

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES

PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
DE MASTER II EN SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE
SPECIALITE : BIOLOGIE DES INTERACTIONS PLANTES-
MICROORGANISMES

**Détection biologique et sérologique du virus du
court-noue de la vigne (*GFLV*) en régions viticoles**

Présenté par :

M^{me} Allali Amel

Date de soutenance: le 7 Octobre 2017.

Devant le jury composé de:

M ^{me} HADJ-SADOK NEBIH D.	MCB	USDB1	Présidente
M ^{me} BELKAHLA H.	Pr.	USDB1	Promotrice
M ^{me} SABRI K.	MAA	USDB1	Examinatrice
M ^r IDRIS I.	Doctorant	USDB1	Examineur

ANNEE UNIVERSITAIRE 2016/2017

REMERCIEMENTS

Je dois, en premier lieu, remercier **الله** le tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la volonté pour bien mener ce travail.

Au terme de ce travail, j'adresse ma gratitude et je remercie énormément **M^{me}BELKAHLA H.** qui a dirigé ce travail, pour son encadrement, son aide précieuse, et ses conseils qui ont été essentiels pour l'aboutissement de ce modeste travail.

Je tiens à remercier :

M^{me}HADJ-SADOK NEBIH D. « présidente du jury » et **M^{me}SABRI K.** « Examinatrice » et **M^r IDRIS I.** « Examineur » qui sont honoré en acceptant de juger notre travail.

M^r IDRIS I. pour son implication dans nos travaux. il nous a donné des conseils pour le développement et l'élaboration de notre travail.

Je remercie très vivement **M^r Walid** ingénieur de laboratoire de virologie pour son aide et encouragements.

Enfin, que tous ceux, de près ou de loin, dont l'assistance ou les conseils m'ont permis de mener à bien ce travail.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail a :

Ma princesse maman **CHERIFA**: merci pour ton amour, tes encouragements et ton soutien inconditionnel durant toute ma vie, je t'aime énormément maman.

Mon cher papa **ABDELLAH**, c'est grâce à toi que je suis devenu ce que je suis, merci beaucoup pour ton amour, tes encouragements, tes conseils et surtout pour tes sacrifices, je t'aime énormément mon très cher papa

A mon cher frère **ABDENNOUR**

A mes sœurs **KARIMA, AICHA** et **MALEK**

A mon cher mari **MEROUANE** merci pour tous tes encouragements

A ma fille **SIRINE**

A toute la famille **ALLALI** et **BELKACEM**

A mes amies **SARAH, IMENE, KHEIRA, AHLEM** et **NASSIMA**

A tous mes amis de spécialités Biologie des interactions plantes microorganismes de la promotion 2016-2017.

A tous ceux qui ont contribué de pré ou de loin a la réalisation de ce travail

Détection biologique et sérologique du virus du court-noué de la vigne (GFLV) en régions viticoles.

Résumé:

Le virus du court noué [*Grapevine fanleaf virus (GFLV)*], est la virose la plus répandue et la plus dommageable dans le vignoble mondial il est transmis par le nématode *Xiphinema index*. L'objectif de notre étude consisté à détecter le virus dans 2 régions viticoles différentes à BLIDA (MEFTAH et MOUZAIA), et à TIPAZA (AHMER-EL-AIN) et sur 3 cépages différents (*Dattier de Beyrouth*, *Gros Noir* et *Cardinal*). Les résultats des diagnostics symptomatologiques ont révélé la présence de divers groupes de symptômes type (déformations et modification de l'aspect du limbe, taches annulaires chlorotiques, mosaïque, jaunissement des feuilles, panachure des feuilles, bifurcation, aplatissement des sarments, raccourcissements des entre nœuds, double nœuds, réduction du nombre des baies et de la taille des grappes et enfin nanisme). Les symptômes les plus sévères ont été observés dans la station de AHMER-EL-AIN sur le cépage *Dattier de Beyrouth*. L'analyse nématologique du sol a montré la présence d'espèce de nématodes appartenant au genre *Xiphinema*. Leurs effectifs varient entre les différentes stations et cépages. La station de AHMER-EL-AIN occupées par les deux cépages *Gros Noir* et *Dattier de Beyrouth* était la plus infestée par le genre *Xiphinema* avec un effectif moyen de 39,16% nématodes par 250 ml de sol.

Mots clés : Court-noué, GFLV, *Xiphinema*, cépages,

Biological and serological detection of grapevine virus (*GFLV*) in wine growing

ABSTRACT:

The *Grapevine fanleaf virus (GFLV)* is the most widespread and most damaging virus in the world vineyard. It is transmitted by the nematode *Xiphinema index*. The objective of our study was to detect the virus in two different wine regions BLIDA (MEFTH and MOUZAIA), TIPAZA (AHMER-EL-AIN) and on three different varieties (*Dattier de Beyrouth*, *Gros Noir* and *Cardinal*). The results of the symptom diagnoses revealed the presence of various groups of typical symptoms (deformations and modification of the appearance of the leaf blade, chlorotic annular spots, mosaic, leaf yellowing, leaf blotch, bifurcation, flattening of vine shoots, shortening of inter-nodes, double nodes, reduction in the number of berries and size of clusters and finally dwarfism). The most severe symptoms were observed in the AHMER-EL-AIN station on the *Dattier de Beyrouth* grape variety. The nematode soil analysis showed the presence of nematode species belonging to the genus *Xiphinema*. Their numbers vary between the different stations and grapes. The AHMER-EL-AIN station occupied by the two varieties *Gros Noir* and *Dattier de Beyrouth* are most infested by *Xiphinema* with an effective mayen of 39.16% nematodes per 250 ml of soil.

Keywords: fanleaf, *GFLV*, *Xiphinema*, grapes.

البحث البيولوجي والمصلي لمرض فيروس العنب *GFLV* في المناطق العنبية

الملخص

يعتبر فيروس الكروم المروحي من أكثر الفيروسات انتشارا وأكثرها ضررا في كروم العنب في العالم، وينتقل عن طريق النيماتودا الخنجرية. الهدف من دراستنا هو الكشف عن الفيروس في منطقتين مختلفتين للعنب، البليلة (مفتاح و موزايا)، تيبازة (احمر العين) و 3 أنواع مختلفة من العنب (*Dattier de Beyrouth*, *Gros Noir et Cardinal*) كشفت نتائج التشخيص وجود اعراض مختلفة للمرض (تشوهات و تغير مظهر اطراف الاوراق و البقع الخلقية الكلورية، و الفسيفساء واصفرار الاوراق و تلونها و التفرع و تسطيح براعم الكرمة و تقصير ما بين العقد و ايضا العقد المزدوجة و التقزم) بحيث الاعراض الاكثر حدة وجدت في منطقة احمر العين على النوعية *Dattier de Beyrouth* كما اظهرت نتائج التحليل النيماتولوجي للتربة عن وجود أنواع النيماتود المنتمية إلى النوع *Xiphinema sp* بحيث اعدادهم تتفاوت من منطقة لأخرى و من عنب لآخر. وعلى حسب أصناف العنب منطقة أحمر العين التي تشتهر بالنوعين *Dattier de Beyrouth, Gros Noir*, هي الأكثر تضررا من طرف *Xiphinema* بمعدل 39,16 بالمئة نيماتود لكل 250 مل من التربة.

الكلمات المفتاحية

Xiphinema sp, GFLV, Court-noué, انواع العنب

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

LISTE DE TABLEAUX :

Tableau 1 : Situation viticole en Algérie de 2003 à 2013..... 01

LISTE DES FIGURES :

Figure1: Symptômes du l'enroulement foliaire de la vigne.....	03
Figure2: Symptômes de Complexe du bois strié	04
Figure3: Symptômes du Complexe de la marbrure	05
Figure 4: Symptômes du court-noué dans une parcelle.....	06
Figure 5: Structure et expression des ARN ₁ et ₂ du virus court- noué.....	08
Figure 6: Symptômes de malformation sur sarments.....	08
Figure 7: Symptômes de fasciation et aplatissement sur les rameaux.....	09
Figure 8: Sinus pétiolaire élargi et dentelure acérée des feuilles.....	09
Figure 9: Symptôme de mosaïque sur feuilles.....	10
Figure 10: Jaunissement total de la plante.....	10
Figure 11: Feuille avec distorsion et chlorose.....	11
Figure 12: Symptômes de la panachure sur les feuilles.....	12
Figure 13: Symptômes d'anomalie des grappes.....	12
Figure 14: Symptômes microscopiques du cordon endocellulaires.....	13
Figure15: Distribution mondiale des nématodes Longidoridae, vecteurs de virus <i>X. index</i> , vecteur du <i>grapevine fan leaf virus</i> , est indiqué en rouge pour souligner sa répartition mondiale.....	16
Figure16: morphologie de <i>Xiphinema index</i>	17
Figure 17: mécanisme d'inoculation du virus par le nématode <i>X. index</i>	19
Figure18: Partie antérieure des <i>Longidoridae</i> (stade larvaire).....	20
Figure 19: acides aminés responsables de la spécificité de transmission (polyprotéine P ₂).....	21
Figure 20: Parcelles échantillonnées de L'exploitation de Ahmer El Ain.....	22
Figure 21: parcelle échantillonnée de l'exploitation de Meftah.....	23

Figure 22: parcelle échantillonnée de l'exploitation de Mouzaia.....	24
Figure 23: Conservation des feuilles dans un sachet en papier.....	24
Figure 24: Matériels utilisé dans l'extraction de nématode du sol.....	26
Figure 25: Etapes d'extraction des nématodes et le passage actif.....	27
Figure 26: Procédé de purification actif des nématodes.....	28
Figure 27: Matériels de dénombrement des nématodes.....	28
Figure 28: Etapes de dénombrement et identification morphologique des Nématodes.....	29
Figure29: Raccourcissement des entre-nœuds, Station de MEFTAHsur le cépage <i>Cardinal</i>	30
Figure 30 : Double nœuds, station de MEFTAH sur le cépage <i>Cardinal</i>	31
Figure 31 : bifurcations des sarments	32
Figure 32 : Aplatissement du sarment, station de AHMER-EL-AIN,sur le Cépage <i>Gros noir</i>	33
Figure 33 : Déformation du limbe, Station de MEFTAH sur cépage <i>Cardinal</i>	33
Figure 34 : Modification du limbe, Station de MOUZAIA sur le cépage <i>Cardinal</i>	34
Figure 35 : Modification de l'aspect du limbe,station de MOUZAIA sur le cépage <i>Cardinal</i> , station de AHMER-EL-AIN sur le cépage <i>Dattier de Beyrou</i> t.....	34
Figure 36 : Echancrure du limbe, station de MEFTAH sur le cépage <i>Cardinal</i>	35
Figure 37 : Réduction de la taille de grappe, station deMEFTAH sur le cépage <i>Cardinal</i>	36
Figure 38 : Réduction du nombre des baies, station de MEFTAHsur le cépage <i>Cardinal</i>	36
Figure 39 : Taches annulaires chlorotiques, Station de MOUZAIAsur le cépage <i>Cardinal</i>	37
Figure 40 : Mosaïque sur les feuilles,Station de Ahmer-El-ainsur le cépage <i>Gros</i>	

<i>Noir</i> et Station de MOUZAIA sur le cépage <i>Cardinal</i>	38
Figure 41 : Jaunissement total des feuilles, station de Ahmer-El-ain sur le cépage <i>Gros noir</i>	39
Figure 42 : Jaunissement partiel des feuilles, station de MEFTAH sur le cépage <i>Cardinal</i> et station de AHMER-EL-AIN sur le cépage <i>Dattier de Beyrouth</i>	39
Figure 43 : Panachure ordinaire Station de MOUZAIA sur le cépage <i>Cardinal</i> , station de AHMER-EL- AIN sur le Cépage <i>Gros noir</i> ,station de MEFTAH sur le cépage <i>cardinal</i>	40
Figure 44 : Symptôme de l'enroulement des feuilles , station de MOUZAIA sur le Cépage <i>Cardinal</i>	41
Figure 45 : Symptôme de nanisme, station de Mouzaia sur le cépage <i>Cardinal</i>	41
Figure 46 : Morphologie du <i>Xiphinema index</i> au microscope optique.....	43
Figure 47 : Abondance des espèces de <i>Xiphinema sp</i> en fonction des cépages....	44
Figure 48 : Abondance des espèces de <i>Xiphinema sp</i> en fonction des régions.....	45

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: Acide désoxyribonucléase.

