observés par CORNUET en 1959 [96], JACKSON et LANE en 1981[12] et BRUNT et *al* en 1997[18]. Ce résultat confirme la présence du *BSMV* durant cette campagne d'étude. Les symptômes étaient très marqués au stade épiaison et ceci mène à déduire que l'infection des plantes d'orge par ce virus est très importante après la floraison [38]. Le symptôme de jaunissement apical est expliqué par la présence sur ces variétés d'un autre virus qui est le *BYDV*.

L'analyse statistique a révélé une interaction très hautement significative entre les variétés étudiées et les stades de développement. Les taux d'infection les plus faibles ont été enregistrés au stade fin tallage et les plus élevés au stade épiaison. Ce résultat mène à conclure que le stade épiaison et le stade le plus sensible à l'attaque du *BSMV*.

Les résultats de la DAS-ELISA obtenus ont confirmé les symptômes observés sur terrain et les valeurs de DO enregistrées ont montré la forte charge virale dans ces variétés testées.

4.4. Essai orge National 2 de Beni Slimene (campagne 2004/2005) :

4.4.1. Evaluation de la mosaïque striée de l'orge :

4.4.1.1. Symptômes observés lors des prospections :

Les symptômes observés sur les variétés d'orge de l'essai National 2 de Beni Slimene de la campagne 2004/2005 étaient à la fin tallage, des tâches blanchâtres sur l'ensemble des variétés. A la montaison, on a remarqué une évolution de la maladie sur les variétés V6, V8 et V11 où on a observé l'apparition de petites stries de couleur marron clair. A l'épiaison, les stries étaient devenues plus longues et plus foncées (figure 4.8).



Figure 4.7 : **1.** Témoin sain; **2.** Symptômes de stries marron sur les feuilles de la variété Rihane de l'essai d'orge National 2 de Beni Slimene

4.4.1.2. Analyse statistique :

Les résultats portant sur les taux d'infection enregistrés pour les variétés d'orge de l'essai National 2 de Beni Slimene sont donnés dans le tableau 4.10

Tableau 4.10 : Taux d'infection calculés pour les variétés d'orge de l'essai National 2 de Beni Slimene

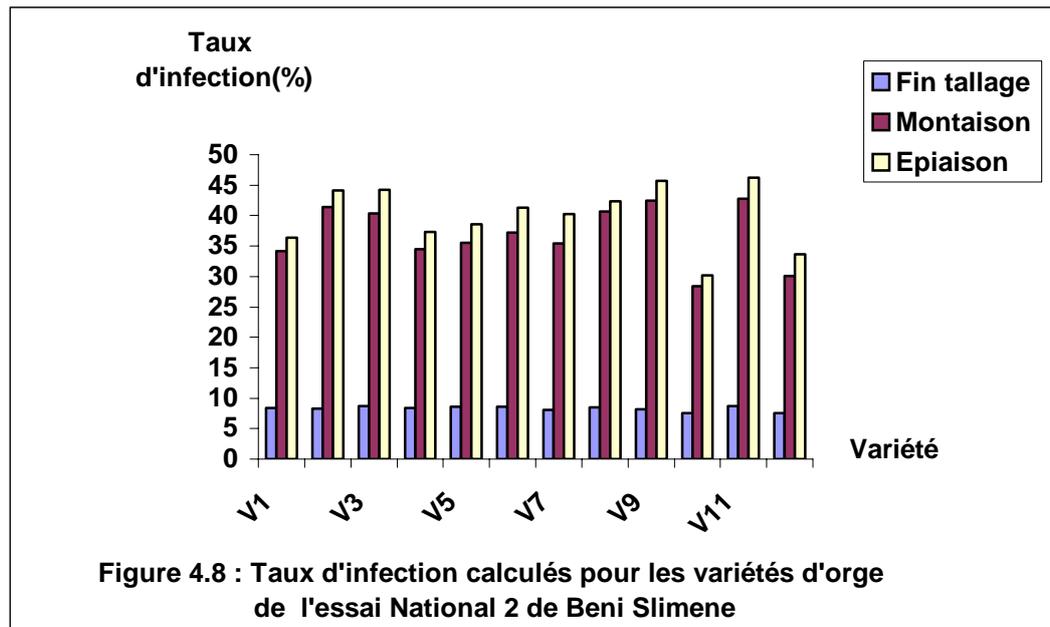
V \ SB	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
S1B1	8,3	8,2	8,6	8,3	8,5	8,6	8	8,4	8,1	7,5	8,6	7,5
S2B1	34	41,5	40,3	34,6	35,6	37,3	35,3	40,8	42,6	28,5	42,9	30
S3B1	36,3	44	44,3	37,4	38,7	41,5	40,2	42,5	45,8	30,2	46,1	33,6
S1B2	8,4	8,2	8,7	8,4	8,5	8,5	8,1	8,5	8,3	7,6	8,7	7,5
S2B2	34,2	41,3	40,5	34,4	35,5	37,2	35,3	40,6	42,4	28,5	42,7	30,1
S3B2	36,5	44,1	44,1	37,1	38,6	41,3	40,2	42,4	45,6	30,3	46,2	34,4
S1B3	8,5	8,3	8,6	8,4	8,7	8,7	8,2	8,5	8,1	7,6	8,7	7,6
S2B3	34,1	41,4	40,3	34,3	35,6	37,1	35,5	40,6	42,5	28,3	42,8	30,2
S3B3	36,2	44,3	44,2	37,3	38,6	41,2	40,3	42,3	45,6	30,1	46,3	33,4
S1B4	8,4	8,6	8,7	8,5	8,5	8,5	8	8,4	8,2	7,4	8,8	7,6
S2B4	34,3	41,3	40,5	34,7	35,4	37,2	35,4	40,7	42,4	28,3	42,7	30,1
S3B4	36,5	44,1	44,2	37,3	38,5	41,2	40,2	42,4	45,7	30,1	46,3	33,5

V : Variété S : Stade de développement B: Bloc

Les résultats de l'analyse statistiques correspondent aux taux d'infection calculés sont représentés par le tableau 4.11 et illustrés par l'histogramme figure 4.8. L'analyse statistique par le biais de l'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif de l'interaction variété x stade de développement (annexe 4). La valeur du taux d'infection la plus faible était enregistrée par la variété V10 au stade fin tallage (S1) (7,53%). La variété V11a montré au stade épiaison (S3) le taux d'infection le plus élevé (46,23%).

Tableau 4.11 : Résultats de l'analyse statistique relatifs aux taux d'infection enregistrés pour les variétés d'orge de l'essai National 2 de Beni Slimene

N=°	Traitement	M ± ET	G H	Prob	ET résiduel	CV %
1	V11 S3	46,23± 0,10	A	0,0000	0,13	0.5
2	V9 S3	45,67± 0,10	B			
3	V3 S3	44,20± 0,03	C			
4	V2 S3	44,13± 0,06	C			
5	V11 S2	42,78± 0,10	D			
6	V9 S2	42,47± 0,10	E			
7	V8 S3	42,40± 0,08	E			
8	V2 S2	41,38± 0,10	F			
9	V6 S3	41,30± 0,14	F			
10	V8 S2	40,67± 0,10	G			
11	V3 S2	40,40± 0,11	H			
12	V7 S3	40,22± 0,06	H			
13	V5 S3	38,60± 0,08	I			
14	V4 S3	37,28± 0,13	J			
15	V6 S2	37,20± 0,08	J			
16	V1 S3	36,3±8 0,06	K			
17	V5 S2	35,53 ±0,10	L			
18	V7 S2	35,38 ±0,10	L			
19	V 4 S2	34,50± 0,18	M			
20	V1 S2	34,15 ±0,12	N			
21	V12 S3	33,68 ±0,48	O			
22	V10 S3	30,17± 0,09	P			
23	V12 S2	30,10 ±0,08	P			
24	V10 S2	28,40 ±0,11	Q			
25	V11 S1	8,70 ±0,08	R			
26	V3 S3	8,65 ±0,05	RS			
27	V6 S1	8,57 ±0,09	RST			
28	V5 S1	8,55 ±0,11	RST			
29	V8 S1	8,45± 0,06	RST			
30	V1 S1	8,40± 0,08	STU			
31	V4 S1	8,40± 0,08	STU			
32	V2 S1	8,33± 0,19	TU			
33	V9 S1	8,18± 0,09	UV			
34	V7 S1	8,07 ±0,10	V			
35	V12 S1	7,55± 0,06	W			
36	V10 S1	7,53± 0,10	W			



4.4.2. Dosage immuno – enzymatique :

La DAS- ELISA réalisée sur les 12 variétés d'orge de l'essai National 2 de Beni Slimene a révélé la présence du *BSMV* sur 10 variétés. Les moyennes des DO enregistrées étaient entre 2,142 et 2,332 (tableau 4.12).

Tableau 4.12 : Résultats de la DAS-ELISA obtenus pour les variétés d'orge de

L'essai National 2 de Beni Slimene

N=°	Variété	DO	Observation
1	V1	2,171	+
2	V2	2,252	+
3	V3	2,291	+
4	V4	2,172	+
5	V5	2,201	+
6	V6	2,233	+
7	V7	2,142	+
8	V8	2,305	+
9	V9	2,252	+
10	V10	0,011	-
11	V11	2,332	+
12	V12	0,011	-
13	T ⁺	2,430	+
14	T ⁻	0,014	-

DO : Densité optique

T⁺ : Témoin positif

T⁻ : Témoin négatif

4.4.3. Discussion :

Les symptômes observés sur les variétés d'orge de l'essai National 2 de Beni Slimene étaient les symptômes du *BSMV* observés sur ces mêmes variétés à Oued Smar. Ces symptômes étaient identiques à ceux cités par CORNUET, 1959 [96] ; JACKSON et LANE, 1981[12] et BRUNT et *al*, 1997[18].

L'analyse de la variance des moyennes des taux d'infection a montré que l'interaction variété x stade de développement est très hautement significative. Les résultats obtenus ont permis de déduire que les symptômes du *BSMV* étaient importants au stade épiaison qu'au stade fin tallage.

Les réponses positives au test immuno-enzymatique DAS-ELISA enregistrées par les variétés d'orge de l'essai de Beni Slimene étaient identiques à celles enregistrées par ces mêmes variétés à Oued Smar. Ce résultat confirme que l'hôte principal du *BSMV* est l'orge où la présence du virus entraîne l'apparition des symptômes caractéristiques.

4.5. Essai blé dur de Oued Smar (Campagne 2004/2005) :

4.5.1. Evaluation de la maladie de la mosaïque striée :

4.5.1.1. Symptômes observés lors des prospections :

A la fin tallage, on a observé sur les variétés de blé dur de l'essai Oued Smar une alternance de couleur verte et jaune sur les feuilles des variétés prospectées. A la montaison, on remarqué un début de formation de petites stries de couleur marron clair sur les variétés V3, V5, V6, V7 et V10 et de couleur jaune sur les variétés V4, V1 et V8. Au stade épiaison, les stries étaient devenues plus longues et plus épaisses pour les variétés V5, V6, V7, V8 et V9. A ce stade, on a observé un jaunissement apical sur toutes les variétés de blé dur.

4.5.1.2. Analyse statistique :

Les valeurs des taux d'infection de la mosaïque striée obtenues pour les variétés de blé dur de l'essai de Oued Smar sont données dans le tableau 4.13.

Tableau 4.13 : Taux d'infection calculés pour les variétés de l'essai de blé dur de Oued Smar

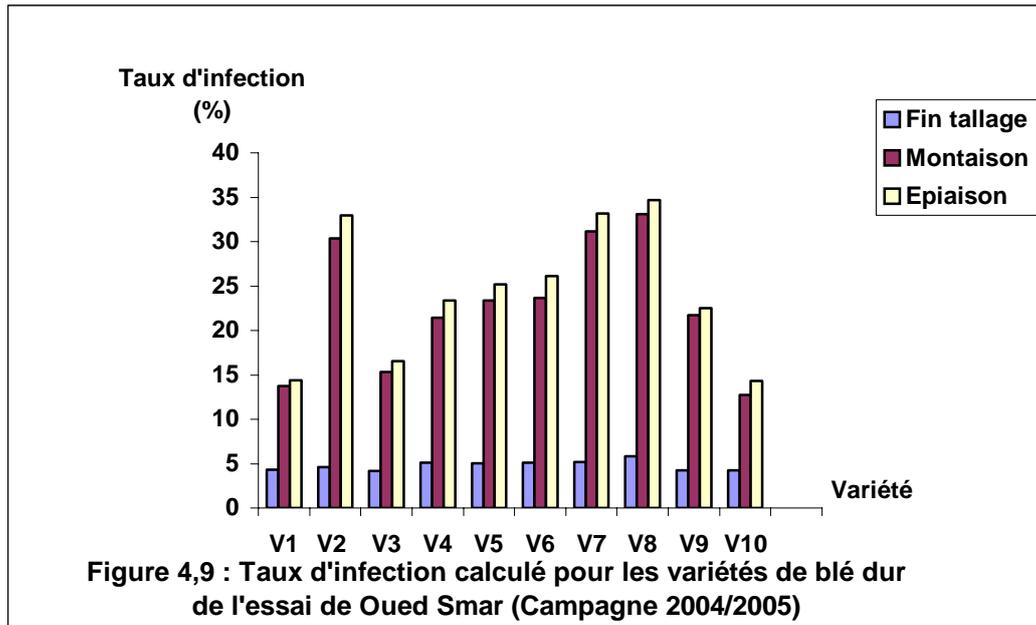
V \ SB	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10
S1B1	4,4	4,8	4,1	5,1	5	5,1	5,3	5,9	4,3	4,3
S2B1	13,9	30,4	15,2	21,6	23,5	23,7	31	33,1	21,9	12,8
S3B1	14,5	33,2	16,5	23,4	25	26,1	33,1	34,7	22,6	14,4
S1B2	4,3	4,5	4,1	5	5,1	5,2	5,2	5,7	4,4	4,2
S2B2	13,6	30,3	15,3	21,4	23,3	23,7	31,1	33	21,7	12,7
S3B2	14,3	33,2	16,6	23,3	25,1	26,2	33,3	34,6	22,5	14,3
S1B3	4,2	4,7	4,2	5,2	5	5	5,2	5,9	4,3	4,2
S2B3	13,8	30,4	15,4	21,4	23,4	23,6	31,2	33,2	21,8	12,7
S3B3	14,3	33,3	16,6	32,4	25,2	26	33,2	34,6	22,5	14,2
S1B4	4,4	4,5	4,2	5,1	5,2	5,2	5,1	5,8	4,2	4,2
S2B4	13,7	30,4	15,4	21,3	23,3	23,6	31,2	33,1	21,6	12,8
S3B4	14,4	33,2	16,5	23,3	25,3	26,2	33,2	34,7	22,4	14,4