ARN: Acide ribonucléique.

ARNsat: ARN satellite.

ARNsb: Acide nucléique simple brin.

CP: protéine capsidique.

C.amaranticolor: *Chenopodium amaranticolor.*

C.quinoa: *Chenopodium quinoa.*

ArMV: *Arabic mosaic virus.*

GFLV: *Grapevine fanleaf virus.*

GLRaV: *Grapevine leaf roll associated virus.*

RSP: *Grapevine Ruspestris Stem Pitting.*

KSG: *Kobber Stem grooving.*

GFKV: *Grapevine Fleck Virus.*

KDa: KiloDalton.

Qtx: Quintaux.

Sommaire

Introduction	01
---------------------------	----

CHAPITRE 1: Synthèse Bibliographique

1. Importance économique de la vigne.....	03
2. Description morphologique de la vigne.....	04
3. Maladies virales de la vigne.....	04
4. Virus du court-noué de la vigne (<i>GFLV</i>).....	08
5. Nématode vecteur du <i>GFLV</i>	17

CHAPITRE 2 : Matériel et Méthodes

2.1. Sites prospectés.....	24
2.2. Méthode de prélèvement et de conservation des feuilles.....	26
2.3. Analyse nématologique du sol.....	27

CHAPITRE 3 : Résultats et Discussion

3.1. Analyse symptomatologique.....	32
3.2. Analyse nématologique.....	45

Conclusion Générale et Perspectives	48
--	----

Références Bibliographiques

Annexes

la vigne est l'espèce végétale la plus cultivée dans le monde. Elle est la 14^{ième} culture d'importance économique au niveau mondial.

Son importance se situe au niveau de la production des fruits, le raisin, commercialisé comme raisin de table et jus de fruit. Il existe également d'autres utilisations des produits issus de la culture de la vigne : la production de dérivés de la vinification (moûts, alcools de distillation, tartres), de boissons à base de raisin, de dérivés alimentaires (huile de pépins de raisin), des produits cosmétiques.

La viticulture occupe environ 8 millions d'hectares dans le monde. La majorité des vignes cultivées est regroupée en Europe (63% du vignoble mondial) et notamment en France, Italie et en Espagne. Les Méditerranéens ne font pas exception, car la vigne a toujours occupé une place dans le paysage traditionnel de cette région, par sa présence sous ces deux formes sauvage et cultivée. Cependant la culture de cette espèce est bien enracinée dans les traditions des populations paysannes Maghrébines en général et Algérienne en particulier (BOUBY et *al.*, 2010).

Avant l'indépendance, Algérie était le 4^{ième} pays viticole du monde par sa production et l'étendue du vignoble et le premier pays exportateur du monde (AOUANE, 2005). Depuis l'indépendance, le secteur viticole a connu des bouleversements profonds engendrés par des mutations d'ordre politique et socioéconomique dans notre pays. Les surfaces cultivées ont considérablement diminué suite à des arrachages, et à la faiblesse de production (AGGAD, 1988).

Comme toute culture la vigne est une plante hôte à de nombreuses bioagresseurs car des ravageurs (phylloxera) et des pathogènes telles que les champignons (mildiou, oïdium, pourriture grise), bactérienne (tumeur du collet & maladie de Pierce) et les virus (enroulement) causent des maladies très redoutables (REYNER et *al.*, 1991).

Un certain nombre de virus, par exemple ceux du court-noué causent des pertes importantes de récolte pouvant atteindre 80% ou diminuent la qualité des grappes. L'expression des symptômes varie en fonction de l'isolat viral, du cépage et des conditions pédoclimatiques.

La maladie du court-noué de la vigne, provoquée par des *Nepovirus* est l'une des viroses les plus graves de la vigne. Elle a été décrite depuis 200 ans en Europe sur des porte-greffes hybrides. L'agent principal responsable de cette maladie est le *Grapevine fanleaf Virus (GFLV)*. Ce virus est transmis spécifiquement de vigne à vigne par le nématode, *Xiphinema index*, ver microscopique, lors des prises alimentaires du nématode au niveau des racines.

Des travaux de recherche sur la maladie de court-noué sont limités à des études pour la vérification de la présence du *GFLV* dans les vignobles algériens par l'utilisation de différentes méthodes d'identification. MARTELLI en 1985 a signalé des cas graves du *GFLV* sur plusieurs variétés de vigne à l'ouest et au centre du pays, HADJI (1991), AIT TAYEB (1994) et MELOUK (2001) dans la région de la Mitidja, TABOUCH (2004), LECHEB (2004), KHENCHELAOUI et GUENANE (2014), BRADA et TAMAOUCHT (2015) et IDRIS (2016).

Nous avons réalisé ce présent travail dans le but de caractérisation biologique de la maladie de *GFLV* dans 2 régions viticoles différentes (Blida, Tipaza) sur différents cépages: *Cardinal*, *Gros Noir*, et *Dattier de Beyrouth* par la recherche et l'identification du *GFLV*.

Notre étude a porté donc sur deux volets :

- Analyse symptomatologique directe.
- Recherche du *Xiphinema index* nématode vecteur du *GFLV*.

1.1. Importance économique de la vigne :

1.1.1. Dans le monde :

La vigne couvre dans le monde aujourd'hui près de huit millions d'hectares et continue de s'étendre à raison d'un accroissement continu de la consommation, de 4,5% en moyenne au cours des dix dernières années (2001-2011) (MARTIN et *al.*, 2006, ANONYME, 2013_a).

Le vignoble mondial total a connu en 2014 une légère croissance, 10 milliers d'hectares par rapport aux années précédentes (ANONYME, 2015). La Chine est le premier producteur de la vigne en 2014, avec 15 % de la production mondiale, suivi des Etats Unies (70 millions de quintaux) et de France et l'Italie au même niveau avec 69 millions de quintaux (ANONYME, 2015).

1.1.2. En Algérie :

Le tableau suivant résume la situation viticole en Algérie en termes de surface occupée, la production et le rendement pour 10 ans.

Tableau 1 : Situation viticole en Algérie de 2003 à 2013 (ANONYME, 2015).

Années	Surface (ha)	Production(Qtx)	Rendement(Qtx/ha)
2003	94 025	2 779 680	29,56
2004	97 696	2 839 000	29,05
2005	100 202	3 340 210	33,33
2006	97 063	3 980 180	41
2007	91 930	2 449 990	26,65
2008	86 665	4 019 915	46,38
2009	82 184	4 925 252	59,92
2010	79 930	5 605 620	70,13
2011	76 341	4 360 332	57,11
2012	74 114	5 431 690	73,28
2013	73 352	5 708 400	77,82

D'après le tableau (1), on remarque que les surfaces occupées par la vigne sont en régression ces dernières années. Par conséquent, la production et le rendement ont connu une nette amélioration avec un rendement de 77.82 Qtx/ha enregistré en 2013.

1.2. Description morphologique de la vigne

La vigne est une plante liane pérenne à port grimpant. Les sarments sont ligneux, taillés en hiver, peuvent atteindre dans la nature de très grandes longueurs allant jusqu'à 3 mètres. Les feuilles à nervures palmées comportent cinq lobes principaux plus ou moins découpés. Elles connaissent une importante polymorphie selon les espèces et les cépages. Les fleurs pentamères, sont très petites (5mm), verdâtres et regroupées en grappes composées. Les fruits mûrs sont des baies de forme et de couleur variables. Ils sont blancs, jaunâtres, violets ou noirs, et presque toujours noirs à l'état sauvage (CARBONNEAU et *al.*, 2007).

1.3. Maladies virales de la vigne :

Les virus vivent dans les cellules des plantes contaminées et y provoquent des troubles entraînant une modification des aptitudes de la plante. Les plus graves pour les viticulteurs sont l'enroulement foliaire, le complexe du bois strié, le complexe de la marbrure, et le court-noué (REYNIER, 2007).

1.3.1. L'enroulement foliaire :

L'enroulement foliaire est l'une des plus importantes maladies à virus de la vigne il est largement répandu dans tous les pays viticoles du monde, cette maladie se manifeste en été par l'enroulement des feuilles et causé par plusieurs virus voisins dont les effets peuvent se superposer (BOVEY et *al.*, 1980).

L'enroulement foliaire est induit par un complexe viral, jusqu'alors cinq virus appartenant au groupe *Closterovirus* sont décrits sur des vignes atteintes de cette maladie (WALTER et *al.*, 2000). Ces virus sont transmis par les bois et plants de vigne lors de la multiplication végétative. Les plus fréquents et les plus graves sont *GLRaV* (*GrapevineLeaf roll associated Virus*).

Ces virus provoquent une modification du métabolisme des sucres et interviennent donc en réduisant la maturation et l'aoûtement (REYNIER, 2007). Plusieurs *Ampelovirus* et un *Closterovirus* (*GLRaV-2*) ont été décrits en association avec l'enroulement (*GLRaV 1 à 10 = Grapevine Leaf Roll associated Viruses*)(Fig.1).



Figure 1: Symptômes du l'enroulement foliaire de la vigne (HABILI et *al.*, 2006).

1.3.2. Complexe du bois strié :

Le Complexe du bois strié se divise en 4 maladies distinguées par les symptômes qu'elles induisent sur les variétés indicatrices : *Grapevine Rupestris Stem Pitting (RSP)*, *Kobber stem grooving (KSG)*, *Grapevine corkybark (CB)*, *Grapevine LN 33 stem grooving (LNSG)*.

Les agents viraux probables associés aux différentes maladies du bois strié sont des membres des genres *Vitivirus* ou *Foveavirus* appartenant à la famille des *Flexiviridae*(Fig.2) (HALGAND, 2009).

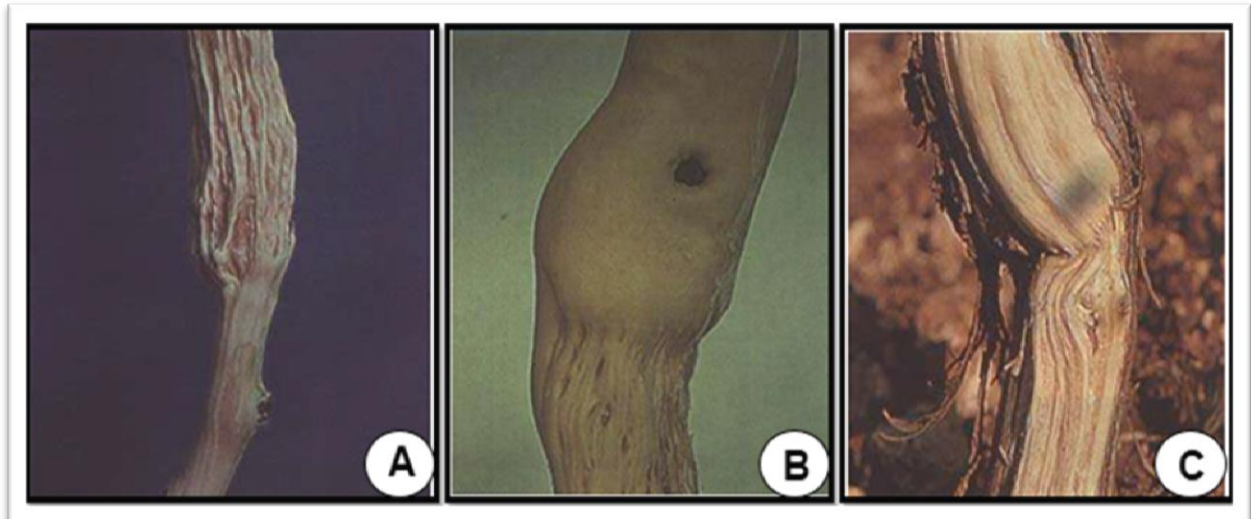


Figure2: Symptômes du Complexe du bois strié (MARTELLI, 1993, MARTELLI et al.,2006).

A: Symptômes uniquement sur le greffon, **B:** Symptômes uniquement sur le porte-greffe,

C: Symptômes sur le greffon et le porte-greffe.