V : Variété S : Stade de développement B: Bloc

Les résultats de l'analyse statistique des taux d'infection enregistrés pour les variétés de blé dur de l'essai de Oued Smar sont représentés dans le tableau 4.14 et illustrés par l'histogramme figure 4.9. Sur les 10 variétés testées, on a remarqué une différence entre les moyennes des différents traitements très hautement significative (prob= 0,0000) au seuil de 5% (annexe 6). L'analyse de la variance a montré que l'effet interaction entre les deux facteurs étudiés est significatif. Le test NEWMAN and KEULS a permis de classer les différents traitements en groupes homogènes et a révélé les taux d'infection les plus faibles chez les variétés V3, V10, V9 et V1 au stade fin tallage (S1) et les taux les plus élevés chez les variétés V8 et V7 au stade épiaison (S3).

Tableau 4.14 : Résultats de l'analyse statistique relatifs aux taux d'infection enregistrés
pour les variétés de blé dur de l'essai de Oued Smar

N=°	Traitement	M ± ET	G H	Prob	ET résiduel	CV %
1	V8 S3	34,68± 0,05	A	0,0000	0,13	8
2	V7 S3	33,20± 0,09	B			
3	V8 S2	33,10 ±0,07	BC			
4	V2 S3	32,97 ±0,03	C			
5	V7 S2	31,1±3 0,09	D			
6	V2 S2	30,38± 0,04	E			
7	V6 S3	26,13 ±0,11	F			
8	V5 S3	25,15± 0,13	G			
9	V6 S2	23,65 ±0,07	H			
10	V5 S2	23,38 ±0,09	I			
11	V4 S3	23,35± 0,05	I			
12	V9 S3	22,50 ±0,08	J			
13	V9 S2	21,75± 0,13	K			
14	V4 S2	21,42± 0,13	L			
15	V3 S3	1655± 0,06	M			
16	V3 S2	15,33 ±0,09	N			
17	V1 S3	14,38± 0,05	O			
18	V10 S3	14 ,33± 0,10	O			
19	V1 S2	13,75± 0,12	P			
20	V10 S2	12,75± 0,05	Q			
21	V8 S1	5,8±2 0,08	R			
22	V7 S1	5,2±0 0,08	S			
23	V6 S1	5,13± 0,11	S			
24	V4 S1	5,10± 0,07	S			
25	V5 S1	5,07 ±0,10	S			
26	V2 S1	4,63± 0,14	T			
27	V1 S1	5,33± 0,10	U			
28	V9 S1	4,28 ±0,06	U			
29	V10 S1	4,22± 0,05	U			
30	V3 S1	5,2±0 0,08	U			



4.5.2. Dosage immuno enzymatique :

Le test immuno- enzymatique DAS- ELISA a révélé la présence du *BSMV* sur 7 variétés de blé dur et les moyennes des DO enregistrées étaient entre 1,432 et 2,291 (tableau 4.15).

Tableau 4.15 : Résultats de la DAS-ELISA obtenus pour les variétés de blé dur de l'essai de Oued Smar

0N=°	Variété	DO	Observation
1	V1	0,010	-
2	V2	1,432	+
3	V3	0,010	-
4	V4	1,702	+
5	V5	1,773	+
6	V6	1,985	+
7	V7	2,012	+
8	V8	2,151	+
9	V9	2,291	+
10	V10	0,010	-
11	V11	2,430	+
12	V12	0,014	-

DO : Densité optique

T⁺ : Témoin positif

T⁻ : Témoin négatif

4.5.3. Discussion :

Les symptômes observés sur les variétés de blé dur de l'essai de Oued Smar semblent être les symptômes induits par le *BSMV*, car ils étaient caractérisés par le développement des stries jaunâtre et marron.

L'analyse statistique a révélé une différence très hautement significative entre les facteurs étudiés (variété et stade de développement) (annexe 7). Les résultats de cette analyse ont montré que les symptômes du *BSMV* sur le blé dur étaient très marqués au stade épiaison et modérés au stade fin tallage.

Le résultat de la DAS-ELISA obtenu pour ces variétés a confirmé les symptômes observés sur terrain. Ce résultat mène à conclure que l'infection du blé par ce virus peut se faire [34].

4.6. Etude épidémiologique :

4.6.1. Symptômes observés :

L'observation des symptômes sur les deux variétés (Rihane et V6 : S25433) a débuté au stade fin tallage, où on remarqué la présence sur les feuilles de ces variétés de petites tâches blanchâtres qui ont débuté de la base et ensuite propagé sur toute la surface foliaire. A la montaison, ces tâches étaient devenues de couleur marron plus ou moins foncée. Par la suite, il y'avait une formation de petites stries marron qui ont remonté progressivement tout le long du limbe. A l'épiaison, la maladie était très marquée avec la présence sur les feuilles malades des deux variétés de longues stries de couleur marron foncé. Sur la variété Rihane, les stries ont atteint les sommets des feuilles. Certaines plantes étaient naines et elles ont présenté des épis vides.

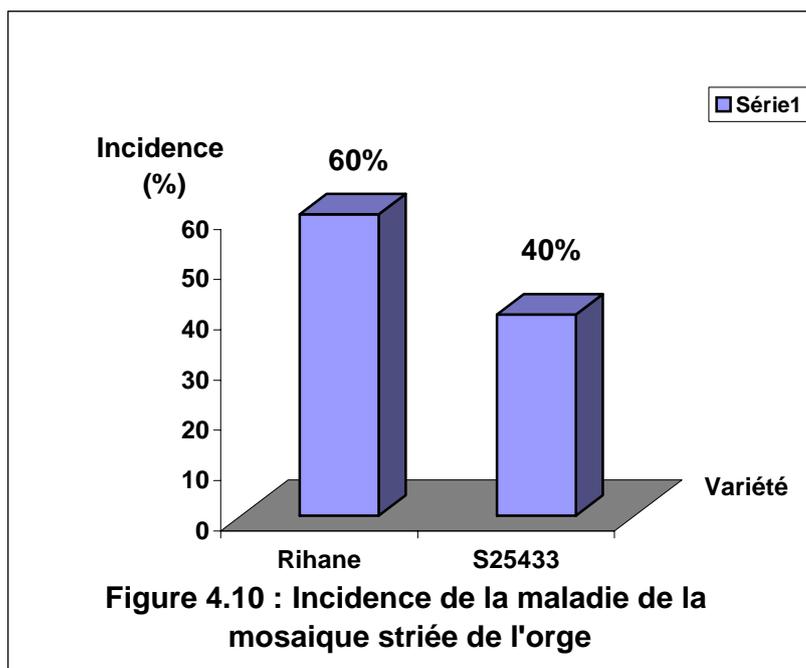
4.6.2. Dosage immuno-enzymatique :

Le test sérologique DAS-ELISA effectué sur les échantillons issus de l'étude épidémiologique a révélé la présence de la mosaïque striée sur les deux variétés étudiées. De 184 échantillons testés de la variété Rihane, 111 ont répondu positivement au test sérologique et sur 157 échantillons testés de la variété V6 : S25433, 64 étaient positifs

Tableau 4.16. L'incidence de la maladie (I) calculée pour chaque variété était 60% pour la variété Rihane et 40% pour la variété V6 : S25433 (figure 4.10).

Tableau 4.16 : Résultats de la DAS-ELISA obtenus après l'étude épidémiologique

Variété Semaine de végétation	Rihane			V6 : S25433		
	Nbr de plantes prélevées	Nbr de plantes testées	Nbr de plantes positives	Nbr de plantes prélevées	Nbr de plantes testées	Nbr de plantes positives
S1	50	17	08	50	25	10
S2	50	20	10	50	30	12
S3	50	23	14	50	15	06
S4	50	26	17	50	19	08
S5	50	34	25	50	10	03
S6	50	40	30	50	24	11
S7	50	24	07	50	34	14
Total	350	184	111	350	157	64



4.6.3. Discussion :

L'étude épidémiologique a permis le suivi de l'évolution de la mosaïque striée sur les deux variétés d'orge (Rihane et V6 : S25433). Les symptômes observés étaient des tâches blanchâtres au stade fin tallage, développées en stries marron au stade épiaison. Ces symptômes sont semblables à ceux décrits par CORNUET 1959 [96]; JACKSON ET LANE 1982 [12] ; BRUNT *et al*, 1997 [18].

La variété V6 : S25433, s'est montrée sensible au *BSMV* avec une incidence de 40% par rapport à la variété Rihane qui s'est distinguée par une incidence plus élevée (60%).

4.7. Test de transmission biologique :

4.7.1. Test de transmission par semence :

Le test sérologique effectué sur les semences des 15 variétés d'orge de l'essai de Oued Smar (campagne 2003/2004) était positif pour l'ensemble des graines testées. Les valeurs des moyennes des DO enregistrées étaient entre 0,124 et 0,184. (tableau 4.17).

Tableau 4.17 : Résultats de la DAS-ELISA obtenus après le test de transmission par semence

N ^o	Variété	DO	Observation
1	V1	0,124	+
2	V2	0,155	+
3	V3	0,128	+
4	V4	0,156	+
5	V5	0,135	+
6	V6	0,184	+
7	V7	0,182	+
8	V8	0,151	+
9	V9	0,153	+
10	V10	0,129	+
11	V11	0,136	+
12	V12	0,135	+
13	V13	0,131	+
14	V14	0,132	+
15	V15	0,139	+
16	T ⁺	2,400	+
17	T ⁻	0,014	-

DO : Densité optique

T⁺ : Témoin positif

T⁻ : Témoin négatif

*Discussion :

Les réponses positives enregistrées pour les 15 variétés testées ont confirmé la présence du *BSMV* dans la semence. Bien que les variétés V3, V4, V5, V9, V11, V12, V13 et V14 n'ont pas réagi lors du premier test effectué sur les échantillons issus des prospections du terrain, ces mêmes variétés ont réagi au test sérologique effectué sur les semences issues de ces variétés ce qui mène à dire que le virus était présent dans ces variétés mais avec une charge en particules virales faibles.

4.7.2. Test d'inoculation mécanique :

Les symptômes observés après inoculation mécanique du *BSMV* étaient de type mosaïques systémiques sur les deux variétés d'orge (Rihane et V11 : S21487). Ces mosaïques étaient développées par la suite en petites stries de couleur marron clair. La variété Marmande a montré des symptômes de lésions locales.

Le test sérologique effectué sur les 19 échantillons de chaque variété a révélé la présence du *BSMV* sur 6 échantillons de la tomate. Le témoin sain utilisé pour la variété Marmande n'a pas réagi au test. Les échantillons des deux variétés d'orge ont réagi positivement à la DAS- ELISA avec des moyennes de DO entre 2,266 et 2,512 pour la variété V11 : S21487 et entre 2,351 et 2,475 pour la variété Rihane (tableau 4.18).

Tableau 4.18 : Résultats de la DAS-ELISA sur échantillons issus de l'inoculation mécanique

E \ V	Marmande		S21487		Rihane	
	DO	Observation	DO	Observation	DO	Observation
1	0,011	-	2,458	++	2,471	++
2	0,011	-	2,470	+	2,475	++
3	2,161	+	2,460	++	2,351	+
4	2,300	+	2,420	+	2,431	+
5	0,011	-	2,415	+	2,442	+
6	2,136	+	2,391	+	2,414	+
7	0,012	-	2,421	+	2,392	+
8	2,230	+	2,382	+	2,395	+
9	0,011	-	2,411	+	2,400	+
10	0,011	-	2,412	+	2,421	+
11	0,011	-	2,397	+	2,465	++
12	0,011	-	2,425	+	2,410	+
13	2,322	+	2,266	+	2,380	+
14	0,011	-	2,391	+	3,393	+
15	0,011	-	2,512	++	2,435	+
16	2,110	+	2,431	+	2,441	+
17	0,011	-	2,382	+	2,412	+
18	0,011	-	2,412	+	2,415	+
19	0,011	-	2,377	+	2,392	+
TS	0,011	-				
T ⁺	2,450	+	2,450	+	2,450	+
T ⁻	0,015	-	0,015	-	0,015	-

DO : Densité optique T⁺ : Témoin positif T⁻ : Témoin négatif TS : Témoin Sain

++ : DO échantillon > DO Témoin Positif V : Variété E : Echantillon

* Discussion :

Les symptômes observés après l'inoculation mécanique du *BSMV* sur les deux variétés d'orge étaient des réactions spécifiques par extériorisation de symptômes caractéristiques, notamment des striés marron. Ce type de symptômes est cité par VAN REGENMORTEL en 1986 [35]. La variété Marmande a réagit au test de l'inoculation par le développement des symptômes de type lésions locales et nécrotiques et qui le résultat de l'arrêt de l'infection virale suite à une réaction d'hypersensibilité des plantes inoculées [35]. Certains échantillons des deux variétés d'orge ont montré des valeurs de DO supérieures à celle du contrôle positif ce qui confirme la transmission mécanique du *BSMV* à travers les plants d'orge.