1.3.3. Complexe de la marbrure :

La marbrure a pendant longtemps été considérée comme une maladie due à un seul virus, le *GFkV* (*Grapevine Fleck Virus*) qui est d'ailleurs toujours appelé virus de la marbrure (WALTER et al, 2000). Au début des années 2000, différentes observations ont permis de rapprocher ce virus des genres *Tymovirus* et *Marafivirus*.

A ce jour, aucun vecteur n'est connu pour les différents virus du complexe de la marbrure. Des observations au vignoble en Italie, Afrique du sud et Japon suggèrent cependant une dissémination naturelle au champ du *GFkV*. Le matériel végétal reste quand même probablement la principale source de contamination s'il n'est pas contrôlé vis-à-vis de la marbrure (ANONYME, 2006).

La marbrure *stricto-sensu* (*fleck*) se manifeste, notamment sur *Vitis rupestris* « du lot » où « Saint-Georges » qui servent d'indicateurs, par un éclaircissement des nervures tertiaires avec un repliement du limbe vers la face supérieure, formant une gouttière. Les souches virulentes du *GFkV* peuvent provoquer différents degrés de rabougrissements. La marbrure est rapportée dans tous les vignobles du monde. Les autres formes de maladies du complexe présentent des différences de symptomatologie et différentes localisations géographiques (Fig.3)(MARTELLI, 2008).



Figure 3 : Symptômes du Complexe de la marbrure (MARTELLI, 2008).

1.3.4. Le court-noué (dégénérescence infectieuse) :

La vigne est affectée par 63 virus parmi lesquels *le Grapevine fan leaf virus (GFLV)* est l'un des plus destructeurs et à répartition mondiale (MARTELLI, 2012). *GFLV* appartient au genre *Nepovirus* de la famille des *Comoviridae* (SANFAÇON et al, 2009). Elle provoque des pertes de récoltes pouvant aller jusqu'à 80% dans diverses régions tempérées (ANDRET-LINK et al., 2004, SOKHANDAN-BASHIR et al, 2011). Les particules de *GFLV* ont une forme polyédrique avec un diamètre de 28 nm (KING et al., 2011). Le virus est transmis dans la nature par le nématode ectoparasite *X. index* d'une vigne à l'autre (VIGNE et al., 2005), mais également transmissible à des hôtes expérimentaux tels que *C. amaranticolor* et *C. quinoa*.

Les principaux symptômes du court-noué sont le raccourcissement des entrenœuds, la croissance des sarments en zigzag, des doubles nœuds, l'asymétrie du limbe des feuilles, l'élargissement du sinus pétiolaire, l'élongation des dents, l'apparition de décolorations jaunes du limbe (panachure, mosaïque). Le nombre et la taille des grappes sont fortement réduits, avec une très forte coulure et/ou du millerandage. La durée de vie des ceps est généralement raccourcie (ANONYME, 2007).

La lutte contre les vecteurs par l'utilisation de nématicides se heurte à plusieurs difficultés : leur inefficacité dans les sols lourds et profonds et les risques de toxicité et de pollution des eaux souterraines. La création par hybridation de variétés de

porte-greffes résistants aux nématodes comme méthode de lutte alternative, est en cours d'évaluation (Fig.4)(ANONYME, 2007).



Figure 4 : Symptômes du court-noué dans une parcelle (DEMANGEAT, 2007).

1.4. Le court-noué de la vigne :

Le *GFLV* est répandu mondialement, il est admis que l'aire d'origine est le Moyen-Orient, région à partir de laquelle il aurait été disséminé en même temps que la vigne dans l'ensemble du bassin méditerranéen par les Phéniciens, les Grecs et enfin les Romains (VILLATE, 2008).

Le *GFLV* fait partie de la famille des *Comoviridae* et du genre *Nepovirus*. Les *Nepovirus* sont des virus non enveloppés icosaédriques d'un diamètre variant de 28 à 30 nm (GALET, 1977 ; BOVEY et MARTELLI, 1992 ; MAYO et ROBINSON, 1996). Le terme *Nepovirus* désigne les virus icosaédriques transmis par nématode, *Nepovirus* provenant de l'abréviation de « *nematode-transmitted virus with polyhedral particles* » (CADMAN, 1963).

1.4.1. Impact de la maladie du court noué sur la vigne :

Les dégâts varient selon l'importance et l'étendue de l'infection, la variété et les conditions environnementales. Les principaux effets sont les suivants :

- **Baisse du rendement** : Près de 80% de la récolte peuvent être perdus. Pour les cépages de table, la coulure des grappes entraîne une importante dévalorisation.

- **Réduction de durée de vie de ceps** : Six à huit ans après la contamination, la plante infectée présente des signes prononcés de dépérissement.

- **Incidence sur le matériel végétal de multiplication** : Le bois issu de plantes infectées a une capacité d'enracinement réduite. La greffe d'une variété infectée sur un porte-greffe sain donne une plante infectée (BLOUIN, 2005).

1.4.2. Génome du GFLV :

Le génome du *GFLV* est constitué de deux molécules d'ARN simple brin de polarité positive, qui sont nécessaires pour déclencher une infection systémique (VIRY et *al.*, 1993). Certains isolats, comme la souche F₁₃, présentent un ARN₃ satellite, qui est en capsidie dans les mêmes particules virales que les ARN génomiques (PINK et *al.*, 1988 ; FUCHS et *al.*, 1989).

Chaque ARN est traduit en une polyprotéine maturée. La polyprotéine P₁ (253 kDa), codée par l'ARN₁, qui contient 7 342 nucléotides (RITZENTHALER et *al.*, 1991), est clivée en cinq protéines impliquées dans la maturation et la réplication. La polyprotéine P₂ (122 kDa), codée par l'ARN₂, qui contient 3 774 nucléotides (SERGHINI et *al.*, 1990), est clivée en trois protéines : la protéine 2APH (28 kDa) ayant pour fonction présumée de guider l'ARN₂ vers les complexes de réplication cellulaires, la 2BPM (38 kDa) qui correspond à la protéine de mouvement et la 2CPC (56 kDa) ou protéine de capsidie. Le satellite code pour une protéine de 37 kDa essentielle à la réplication de l'ARN₃ (HANS et *al.*, 1992). La protéine de la capsidie du *GFLV* est une protéine de 504 acides aminés. C'est la seule protéine structurale du génome. Elle est capable de s'auto assembler pour former des virions sans la présence d'ARN (Fig.5) (QUACQUARELLI et *al.*, 1976).

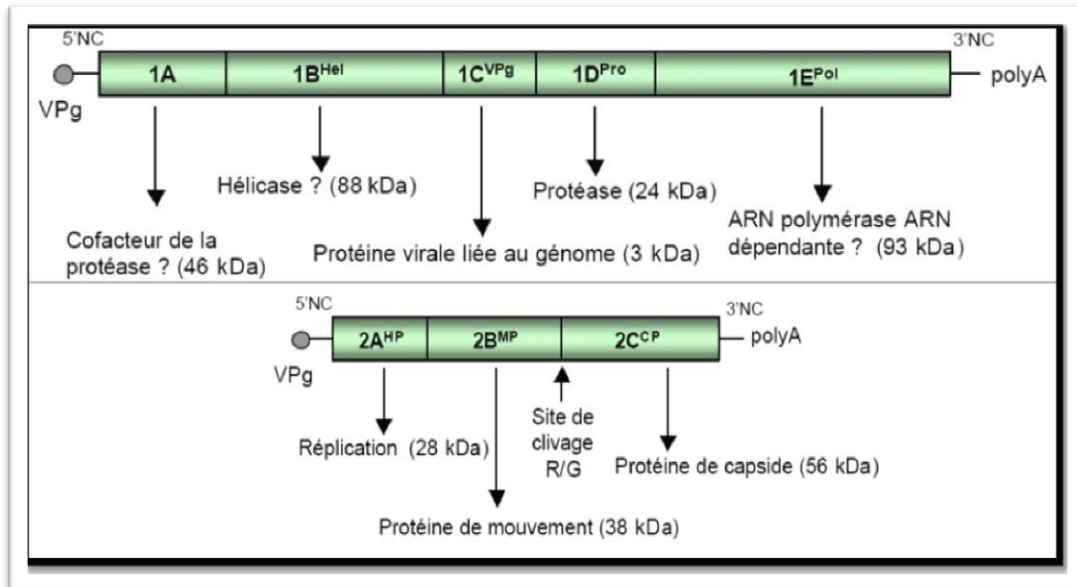


Figure 5 : Structure et expression des ARN₁ et ₂ du virus court-noué (ANDRET-LINK, 2005).

1.4.3. Symptomatologie

1.4.3.1. Symptômes macroscopiques

A) Sur les sarments et les feuilles :

Le virus provoque une grande gamme de symptômes sur la vigne : raccourcissement des entre-nœuds ; rameaux en zigzag présentant une fasciation et des bifurcations anormales, asymétrie des limbes foliaires donnant à la feuille une allure d'éventail, de déformation et la décoloration des feuilles, nervation irrégulière (Fig.6 &7) (MARTELLI, 1997 ; WALTER, 2000).

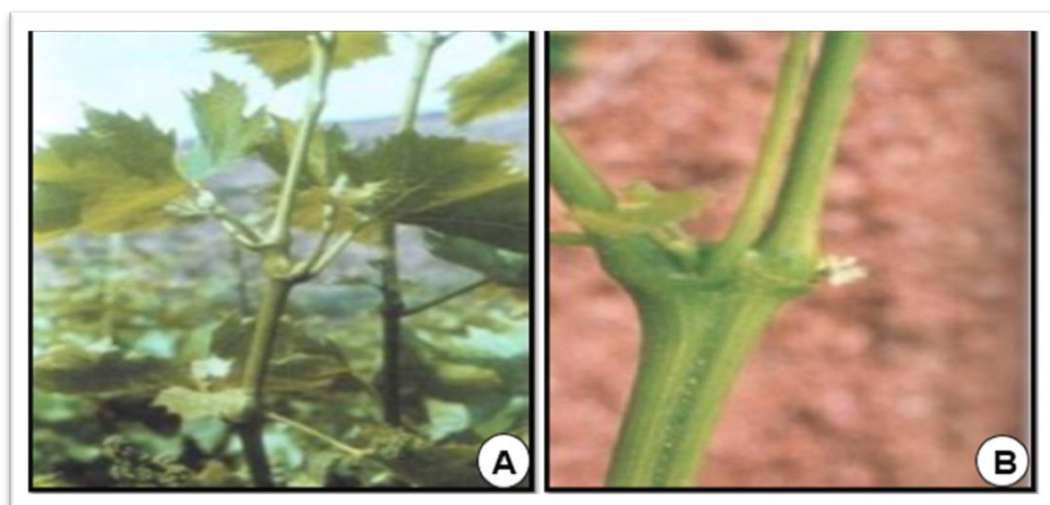


Figure 6 : Symptômes de malformation sur sarments (BLOUIN, 2005).

A: Raccourcissement des entre-nœuds, B: Double nœuds.

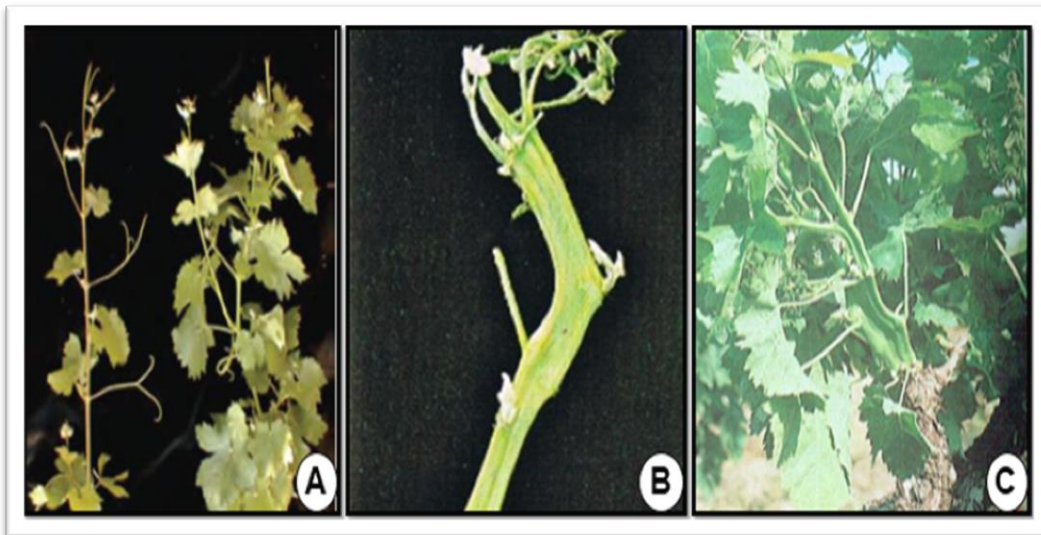


Figure 7: Symptômes de fasciation et aplatissement sur les rameaux.

A: Bifurcations anormales infecté (à droite), comparativement à une pousse saine (JONATHAN et al., 2011), **B:** Rameau fascié et aplati (GALET, 1999).

C: Rameaux à entre-nœuds raccourcis, déformés, croissance en zigzags, aplatissement et fasciation, division en fourche au niveau des nœuds (WALTER et al., 2000).

B) Sur les feuilles :

a) Réduction de la surface des feuilles et déformations :

Le sinus pétolière s'élargi et les nervures primaires (ou principales) se rapprochent en donnant à la feuille l'aspect d'un éventail. Les dents deviennent plus aiguës et plus profondes. On parle de dentelure acérée des feuilles (Fig.8) (HALGAND, 2009).



Figure 8 : Sinus pétolière élargi et dentelure acérée des feuilles (MARTELLI et BOUDON, 2006).

b) Modification de la couleur des limbes :

Les chloroses du court-noué présentent différents aspects : jaunissement total, panachure ou panachure réticulée, ou bien encore taches annulaires chlorotiques et mosaïque (HALGAND, 2009).

c) Mosaïque :

Figure 9 : Symptôme de mosaïque sur feuilles (GALET, 1999).

d) Jaunissement total :

Dans le cas d'une infection par le court-noué le jaunissement total de la plante correspond à une couleur qualifiée de jaune chrome. Cette couleur est assez spécifique de la virose (Fig.10) (HALGAND, 2009).



Figure 10 : Jaunissement total de la plante (GALET, 1999).

e) Taches annulaires chlorotiques :

Ces taches sont des jaunissements du limbe à bordures bien délimitées de forme arrondie (Fig.11) (HALGAND, 2009).



Figure 11 : Feuille avec distorsion et chlorose (JONATHAN *et al.*, 2011).

f) Panachures**• Panachure réticulée :**

Il s'agit d'un jaunissement des nervures primaires et secondaires donnant l'aspect d'un quadrillage sur la feuille (HALGAND, 2009).

• Panachure ordinaire :

Il désigne un aspect jaune d'or du limbe qui apparaît à la fin du printemps. Sa répartition sur les feuilles est indépendante du réseau nervure. Les feuilles se couvrent de tache de couleur jaune à jaune blanchâtre et de forme très variable (Fig.12) (SAVINO *et* MARTELLI, 1985).

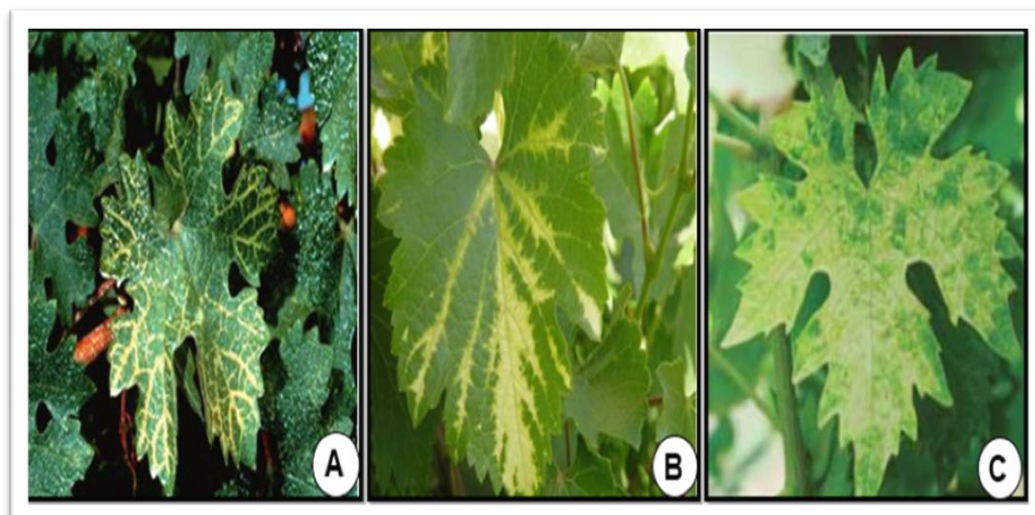


Figure 12 : Symptômes de la panachure sur les feuilles.

A&B : Panachure réticulée (ANONYME, 2009).

C : Panachure ordinaire (CHARBEAU, 2012).

C) Sur les grappes :

Réduction du nombre et de la taille des grappes, coulure et millerandage, retard à la maturation. Le stade ultime du syndrome peut être un dépérissement généralisé (Fig.13) (HALGAND, 2009).

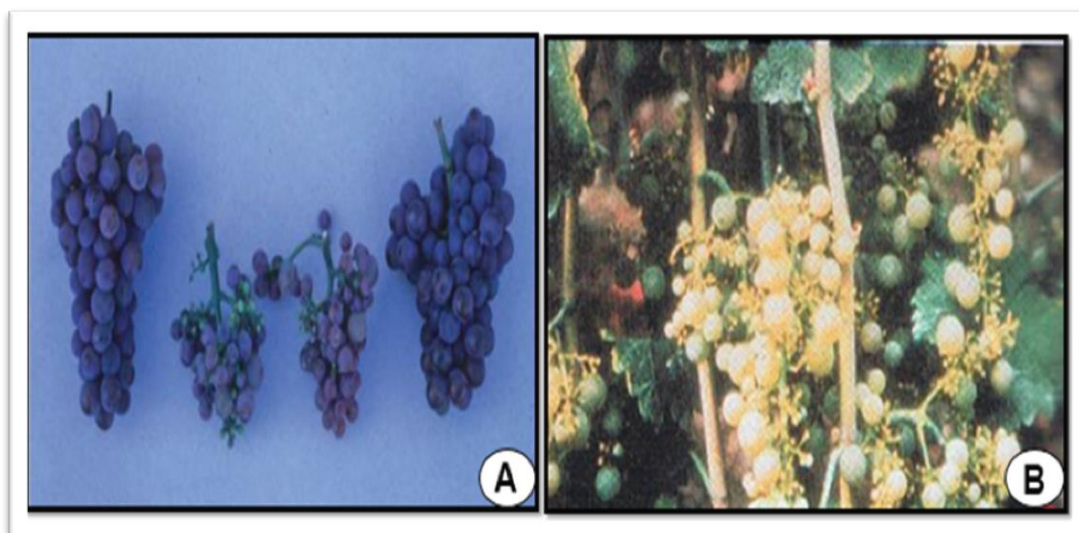


Figure 13 : Symptômes d'anomalie des grappes.

A: Petites grappes avec des baies infectées par *GFLV* (au centre) par rapport aux grappes saines sur la gauche et la droite (WALTER et al., 2000). **B**: Coulure partielle ou totale des grappes (BLOUIN, 2005).

D) Sur les racines :

Les racines des plantes infectées sont moins développées que celles des plantes saines (WALTER et *al.*, 2000).

1.4.3.2. Symptômes microscopiques :

Les cordons endocellulaires sont les caractéristiques les plus symptomatiques de la vigne infectée par le court-noué (GALET, 1977). Ces cordons sont constitués d'un noyau pectique entouré par une gaine de cellulose incrustée avec la lignine, la subérine ou la cutine en rapport avec le type de tissu infecté. Dans les pousses lignifiées, ces structures sont facilement visibles en particulier dans les entre-nœuds de la partie basale (Fig.14) (GEROLA, 1969).

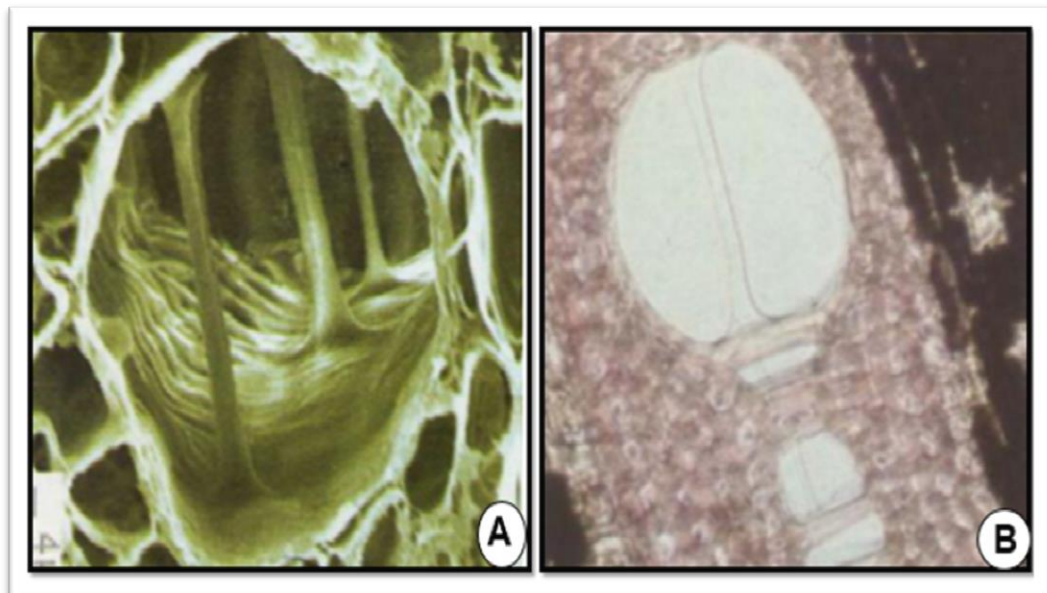


Figure 14 : Symptômes microscopiques du cordon endocellulaire(MARTELLI, 1997).

A : Symptômes microscopiques d'une cellule géante (MARTELLI, 1997)

B : Symptômes microscopiques d'un cordon endocellulaires(MARTELLI, 1997).

1.4.4. Transmission du virus *GFLV*

1.4.4.1. Transmission par le matériel végétal :

Le matériel végétal contaminé constitue la principale source de transmission et de dissémination de la maladie du court-noué car le *GFLV* passe aisément du porte-greffe au greffon et vice versa, cela quelle que soit la méthode de greffage utilisée (ANONYME, 2013_b).

1.4.4.2. Transmission par pollen et graine :

La dissémination du *GFLV* peut être assurée dans certains cas par le pollen ou la graine (DEMANGEAT, 2007). En effet, le *GFLV* est très abondant dans l'endosperme des graines de vigne infectées (CORY et HEWITT, 1968), mais rarement détecté dans l'embryon (LAZAR et al., 1990). CORY et HEWITT en 1968 ont montré la présence du *GFLV* dans les grains de pollen des plants de vigne et des hôtes herbacés sauvages ou cultivés *Chenopodium amaranticolor* (DIAS, 1963), *C. quinoa* (BRUCKBAUER et RUDEL, 1961) et de soja (CORY et HEWITT, 1968). Sur vigne, les analyses sérologiques DAS-Elisa effectuées sur le pollen des échantillons de vigne fortement infestés montrent que dans la région de Grombalia, le taux d'infection est de 73% pour le *GFLV* et 10% pour l'*ArMV*. Ces taux sont nettement plus faibles à Rafrat (5%) pour chacun de ces deux virus (MRABET, 2012). L'isolat du *GFLV* de la région de Grombalia se transmettrait plus facilement au pollen de la vigne que l'isolat de Rafrat et l'*ArMV* se transmet moins efficacement au pollen que le *GFLV* (Mrabet, 2012).

1.4.4.3. Transmission par le sol :

Les essais en Californie ont démontré que le virus du court-noué est propagé dans le sol par le nématode *X. index*. Dans les essais, *X. index* a transmis le virus du court-noué de la vigne aux racines de *C. amaranticolor* et en retour des racines de cette plante herbacée aux racines de vigne. Les nématodes *X. index* adultes ont retenu le virus du court noué jusqu'à 120 jours dans un sol exempt de racines de plantes hôtes (GALET, 1977).

1.4.4.4. Transmission par les bois :

On sait depuis longtemps que le court-noué est transmis par la multiplication végétative des rameaux ou des sarments prélevés sur les souches malades (GALET, 1977).