CONCLUSION

L'étude menée sur le *BSMV* dans les deux stations expérimentales de l'ITGC (Oued Smar et Beni Slimene) a permis de détecter la présence de ce virus sur orge et blé dur.

Les prospections faites sur l'orge des deux campagnes (2003/2004 et 2004/2005) ont montré des symptômes typiques du virus sur plusieurs variétés des deux stations y compris les variétés nouvelles. Ces symptômes étaient plus fréquents pour la campagne 2004/2005. Le blé dur a aussi montré des symptômes caractéristiques de la maladie de la mosaïque striée. Durant ces prospections on a remarqué que les symptômes du *BSMV* étaient modérés au stade fin tallage et sévères entre le stade montaison et épiaison. Les résultats de la DAS-ELISA ont confirmé les symptômes observés. Ces résultats ont montré que les variétés nouvelles étaient infectées par le virus.

Par la suite, l'étude épidémiologique effectuée à la station expérimentale de l'Institut d'Agronomie de Blida a permis le suivi de l'évolution de la maladie en fonction des stades de développement de la plante.

Enfin, l'analyse sérologique du test de transmission biologique (transmission par la semence et inoculation mécanique) a confirmé la transmission mécanique de ce virus et sa présence dans la semence.

Notre travail, s'inscrit dans la logique d'une meilleure connaissance du *BSMV* et les résultats obtenus ont montré que le virus qui est détecté précédemment en Algérie sur les variétés locales est présent sur les nouvelles variétés.

De part les informations intéressantes déduites, notre étude mérite d'être poursuivie par d'autres travaux plus poussés qui incluraient :

- L'élargissement des prospections à toutes les zones céréalières à fin de détecter le *BSMV*.

- La recherche et l'étude de ce virus dans les nouvelles variétés.

- L'étude épidémiologique de la maladie pour mieux comprendre l'évolution des symptômes et déterminer les stades les plus sensibles à l'infection.

- Des études approfondies impliquant les techniques moléculaires pour mieux apprécier le taux et les mécanismes de la transmission par la semence.

Enfin et à titre préventif, il faut penser à mettre en place des méthodes de lutte qui pourraient diminuer l'incidence de la maladie telles que :

- le contrôle rigoureux des lots de semences importés.

- l'adaptation d'un programme de certification de tous les champs céréaliers et si c'est possible de tous les lots de semences utilisés pour la production des céréales notamment l'orge et le blé.

- Et l'utilisation des variétés résistantes à la maladie sous nos conditions.

ANNEXES

Annexe 1 : Tampon de broyage 1x20 (référence 51804)

Tampon de broyage standard, utilisé pour la majorité des réactifs des gammes maraîchage, grandes cultures, arboriculture et horticulture

NaCl :	8g
Na ₂ HPO ₄ :	2,9g
KCl:	0,2g
KH ₂ PO ₄ :	0,2g
Tween 20:	0,5ml
NaN ₃ :	0,2g
Polyvynilpyrrolidone:(PVP-PM:40.000)	10g
qsp eau distillée 1 litre	
PHx20=6,4	
PHx1= 7,4	

Annexe 2 : Tampon de lavagex20 (référence 51803) :

NaCl :	8g
Na ₂ HPO ₄ :	2,9g
KCl:	0,2g
KH ₂ PO ₄ :	0,2g
Tween 20:	0,5ml
NaN ₃ :	0,2g
qsp eau distillée 1 litre	
PHx20=6,4	
PHx1= 7,4	

Annexe 3 : Solution tampon phosphate 0,1M pH7,4 :

Solution A : 0,05M

Phosphate dis sodique (Na ₂ PO ₄)	3,750g
Eau distillé	1000ml

Solution B : 0,05M

Phosphate mono potassique (KH ₂ PO ₄)	1,425g
Eau distillé	1000ml

Solution finale :

Solution A :	143ml
Solution B	57ml
Eau distillé	800ml

Annexe 4 : Tableau d'analyse de la variance des taux d'infection des variétés de
l'essai d'orge de Oued Smar (campagne 2003/2004)

Variable	SCE	ddl	CM	Test F	Prob	ET	CV
Var.totale	12857.41	179	71.83			0.25	1.5%
Var. F1	2540.74	14	181.48	3017.65	0.0000		
Var. F2	9437.95	2	4718.97	78466.52	0.0000		
Var.F1. F2	869.81	28	31.06	616.54	0.0000		
Var. Bloc	0.97	3	0.32	5.39	0.0017		
Var. Résiduelle	7.94	132	0.06				

Annexe 5 : Tableau d'analyse de la variance des taux d'infection des variétés
de l'essai d'orge National 1 de Oued Smar.

Variable	SCE	ddl	CM	Test F	Prob	ET	CV
Var.totale	30239.17	179	254.11			0.15	0.5%
Var. F1	1073.74	14	119.30	4975.92	0.0000		
Var. F2	28653.21	2	14326.60	597532.06	0.0000		
Var.F1. F2	509.83	28	28.32	1181.34	0.0000		
Var. Bloc	0.31	3	0.10	4.26	0.0075		
Var. Résiduelle	2.09	132	0.02				

Annexe 6 : Tableau d'analyse de la variance des taux d'infection des variétés
de l'essai National 2 Oued Smar (campagne 2004/2005)

Variable	SCE	ddl	CM	Test F	Prob	ET	CV
Var.totale	33485.21	143	234.16			0.10	0.3%
Var. F1	1435.30	11	130.48	12571.12	0.0000		
Var. F2	31440.90	2	15720.45	1514572.25	0.0000		
Var.F1. F2	607.84	22	27.63	2661.91	0.0000		
Var. Bloc	0.08	3	0.03	2.63	0.0528		
Var. Résiduelle	1.09	105	0.01				

Annexe 7 : Tableau d'analyse de la variance des taux d'infection des variétés
de l'essai d'orge National 2 de Beni Slimene (campagne 2004/2005)

Variable	SCE	ddl	CM	Test F	Prob	ET	CV
Var.totale	31479.23	143	220.13			0.13	0.5%
Var. F1	1457.85	11	132.53	7579.67	0.0000		
Var. F2	29388.99	2	14694.49	84.0399.94	0.0000		
Var.F1. F2	630.55	22	28.66	1639.18	0.0000		
Var. Bloc	0.02	3	0.01	0.30	0.0829		
Var. Résiduelle	1.84	105	0.02				