1.5. Nématode vecteur du GFLV :

En 1958, HEWIT et *al.*, ont montré que le GFLV était transmis de vigne à vigne par un nématode ectoparasite, *X. index*. Peu après, (JHA, POSNETTE, 1959) Les trois genres *Longidorus*, *Paralongidorus* et *Xiphinema* vecteurs des *Népovirus* appartiennent à l'ordre des *Dorylaimida*, sous-ordre des *Dorylaimana*, et à la famille des *Longidoridae* (Trudgill et *al.*, 1983). Ils regroupent plus de 400 espèces différentes mais un faible nombre parmi ces espèces a été identifié comme vecteur de virus (TRUDGILL et *al.*, 1983).

1.5.1. Distribution géographique :

Pour *X. index*, il est communément admis que l'aire d'origine pourrait être le Moyen-Orient, région à partir de laquelle il aurait été disséminé en même temps que la vigne dans l'ensemble du bassin méditerranéen par les Phéniciens, les Grecs et enfin les Romains. Cette espèce est la plus connue en Europe (Allemagne, Espagne, France, Grèce, Italie, Portugal) (SIDDIQI, 1974) en Amérique (Argentine, Chili, Etats-Unis) (LAMBRIE et MARTELLI, 1965), en Afrique de sud, Algérie (DALMASSO et *al.*, 1969), en Asie (Iran, Iraq, Turquie) et Australie (SIDDIQI, 1974)(Fig.15)

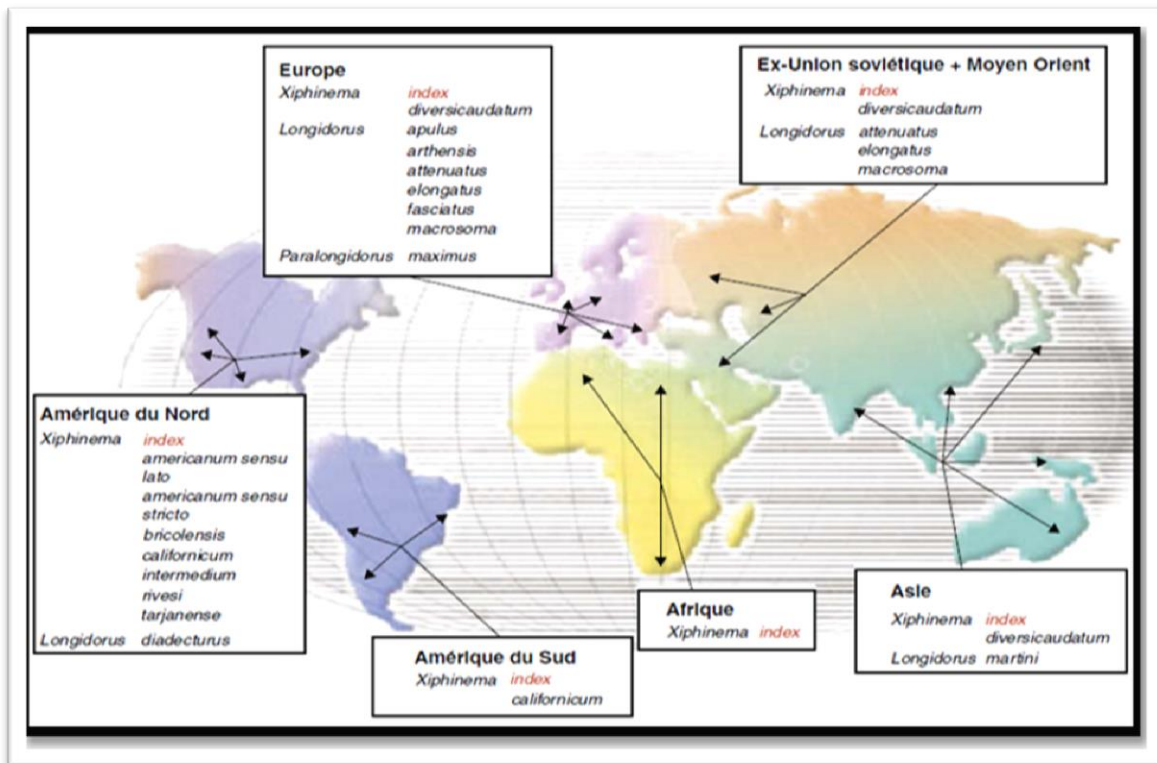


Figure 15 : Distribution mondiale des nématodes *Longidoridae*, vecteurs de virus. *X. index*, vecteur du *grapevine fan leaf virus*, est indiqué en rouge pour souligner sa répartition mondiale. D'après (BROWN et MACFARLANE, 2001).

1.5.2. Biologie et cycle de vie :

Les nématodes de la famille des *Longidoridae* sont des nématodes ectoparasites qui s'alimentent au niveau des racines en croissance. Pour 15 des 18 espèces vectrices de *Népotavirus*, la reproduction est parthénogénétique et dans ce cas les mâles sont rares (TAYLOR, BROWN, 1997).

Les *Longidoridae* évoluent du stade œuf vers le stade adulte en passant par 3 ou 4 stades larvaires. Une caractéristique de la biologie des nématodes est leur capacité de survie très importante qui peut être supérieure à 5 ans. En effet, si les conditions extérieures sont défavorables, les nématodes entrent dans un cycle de quiescence pendant lequel leurs fonctions biologiques sont arrêtées. Dès que des conditions favorables sont restaurées, ils terminent alors leur cycle biologique (LAMBERTI, 1975 et ANTONIOU, 1989).

1.5.3. Morphologies :

Les *Longidorus*, *Paralongidorus* et *Xiphinema* sont des nématodes de grande dimension car ils mesurent de 2 à 12 mm de long au stade adulte. Ils sont vermiformes à tous les stades de leur développement. Pour l'ensemble des *Longidoridae*, la morphologie de leur appareil alimentaire est semblable. Ils ont un long stylet creux de 60 à 250 μm au stade adulte qui permet d'atteindre les zones vasculaires des jeunes racines. Dans sa partie antérieure, le stylet est formé de l'odontostyle, partie la plus rigide du stylet, qui est élaboré par une cellule située dans la paroi de l'œsophage. Les larves en possèdent deux : le premier Fonctionnel et le second situé plus bas dans la paroi de l'œsophage.

Ce dernier devient fonctionnel lors de la mue, lorsque le nématode perd son odontostyle en même temps que sa cuticule. La partie postérieure du stylet est l'odontophore dont la partie basale est reliée aux muscles pro-tracteurs qui permettent de faire sortir entièrement l'odontostyle (DEMANGEAT, 2007).

Chez *X. index* les femelles mesurent 2.9 à 3.3 mm, Les males sont rares. la région céphalique est non individualisées et l'appendice caudal et petit est largement soudé à la queue (DALMASSO, 1968, SIDDIQI, 1974). L'utérus est sans organe Z. l'œuf peut atteindre 250 μm (DALMASSO, 1968)(Fig.16).

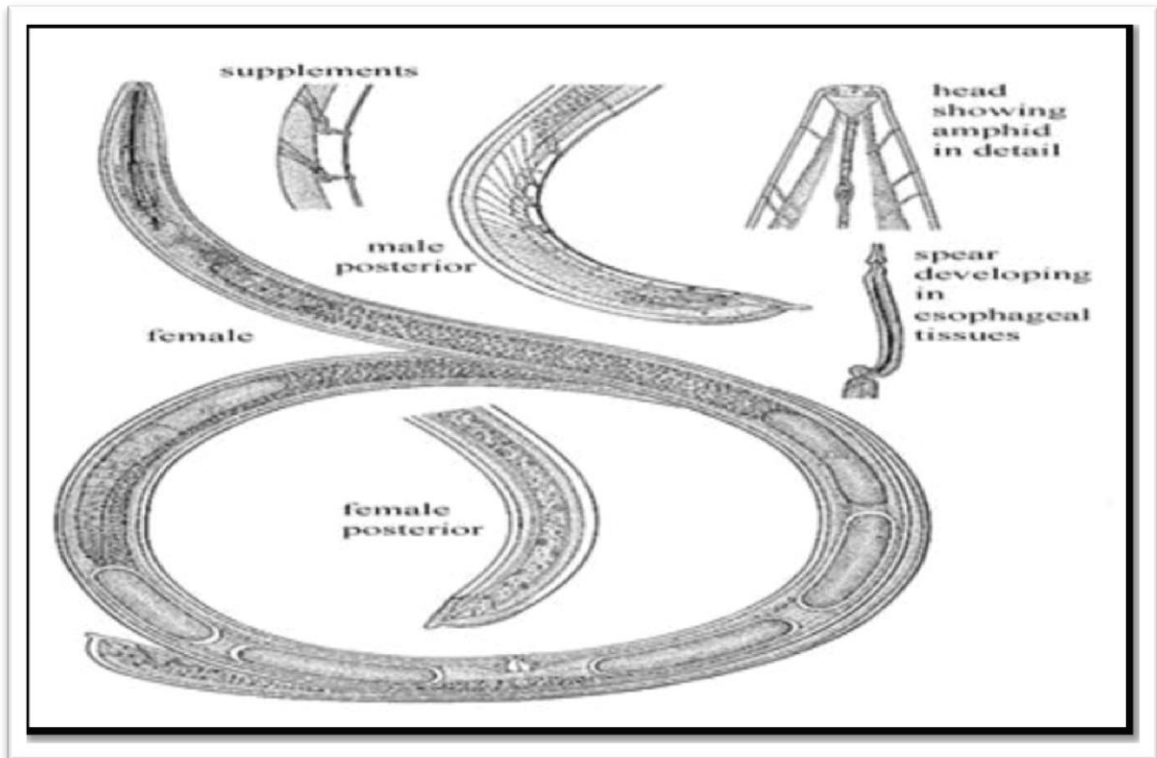


Figure 16 : Morphologie de *X. Index* (ANONYME, 2014)

1.5.4. Alimentation et transmission :

L'acquisition et la transmission de particules virales sont deux étapes directement liées au comportement alimentaire des nématodes. Chez les *Longidoridae*, les nématodes explorent la surface des cellules de racines avec leurs lèvres, afin d'identifier une région propice à la prise alimentaire.

La cellule est ensuite pénétrée par une poussée rapide de l'odontostyle. Le stylet est entièrement sorti et la racine est pénétrée sur une épaisseur de plusieurs cellules. Après la perforation des cellules, le contenu des glandes salivaires, associées au bulbe oesophagien, est déversé dans la cellule.

Ces sécrétions permettent de liquéfier le cytoplasme cellulaire de façon à permettre l'ingestion, les organites cellulaires ne pouvant pas être assimilés directement (WYSS, 2000). L'ingestion, qui peut durer plusieurs heures, s'effectue par des contractions du bulbe oesophagien entrecoupées de périodes d'arrêt de quelques minutes, pendant lesquelles le processus de salivation est repris. L'odontostyle est finalement retiré et la prise alimentaire s'achève par quelques

contractions du bulbe oesophagien. Un nématode peut vider le contenu d'une quarantaine de cellules par heure. C'est au cours de ces étapes d'alimentation, pendant lesquelles des échanges entre la plante et le nématode sont réalisés, que se déroule la transmission des particules virales (BROWN et *al.*, 1998).

Les particules virales sont ingérées par le nématode avec la nourriture, puis retenues spécifiquement au niveau de l'appareil alimentaire et enfin relâchées lors du flux des sécrétions.

Produites par les glandes salivaires. L'efficacité de ces trois étapes, et en particulier celle de l'étape d'adsorption et de relargage des particules virales, détermine la capacité du nématode à être un vecteur efficace ou non des virus (BROWN et *al.*, 1998)(Fig.17)

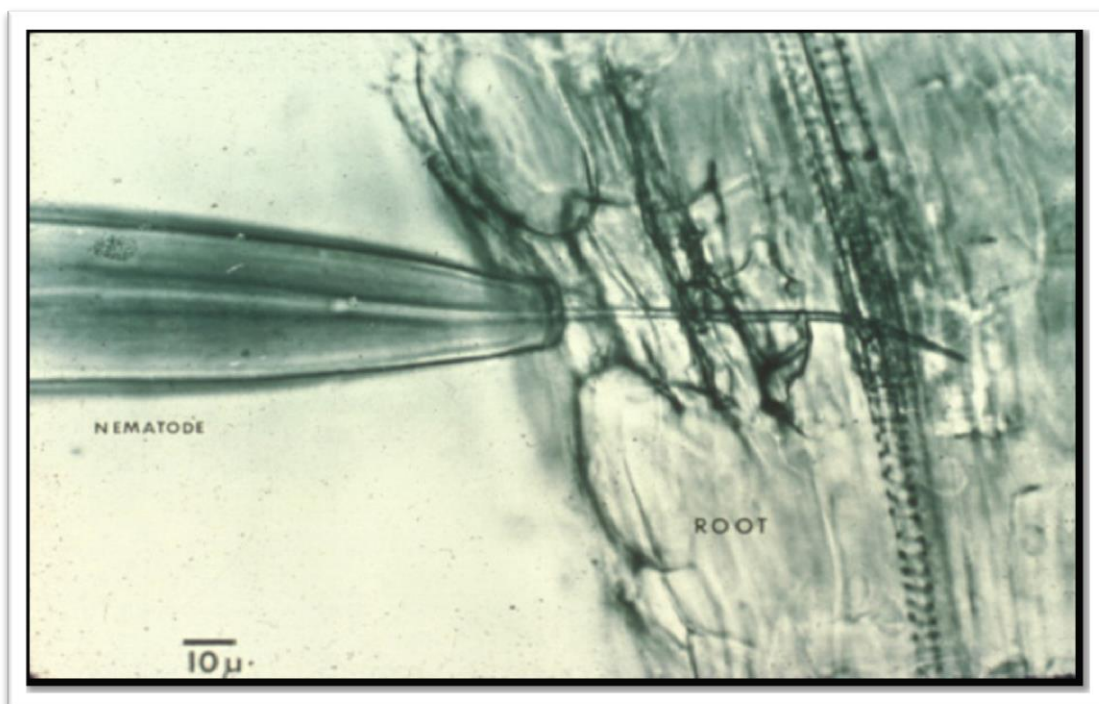


Figure 17: Mécanisme d'inoculation du virus par le nématode *X. index*(LEMAIRE et *al.*, 2013)

1.5.5. Site de rétention des particules virales :

Dans les nématodes vecteurs, les particules virales sont adsorbées en des sites précis probablement en association avec un récepteur présent au niveau de la cuticule interne de l'appareil alimentaire. L'observation de coupes ultrafines réalisées à partir de nématodes virulifères ont permis de montrer que, chez les *Longidorus* et

sans doute les *Paralongidorus*, les particules virales sont présentes exclusivement entre l'odontostyle et la membrane «guide» (ROBERTS et al., 1980).

Chez les *Xiphinema*, les particules virales se répartissent sur un segment de l'appareil alimentaire beaucoup plus long que chez les *Longidorus* (Fig.18). Elles sont adsorbées en une monocouche tapissant la cuticule de l'odontophore, de l'oesophage et du bulbe oesophagien (TAYLOR et al., 1970 ; TAYLOR et al., 1997 ; ROBERTS et al., 1980) mais surtout la partie antérieure de l'odontophore (MARTELLI et al., 1990).

Les *Longidorus* et les *Xiphinema* diffèrent par leurs sites de rétention des particules virales. Cette différence de localisation et de surface de rétention explique probablement la différence du temps de conservation des particules virales entre les deux genres de nématodes. En effet, le temps de rétention des particules virales est beaucoup plus important chez les *Xiphinema* comparé au *Longidorus*. À chaque mue, les particules virales sont éliminées parce que la cuticule qui recouvre le tractus alimentaire et l'odontophore est éliminée en même temps que l'odontostyle. Les nématodes ne sont plus virulifères après la mue et doivent se réalimenter sur une plante (Fig.18).

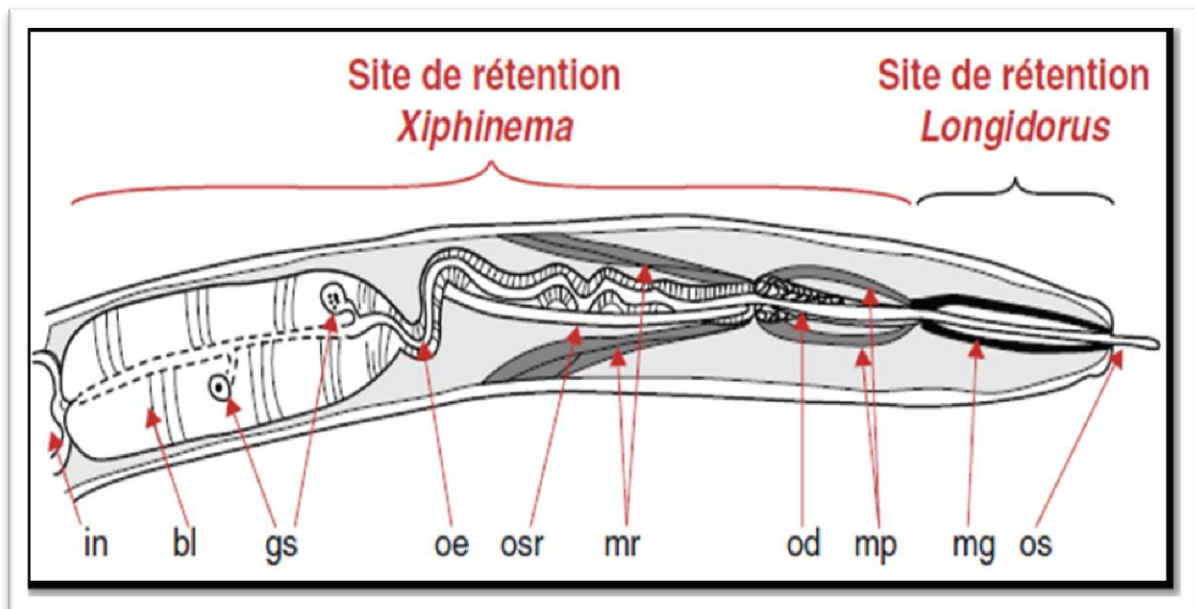


Figure 18 : Partie antérieure des *Longidoridae* (stade larvaire)

In: intestin, **bl**: bulbe muscloglandulaire, **gs**: glandes salivaires, **oe** : oesophage,
osr : odontostyle de remplacement, **mr** : muscle rétracteur, **od** : odontophore,
mp : muscle protracteur, **mg** : membrane guide, **Os** : odontostyle. (DEMANGEAT, 2007)

1.5.6. Spécificité de l'interaction virus- nématode vecteur :

L'adsorption des virus est un phénomène sélectif, qui implique des récepteurs spécifiques situés au niveau de l'appareil digestif du nématode (BELIN *et al.*, 2001).

Cette spécificité concerne principalement les *Longidoridae*, vecteurs présents en Europe. Elle est relativement complexe et se situe à différents niveaux. En effet, l'analyse des associations virus/vecteur a mis en évidence que certains *Nérovirus* sont associés à une espèce définie de nématode (DEMANGEAT, 2007).

Pour qualifier la nature des associations entre virus et vecteur, (BROWN et WEISCHER, 1998) (Roberts *et al.*, 1980) ont proposé le concept d'association « exclusive » et « complémentaire ». D'après ce concept, l'exclusivité correspond aux situations où une espèce de nématode transmet un virus ou une souche virale sérologiquement caractérisée. Réciproquement, ce virus ou cette souche virale n'est transmise que par un seul vecteur (Fig.19).

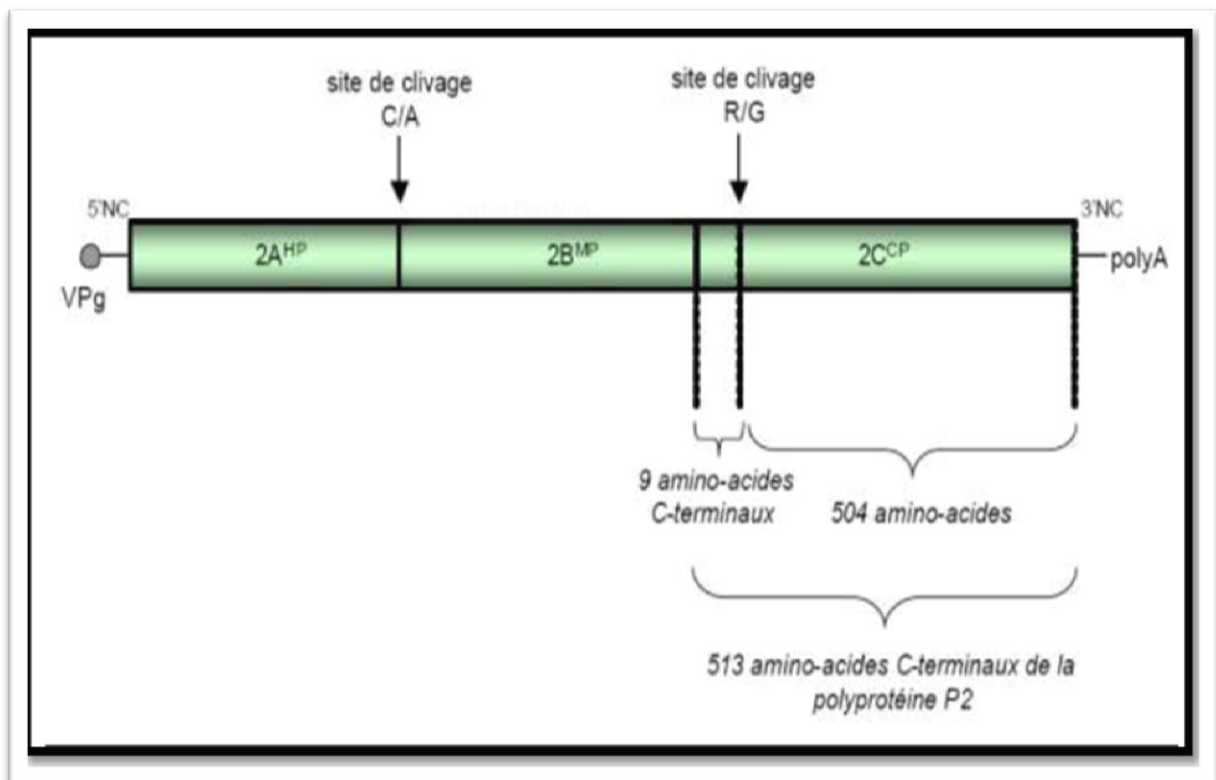


Figure 19: Acides aminés responsables de la spécificité de transmission (polyprotéine P₂) (ANDRET, 2005).

2.1. Sites prospectés :

Les prospections sur terrain ont été effectuées sur plusieurs vignobles durant la campagne viticole 2016/2017 où plusieurs prélèvements furent réalisés. Les prélèvements des échantillons ont été réalisés des stations, cépages et régions distinctes qui sont réparties comme suit :

2.1.1. Station N°1 :

Les vignobles se situent dans la station de AHMER-EL-AIN à 20 km à Sud d'Est du chef-lieu de la Wilaya de TIPAZA à 150 m d'altitude. Les 2 parcelles échantillonnées se présentent comme suit :

Parcelle 1 : la première parcelle est occupée par le *Gros noir*, sa superficie est de 10 ha âgé de 32 ans. Greffée sur le porte greffe SO4 et plantée en ligne (P₁) (Fig.20).

Parcelle2 : occupée par le *Datier de Beyrouth*, sa superficie est 8 ha âgé de 28 ans. Greffée sur le porte greffe SO4 et plantée en ligne(Fig.20).



Figure 20 : Parcelles échantillonnées de l'exploitation de AHMER- EL- AIN (GOOGLE EARTH, 2017).

2.1.2 Station N°2 :

Les vignobles se situent dans la station de MEFTAH à 41 km au nord-est du chef-lieu de la Wilaya de BLIDA à moins de 500 m d'altitude. La parcelle échantillonnée se présente comme suit :

Parcelle1 : est occupée par le *Cardinal*, sa superficie est de 3 ha greffée sur le porte greffe SO4 et plantée en ligne (P_1) et âgé de 13 ans (Fig.21).



Figure 21 : parcelle échantillonnée de l'exploitation de MEFTAH (GOOGLE EARTH, 2017).