Annexe 8 : Tableau d'analyse de la variance du taux d'infection des variétés
de l'essai de blé dur de Oued Smar (campagne 2004/2005)

Variable	SCE	ddl	CM	Test F	Prob	ET	CV
Var.totale	13404.41	119	112.64			0.13	0.8%
Var. F1	2827.67	9	314.19	18046.52	0.0000		
Var. F2	9378.76	2	4689.38	269353.69	0.0000		
Var.F1. F2	1196.45	18	66.47	3817.93	0.0000		
Var. Bloc	0.02	3	0.01	0.30	0.8279		
Var. Résiduelle	1.51	87	0.02				

REFERENCES

1. Semal, J., "Traité de pathologie végétale", Press, Gembloux, (1989), 661p
2. Harison, B.D., "Plant Virus Ecology : ingrédients, interactions and environmental influences", Ann, Appl, Biol, V.5, n° 99, (1981), 195-209
3. Cornuet, P., "Maladies des plantes cultivées et méthodes de lutte", INRA, Paris, (1987) ,206p
4. Zillensky, F.G., "Maladies communes des céréales à pailles", Centre international de l'amélioration du maïs et du blé ,Mexico, (1984), 140p
5. Brunt, A.A., "Tomato Mosaic Virus plant viruses2", Plenum press, New York, (1988), 281-304
6. Carridi, C., Gallitelli, D., Voulas, C., Motasser, M., Kaper, J.M., Pigionia, V., Martelli, G.P., "Primi risultati sulla protezione delle colture di pomodoro dalle infozioni del virus del mosaico del cetriolo", Info, Tore,Agr, V.30, n° 46, (1989), 69-74
7. Lecoq, H., Piquemal J.P. ; Michel, M. et Blancard, D., "Virus de la mosaïque de la courge", P.H.M, Revue Horticole, V.7, n°41, (1988), 289-290
8. Laffont, J.M., "les maladies des céréales et du maïs", CBA, Geigy, Agri, Nathan, (1985), 96p
9. Bunett, A.P., "Situation report in BYDV, proceedings of workshop", International centre of maize, Mexico, (1984), 171-203

10. Benmokhtar, K. et Kari, M., "Contribution à l'étude des virus des céréales, caractérisation biologique des virus de la mosaïque du blé et de l'orge : *WSMV*, *WSSMV* et *BSMV*", Th, Ing, INA, El Harrach, (1999), 55p
11. Boubetra, S. et Mohamedi, F., "Contribution à l'étude des virus affectant les céréales à paille au niveau de la région centre de l'Algérie. Identification sérologique et biologique de quelques isolats", Th, Ing, Agro, INA, El Harrach, (1998), 55p
12. Jackson, A.O. and Lane, C., "*Hordeivirus*, comparative diagnosis, Handbook of plant virus Infections", Kurstak.E, North Holland, (1981), 566-625
13. Carrol, J.E., Gray, S.M. and Bergstrom, G.C., "Dynamics of *Wheat Spindle Streak Mosaic*, Bymovirus in winter wheat", Euro, J, Plant, Patholo, V.103, n° 3, (1997), 35-48
14. Weise, M.V., "Compendium of wheat diseases", APS, (1988), 122p
15. Slykhuis, I.T., "*Wheat Spindle Mosaic Virus*, Descriptions of plant viruses", CMI/AAB, V.10, n° 167, (1976), 12-14
16. Bays, D.C., Cunfer, B.M. and Denski, J.W., "Occurrence of *Wheat Spindle Streak Mosaic Virus* on winter wheat in Georgia", Plant, Dis, V.69, n°12, (1985), 1094-1096
17. Slykhuis, J.T., "*Poa Semi Latent Virus* from native grasses", Phytopathol, V.8, n° 62, (1972), 508-513
18. Brunt, A.A., Gabtrec, K., Dallwitz, M.G., Gibbs, A. and Watson, L., "Plant viruses, Description and lists from the vide database", CAB, International, (1997), 1484p
19. Fierd, W. and Orden, F., "Breeding of resistance to *Bymovirus* in *Poaceae* with special consideration for the *Barley Yellow Mosaic Virus*", Complex, Agronomie, V.15, n° 7/8, (1995), 453-458

20. Smith, K.N., "A textbook of plant virus diseases", Longman Group, (1972), 71-75
21. Miller, N.R., Bergstrom, G.C. and Sorrells, M.E., "Effect of *Wheat Spindle Streak Mosaic Virus* on yield of winter wheat in New York", *phytopatol*, V.2, n° 82, (1992), 852- 857
22. Shukla, D.D., Ward, C.W. and Brunt, A.A., "The Potyviridae", CAB. International, (1994), 516 p
23. Katri, B., "Comparison of four viruses isolates of *Wheat Streak Mosaic Virus* from Turkey", *Phytopathol. Mediter*, V.6, n° 12, (1973), 67-71
24. Christian, M.L. and Willis, W.G., "Survival of Wheat Mosaic Virus in grass host in Kansas from harvest to all wheat emergence", *Plant, Dis*, V.77, n° 3, (1993), 239-242
25. Makkouk, K.M et Kumari, S.G., "Natural occurrence of *Wheat Streak Mosaic Virus* on wheat in Syria", *Rachis*, V.16, n° 1/2, (1997), 74-76
26. Brakke, M.K., "*Wheat Streak Mosaic Virus*, Description of plant viruses", *CMM/AAB*, V.3, n° 77, (1971), 23-32
27. Hynger, R.M., Sherwood, J.L., Evans, C.K. and Montana, J.K., "Effect of planting date and inoculation date on severity of *Wheat Streak Mosaic Virus* in hard red cultivar", *Plant, Dis*, V.76, n° 10, (1992), 1056-1060
28. Lommel, S.A., Willis, W.G. and Kendall, T.C., "Identification of *Wheat Spindle Streak Mosaic Virus* and its role in a new disease for winter wheat in Kansas", *Plant, Dis*, V.70, n° 10, (1986), 964-968
29. Siefers, D.L., Martin, T.G., Harvey, T.L. and Gill, B.S., "Temperature sensibility and efficacy of *Wheat Streak Mosaic Virus* resistance derived from aropyron intermedium", *Plant, Dis*, V.79, n° 11, (1995), 1104-1106