2.1.3. Station N°3 :

Les vignobles se situent dans la station de MOUZAIA à 14 km l'ouest du chef-lieu de la Wilaya de BLIDA à 100 m d'altitude. La parcelle échantillonnée se présente comme suit :

Parcelle1 : est occupée par le *Cardinal*, sa superficie est de 3 ha greffée sur le porte greffe SO4 et plantée en ligne (P_1) et âgé de 15 ans (Fig.22).



Figure 22 : parcelle échantillonnée de l'exploitation de MOUZAIA (GOOGLE EARTH, 2017).

2.2 Méthode de prélèvement et de conservation des feuilles :

Les prélèvements des échantillons de feuilles sont ciblés et raisonnés. La collecte des feuilles est effectuée sur différents ceps présentant les symptômes typiques du court noué de la vigne. Les échantillons ont été mis directement dans des sachets en papier pour éviter leur séchage et toutes les informations nécessaires ont été notées (Fig. 23).

Les sachets en papier contenant les feuilles sont conservés au réfrigérateur à une température de 4°C.



Figure 23: Conservation des feuilles dans un sachet en papier (PERSONNELLE, 2017).

2.3 Méthode d'échantillonnage du sol :

Selon les normes AFNOR X 31-100, avant tout prélèvement pour une analyse nématologique, il est important de repérer des zones homogènes caractérisées par un même aspect végétatif de la culture, une localisation des symptômes, un même précédent cultural, un même historique cultural et toute autre caractéristique identique ; repérer les zones particulières et les exclure du prélèvement, il s'agit de zones telles que : points hauts, points bas, zones où des produits ont été entreposés (fumier, amendements...), anciens chemins, affleurements rocheux, bordures (haies), zones ayant subi des engorgements suite à des accidents d'irrigation ou de drainage (COYNE et *al.*, 2010).

Nous avons ensuite réalisé des prélèvements de sol selon les travaux de (COYNE et *al.*, 2010). Pour chaque parcelle prospectée, 10 sous échantillons ont été prélevés au niveau de la rhizoplan des pieds présentant des symptômes sur une profondeur allant de 30 à 70 cm, à l'aide d'une tarière ou d'une pioche, pour former un échantillon composite de 1 à 2 kg où ils sont récupérés dans des sacs en plastique fermé hermétiquement pour éviter le dessèchement. Chaque sac porte des références permettant leur identification.

Les échantillons du sol sont conservés à une température de 4 °C pendant une semaine.

2.4 Analyse nématologique du sol :

2.4.1 Méthode d'extraction des nématodes du sol :

Le choix de la méthode d'extraction dépend des conditions techniques et du matériel disponible, du type d'échantillon et des espèces de nématodes. Quelques méthodes tandis que d'autres sont plus générales. Dans ce travail, nous avons utilisé la méthode des seaux de (DALMASSO, 1968), dite aussi méthode de flottation et de sédimentation. Elle est basée sur les différences de densité entre les nématodes et les différentes particules du sol. Elle nous permet d'extraire les nématodes de taille différente en superposant des tamis à différentes mailles.



Figure 24 : Matériels utilisés dans l'extraction de nématode du sol (PERSONNELLE, 2017).

2.4.2 Procédé d'extraction :

Selon (Fig.25), les sols sont préalablement bien homogénéisés sur un plateau (Fig.25A). A partir des échantillons du sol, on prépare dans un bécher 250ml de sol (Fig.25B). Cette quantité est délayée à travers le tamis (2mm) dans un seau (Fig.25C). Le tamis va retenir les gros cailloux, le sable grossier et les débris organiques. Le contenu du seau est ensuite versé dans un deuxième seau en plastique qui est ajusté à 6 ou 7 litres d'eau (Fig.25D).

A l'aide d'un bâton, on mélange le contenu du seau pour mettre en suspension les nématodes et les particules du sol (Fig.25D). On laisse 30 à 60 secondes pour que l'eau se stabilise sans qu'elle s'arrête totalement de tourbillonner (Fig.25E). On verse le surnageant sur le tamis de 50 μ m qui va retenir les nématodes (Fig.25F). On récupère successivement le contenu à l'aide d'un jet d'eau de pissette dans un cristallisoir (Fig.25G). L'opération est répétée 3 à 4 fois pour récupérer le maximum de nématodes.



Figure 25: Etapes d'extraction des nématodes et le passage actif (PERSONNELLE, 2017)

2.4.3 Purification par passage actif des nématodes :

On procède à la purification par passage actif des nématodes car la solution obtenue après extraction est boueuse. Cela rend l'observation des nématodes impossible à ce stade. Pour cela on a :

- Préparer les tamis en plastique avec du papier filtre humidifié (Fig.26H).
- Passer le contenu du cristalliseur pour chaque échantillon, à travers les tamis précédemment préparés celui-ci est placé au préalable dans des assiettes en plastiques (Fig.26H).
- Laisser la diffusion pendant 3 jours (Fig.26I).

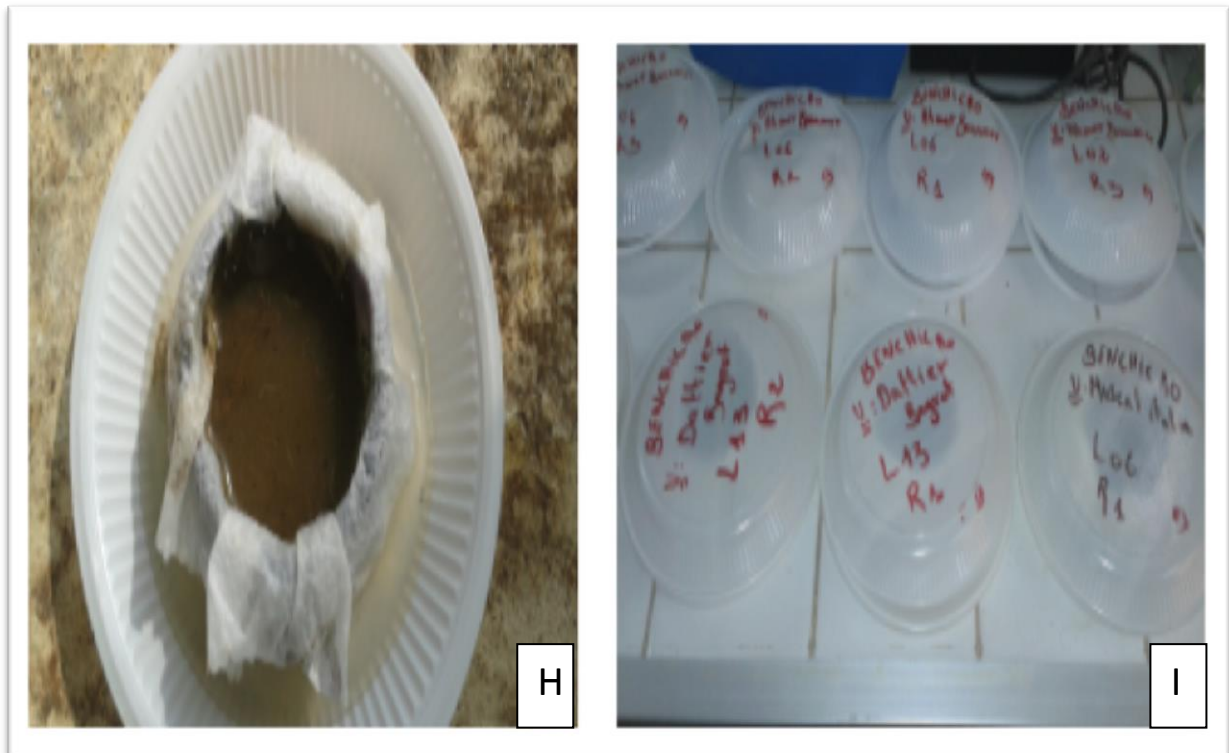


Figure 26 : Procédé de purification actif des nématodes (PERSONNELLE, 2017).

2.4.4 Méthode de dénombrement des nématodes :



Figure 27 : Matériel de dénombrement des nématodes (PERSONNELLE, 2017).

Méthode :

Les populations de nématodes du sol sont exprimées en nombre de nématode par dm^3 (N/dm^3) (Fig.28).

Selon MERY et LUS (1996), pour évaluer la densité totale des nématodes et celles des taxons dans nos échantillons et après avoir passé un délai de 3 jours, le contenu de chaque assiette est versé dans les tubes à essai de 50 ml (Fig.28A). et laisser se décanter pendant 1 h (Fig.28B). Puis on réajuste à 25 ml la solution obtenue dans un tube (Fig.28C&D). Après homogénéiser le contenu des tubes (Fig.28E). Et on prélève 5 ml puis on les verse dans la cellule de comptage (Fig.28F). On procède au dénombrement et l'identification morphologique en se basant sur l'observation sous la loupe binoculaire (Gx4) (Fig.28G). De certains caractères discriminants (la longueur et la forme du stylet, la forme de la tête et de la queue et la longueur du corps) (Fig.28H).

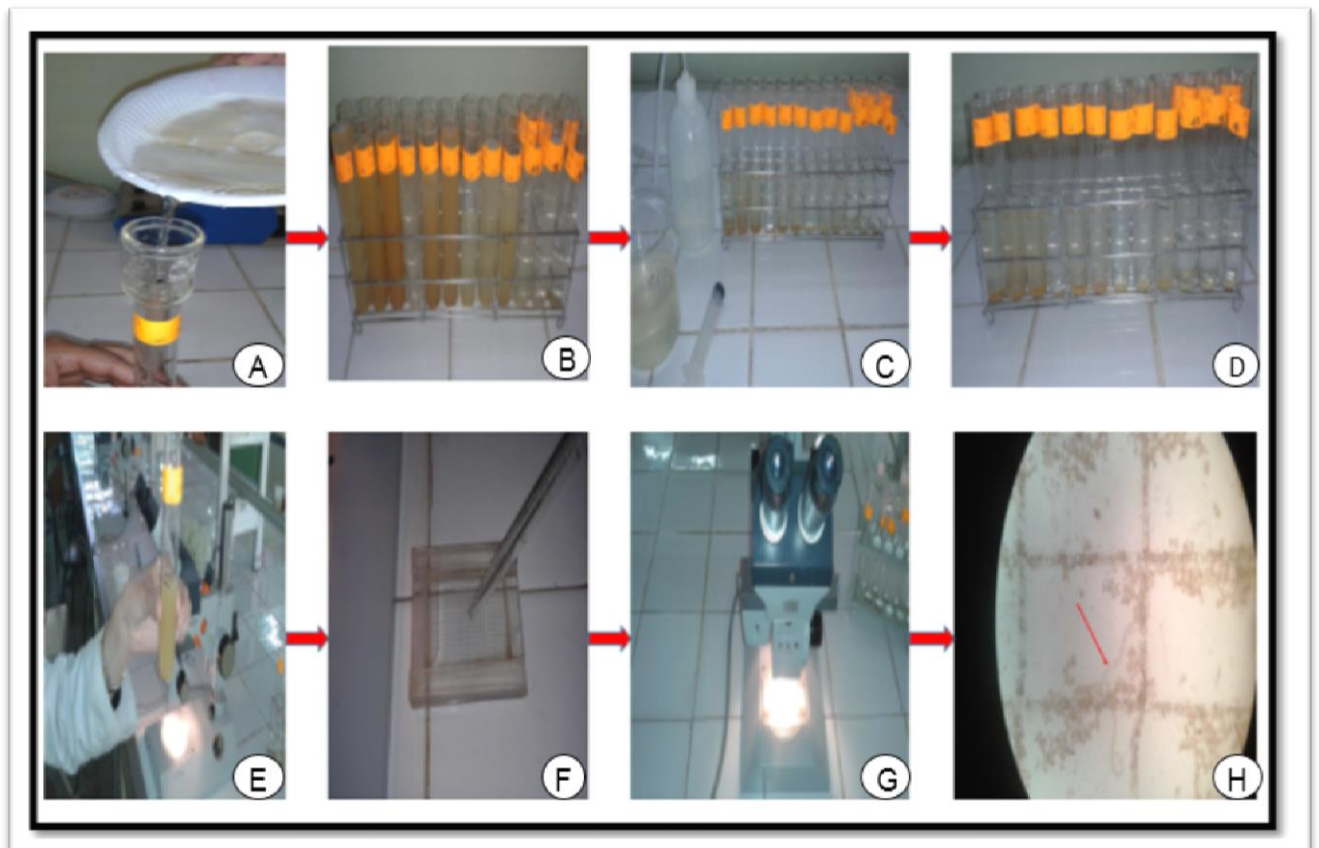


Figure 28 : Etapes de dénombrement et identification morphologique des nématodes

(PERSONNELLE, 2017).