30. Inoye, T., "Studies on Barley Stripe Mosaic in Japan", Inst, Landw, Bio, Univ, Ohara, V.11, n° 11, (1962), 431-496
31. Guido-Herrera, M., Elmundo-Beratto, M., Orlando-Andrate. and Monica- Modariaga, V., "Identification of *Barley Stripe Mosaic Virus* on barley in Chili, Agriculture technique", Chilli, V.61, n° 3, (July- September 2001), 275-280
32. Slark, S.M. and Shepherd, R.G., "Serological detection of seed-borne *Barley Stripe Mosaic Virus* by a simplified radial diffusion technique", Phytopatol, V.5, n° 65, (1975), 948-955
33. Novicov, V.K. and Atrabecov, J.G., "A study of the mechanisms controlling the host rang of plant viruses.I. Virus-specific receptors of *Chenopodium amaranticolor*, Virology", V.13, n° 41, (1970), 98-101
34. Horgborg, W.A.F., "Dwarfing of wheat and barley by the *Barley Stripe Mosaic (false stripe) Virus*", Can, J, Bot, V.5, n° 32, (1954), 24-37
35. Van Regenmortel, M.H.V. and Freankel-Cornat,H., "The plant viruses. The rod-shaped plant viruses", IMCB, Strasbourg, (1986), 422p
36. Timian, R.G., "*Barley Stripe Mosaic Virus* in North Dakota", Agric, Exp, Stn, V.2, n° 28, (1971), 3-6
37. Mc Kinney, H.H. and Greeley, L.W., "Biological characteristics of *Barley Stripe Mosaic Virus* strains and their evolution", Agric, Tech, Bull, V.11, n°1324, (1965),112-122
38. Yu, S.G., Wang, M.G., Chen, Z.Y. and Zang, R.P., "Studies on seed borne virus diseases of barley and wheat, occurrence of *Barley Stripe Mosaic Virus* in China", J, ACTA, V.8, n° 19, (1980), 373-379

39. Medjahed, K., "Inventaire des virus transmis par semences", The, Ing, Agro, Blida, (2002), 67p
40. Horabi, M.M., "Les maladies d'orge et de blé", Inst, Agro, Tunisie, (1982), 116-118
41. Carroll, T.W., "Relation of *Barley Stripe Mosaic Virus* to plastids", virology, V.6, n° 42, (1970), 1015-1022
42. Shalla, T.A., "Electron microscopy of cells infected with *Barley Stripe Mosaic Virus* as a result of mechanical and seed transmission viruses of plants", Beemester and Dijkstra, North Holland, Amsterdam, (1966), 94-97
43. Garder, W.S., "Electron microscopy of *Barley Stripe Mosaic Virus*, comparative cytology of tissues infected during different stages of maturity", phytopathol, V.2, n° 59, (1969), 1315-1326
44. Pring, D.R. and Timian, R.G., "Physiological effects of *Barley Stripe Mosaic Virus* in Infection", phytopathol, V.12, n° 57, (1967), 1381-1368
45. Maurin, J., "Guide pratique de défense des cultures. Reconnaissance des ennemies, notions de protection de culture", ACTA, (1999), 575p
46. Gibbs, A.G., Kassanis, B., Nixon, H.L. and Woods, R.D., "The relationship between *Barley Stripe Mosaic* and *Lychnis Ring Spot* Viruses", Virology, V.8, n° 20, (1963), 194- 198
47. Lane, L.C., "Components of *Barley Stripe Mosaic Virus* and related viruses", Virology, V.2, n° 58, (1974), 223-233
48. Gustafson, G.N., Milner, J.J., Mcfarland, G.E., Pederses, k., Larkins, B.A. and Jackson, A.O., "Investigation of the complexity of *Barley Stripe Mosaic Virus* RNAs with recombinant DNA clones", virology, V.9, n° 120, (1982), 182-139

49. Jackson, A.O. and Brakke, M.K., "Multicomponent properties of *Barley Stripe Mosaic Virus* ribonucleic acid", *Virology*, V.5, n°55, (1973), 483p
50. Dolja, V.V., Sokolova, N.A., Tjulkina, L.G. and Atrabecov, T.C., "A study of *Barley Stripe Mosaic Virus* genome. II. Translation of individual RNA species of two *BSMV* strains in a homologous cell-free-system", *Mol, Gen, Gene*, V.2, n° 175, (1979), 93p
51. Dolja, V.V., Lunina, N.A., Smirnov, V.D., Karpov, V.A., Chudiakov, Y.V., Bayev, A.A. and Atrabecov, I.G., "Location of genes in polycistronic RNAm by oligonucleotide probing as exemplified with *Barley Stripe Mosaic Virus* coat protein gene", *Dokl, Akad, Nauk, Russe*, V.5, n° 265, (1982), 474p
52. Dolja, V.V., Lunina, N.A., Leiser, R.M., Stanarius, T., Belzhelarskaya, S.N., Kozlov, Y.V. and Atrabecov, J.G., "A comparative study on the in vitro translation products of individual RNAs from two, three and four component strains of *Barley Stripe Mosaic Virus*", *virology*, V.2, n° 127, (1983b), 110p
53. Carrol, T.W., "Barley Stripe Mosaic Virus in sperm and vegetative cells of barley pollen", *virology*, V.11, n.60, (1974), 21p
54. Spargue, G.F., McKinney, H.H. and Greely, L.W., "Virus as a mutagenic agent in maize", *Science*, V.2, n° 141, (1963), 1052p
55. Sprague, G.F. and McKinney, H.H., "Aberrant ratio, an anomaly in maize associated with virus infection", *Gene*, V.4, n° 54, (1966), 1287p
56. Sprague, G.F. and McKinney, H.H., "Further evidence on the genetic behaviour of AR in maize", *Gene*, V.3, n° 67, (1971), 533p
57. Harison, B.D, Nixon, H.L. and Woods, R.D., "Lengths and structure of particles of *Barley Stripe Mosaic Virus*", *Virology*, V.8, n° 26, (1965), 284p
58. Gumphet, D.J and Hamilton, R.I., "Isolation and Characterization of *Barley Stripe Mosaic Virus* protein", *Virology*, V.35, n°20, (1968), 87p

59. Dolja, V.V., Agranovsky, A.A., Lunina, A.A. and Atrabecov, J.G., "Short virion RNA in *Barley Stripe Mosaic Virus*", Febs, Lett, n° 151, (1983a), 215p
60. Kiselev, N.A., Atrabecov, J.G., Kaftanova, A.S. and Novicov, V.K., "study of virus on the re-aggregation of the protein of *Barley Stripe Mosaic Virus*", J, Mol, Biol, V.3, n°39, (1969), 673p
61. Atrabecov, J.G., Scharkolskaya, N.D, Dementyera, S.P., Sacharovskaya, G.N. and Senchenkov, E.P., "Serological study on *Barley Stripe Mosaic Virus* protein polymerisation -I-immunodiffusion, immunoelectrophoretic characteristics and absorption experiments", Virology, V.1, n° 36, (1968b), 587p
62. Negkuk, V.I., Worikov, V.K. and Atrabecov, J.G., "translation of *Barley Stripe Mosaic Virus* RNA in cell-free system from Wheat germs", Dokl, Acad,Wank, Russe, (1974), 218-489
63. Partridge, J.E., Shannon, L.M., Gumpf D.J and Colbough, P., "Gylco- protein in the capsid of plant viruses as a possible determinant of seed transmissibility", Nature, V.5, n° 247, London, (1974), 391p
64. Gumpf, D.J., Gunningham, D.S., Heick, J.K. and Shannon, L.M., "Amino acid sequence in the proteolytic glycopeptides of *Barley Stripe Mosaic Virus*", Virology, V.6, n° 78, (1977), 328p
65. Atrabecov, J.V and Norikov, V.K., "Some properties of nucleoprotein of *Barley Stripe Mosaic Virus*, and its structural components", Biokhimiya, V.1, n° 31, (1966), 157p
66. Novicov, G.J .and. Novicov, V.K., *Barley Stripe Mosaic Virus*, "Descriptions of plant Virus", CMI/AAB, V.8, n° 68, (1971)
67. McKinney, H.H., "Evidence on virus diseases in barley", Plant Dis, Rep, V.5, n°37, (1953), 292p

68. Gold, A.H., Suneson, C.A., Houston, B.R. and Oswald, J.W., “Electron microscopy and seed and pollen transmission of rod- shaped particles associated with the false stripe virus disease of barley”, *Phytopathol*, V.3, n° 44, (1954), 115-117

69. Singh, G.p., Army, D.C. and Pound, G.S., “Studies on the stripe mosaic of barley including effects of temperature and age of host on disease development and seed infection”, *Phytopathol*, V.3, n° 50, (1960), 290-296

70. Carroll, T.W. and Mathews, D.E., “Anther and pollen infection in relation to the pollen and seed transmissibility of two strains of *Barley Stripe Mosaic Virus* in barley”, *CA, J, Bot*, V.9, n° 54, (1976a), 2497-2512

71. Slarck, S.A. and Shepherd, R.I., “Serological detection of seed borne *Barley Stripe Mosaic Virus* by simplified radial diffusion techniques”, *Phytopathol*, V.1, n° 65, (1975), 948-955

72. Timian, R.G., “*Barley Stripe Mosaic Virus*, seed transmission and barley yield as influenced by time of infection”, *Phytopathol*, V.4, n° 57, (1967), 1375-1377

73. Carroll, T.W., “*Barley Stripe Mosaic Virus* in sperm and vegetative cells of barley pollen”, *Virology*, V.1, n° 60, (1974), 21-28

74. Mathews, D.E. and Carroll, T.W., “*Barley Stripe Mosaic Virus* in the egg sac of infected barley”, *Virology*, V.1, n° 58, (1974b), 561-567

75. Meyer, M., Les viroses de l’orge, “*Phytoma, Défense des végétaux*”, *Phytoma*, V.2, n° 441, (1989), 31- 35

76. Costa, C., “Virus de la mosaïque de la pastèque : Etude de la variabilité du virus et épidémiologie moléculaire”, The, EPHF, INRA, (2003), 60p

77. Bennett, C.W., "Seed transmission of plant viruses", *Adv, Virus, Res*, V.9, n° 14, (1969), 221-261
78. Carroll, T.W., Gossel, P.L. and Batchelor, D.L., "Use of sodium dodecyl- sulphate in serodiagnosis of *Barley Stripe Mosaic Virus* in embryos and leaves", *Phytopathol*, V.1, n° 69, (1979a), 12-14
79. Brlansky, R.H. and Derrick, K.S., "Detection of seed borne plant viruses using serologically specific electron microscopy", *Phytopathol*, V.10, n° 69, (1979), 96-100
80. Lister, R.M., Carroll, T.W. and Zaske, S.k., "Sensitive serologic detection of *barley stripe mosaic virus* in barley seed", *Plant, Dis*, V.1, n° 65, (1981), 809-814
81. Henson J.M., French R., "The polymerase chain reaction and plant disease diagnostic", *Annu, Rev, Phytopathol*, V.4, n° 31, (1993), 800-806
82. Palomar, M.K., Brakke, M.K. and Jackson, A.O., "Base sequence homology in the RNAs of *Barley Stripe Mosaic Virus*", *Virology*, V.2, n° 77, (1977), 471p
83. Mcfaraland, J.E., Brakke, M.K. and Jackson, A.O., "Complexity of the Argentina mild strain of *Barley Stripe Mosaic Virus*", *Virology*, V.11, n° 130, (1983), 397p
84. A guide and status report on seed health testing methods used in the seed industry of the development of internationally accepted reference methods. ISTA/ISHI, USA, (2000), 180p
85. Slykhuis, J.T., *Wheat Spindle Streak Mosaic Virus*, "Descriptions of plant viruses", CMI/AAB, V.3, n° 167, (1975)
86. Astier, S., Albouy, J., Maury Y. et Lecoq, H., "Principes de virologie végétale : génome, pouvoir pathogène, écologie des virus", INRA, Versailles, (2001), 444 p

87. Devergne, J.C., “Possibilités actuelles des tests immuno-enzymatiques à la détection des agents phytopathogènes des végétaux”, 2^{ème} Congrès de la S.F.P. Montpellier, (1990), 34 p
88. Berling, A., “ La détection des *Potyvirus* par la méthode ELISA”, Phytoma, Défense des végétaux, V.5, n°30, (1991), 434-527
89. Albouy, J et Devegne, J.C., “Maladies à virus des plantes”, INRA, (1998), 13-136
90. Hames, B.D., Hooper, N. et Houghton, J., “ L’essentiel en biochimie”, Phytopathol, V2, n° 88, (2000), 965-971
91. Nelson, P.N., Reybolds, G.M., Waldron, E.E., Ward, E., Giannopoulos, K. et Murray, P.G.2000., “Monoclonal antibodies”, J, Clin, Patholo, Mol, Pathol,V.5, n° 53. (2000), 111-117
92. Torrance, I., “Serological methods to detect plant viruses: Production and use of monoclonal antibodies”, Duncan , Torrance, (1992a), 33 p
93. Purcifull, D.E., Batchelor, D.L., “Immunodiffusion tests with sodium dodecyl sulfate (SDS)-treated plant viruses and plant viral inclusions”, Florida, Agricult, Experim, Stat, Tech, V.3, n°788, (1977), 39 p
94. Baker, C.A., Lecoq, H., Purcifull, D.E., “Serological and biological variability among *Papaya Ring Spot Virus* type W isolates in Florida”, Phytopathol, V.4, n° 81. (1991), 722-728
95. Desbiez, C., Wipf-Scheibel, C., Granier, F., Robaglia, C., Delaunay, T., Lecoq, H., “Biological and molecular variability of *Zucchini Yellow Mosaic Virus* in the island of Martinique”, Plant, Dis, V.2, n° 80, (1996), 203-207
96. Cornuet., “Maladies à virus des plantes cultivées et méthodes de lutte”, INRA, Paris, (1959), 440p