3.1. Analyse symptomatologique :

Dans les vignobles étudiés et au niveau des 3 stations prospectées (AHMER-EL-AIN, MOUZAIA, MEFTAH) plusieurs symptômes foliaires et corticaux rappelant ceux du court-noué ont été observés. D'une manière générale on a noté deux syndromes distincts du court-noué sur différentes cépages de vigne : la malformation des feuilles, des sarments et des grappes, le changement de la pigmentation des feuilles.

3.1.1. Malformation des sarments et des feuilles :

3.1.1.1. Sur les sarments :

Les symptômes observés étaient des raccourcissements et déformation des entre-nœuds, double nœuds, bifurcation et aplatissement des sarments.

a) Raccourcissement et déformation des entre-nœuds :

Ce symptôme était le plus fréquent dans la station de MEFTAH sur le cépage *Cardinal* (Fig.29).



Figure 29 : Raccourcissement des entre-nœuds Station de MEFTAH sur le cépage *Cardinal* (PERSONNELLE, 2017).

b) Double nœuds :

Ce symptôme était le plus rencontré dans la station de MEFTAH sur le cépage *Cardinal*(Fig.30).



Figure 30: Double nœuds station de MEFTAH cépage *Cardinal* (PERSONNELLE, 2017)

c) Bifurcation :

Les symptômes de bifurcations des sarments ont été observés sur deux stations : AHMER-EL-AIN sur le cépage *dattier de Beyrouth* et MEFTAH sur le cépage *Cardinal* (Fig.31).

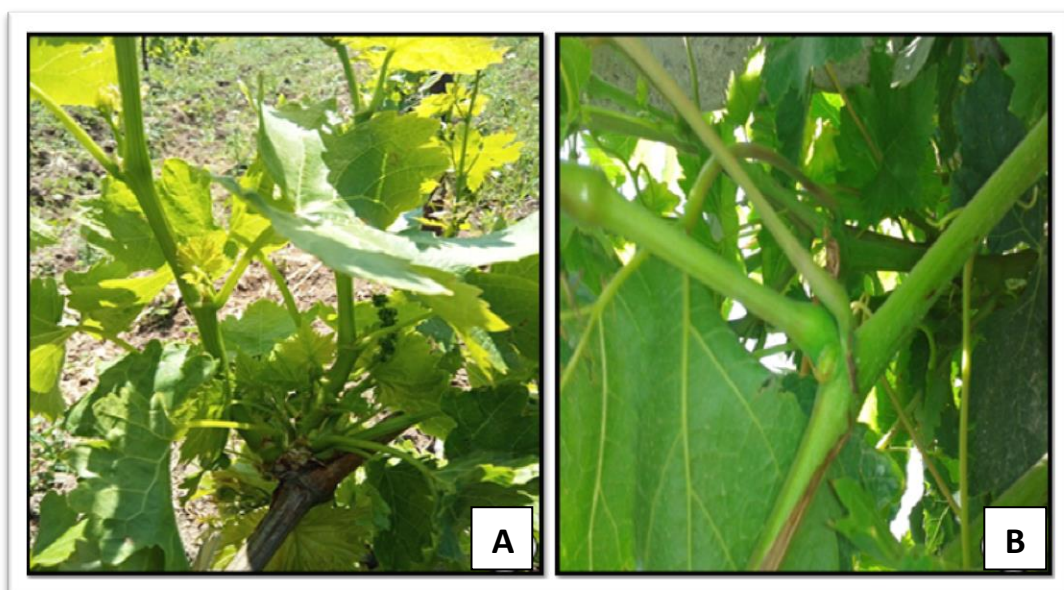


Figure 31 : bifurcations des sarments

A: Station de AHMER-EL-AIN sur le cépage *dattier de Beyrouth*,

B : Station de MEFTAH sur le cépage *Cardinal* (PERSONNELLE, 2017)

d) Aplatissement des serments :

Ce symptôme a été observé uniquement dans la station de AHMER-EL-AIN sur le cépage *Gros noir* (Fig.32).



Figure 32 : Aplatissement du sarment, station de AHMER-EL-AIN
Sur le Cépage *Gros noir* (PERSONNELLE, 2017)

3.1.1.2. Sur les feuilles :**a) Déformations et modification de l'aspect du limbe :**

Ce symptôme a été relevé sur les cépages *Cardinal* au niveau de la station de MEFTAH (**Fig.33**).



Figure 33 : Déformation du limbe, Station de MEFTAH sur le cépage *Cardinal* (PERSONNELLE, 2017).



Figure 34 : Modification du limbe Station de MOUZAIA sur le cépage *Cardinal* (PERSONNELLE, 2017).

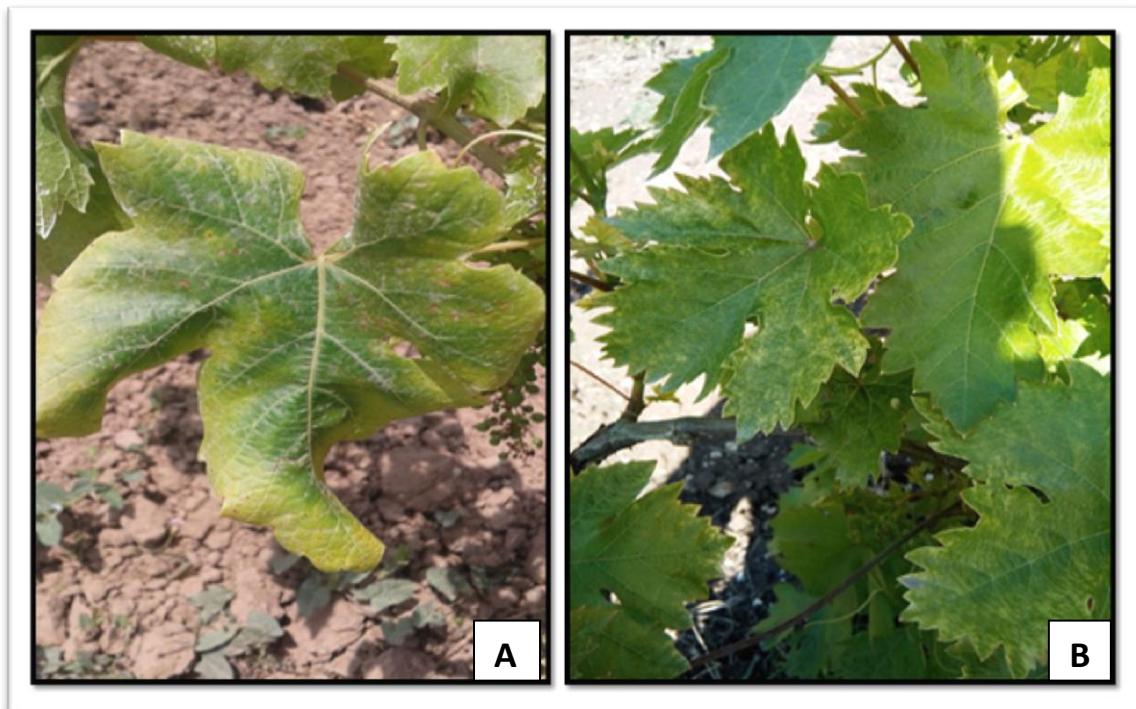


Figure 35 : Modification de l'aspect du limbe

A: station de MOUZAIAsur le cépage *Cardinal*, **B**: station de AHMER-EL-AIN sur le cépage *Dattier de Beyrou*t (PERSONNELLE, 2017).

b) Echancrure du limbe :

Ce symptôme a été observé uniquement sur le cépage *Cardinal* dans la station de MEFTAH (**Fig.36**).



Figure 36 : Echancrure du limbe
Station de MEFTAH sur le cépage *Cardinal* (PERSONNELLE,2017)

3.1.1.3 : Sur les grappes :

Des anomalies ont été observées pratiquement sur le cépage *Cardinal* dans la station de MEFTAHA. Il s'agit de la réduction du nombre des baies et de la taille des grappes, coulure partielle ou totale des grappes (Fig.37&38).



Figure 37 : Réduction de la taille de grappe
Station de MEFTAH sur le cépage *Cardinal* (PERSONNELLE,2017)



Figure 38: Réduction du nombre des baies
Station de MEFTAH sur le cépage *Cardinal* (PERSONNELLE, 2017)

3.1.2. Changement de la pigmentation des feuilles :

Les symptômes observés sur les feuilles étaient des taches annulaires chlorotiques, mosaïque des feuilles, jaunissement total et partiel des feuilles, panachure réticulée et panachure ordinaire.

a)Taches annulaires chlorotiques :

Ce symptôme a été observé dans la station de MOUZAIA sur le cépage *Cardinal* (Fig. 39).



Figure39:Taches annulaires chlorotiques.

Station de MOUZAIA sur le cépage *Cardinal* (PERSONNELLE, 2017).

b) Mosaïque des feuilles :

Ce symptôme a été observé sur le cépage *Gros noir* dans la station de AHMER-EL-AIN et sur le cépage *Cardinal* dans la station de MOUZAIA (Fig.40).

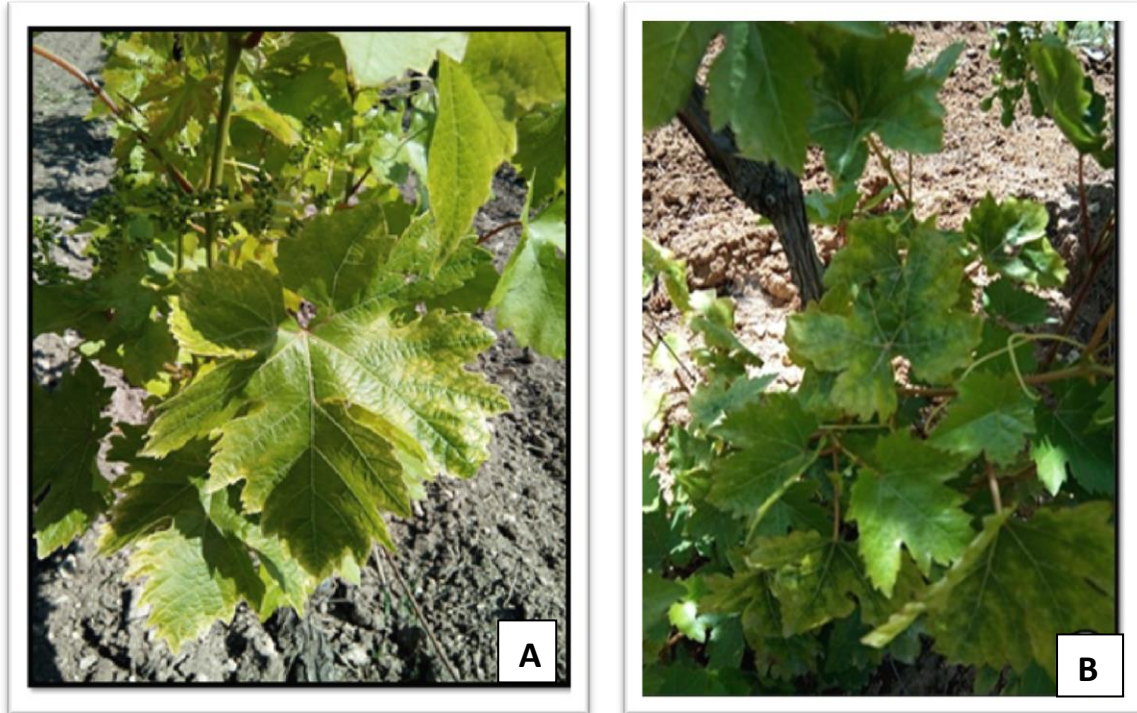


Figure 40 : Mosaïque sur les feuilles
A: Station AHMER-EL-AIN sur le cépage *Gros noir*, B: Station MOUZAIA sur le cépage *Cardinal* (PERSONNELLE, 2017)

c) Jaunissement des feuilles :

Le symptôme de jaunissement total a été observé dans la station de AHMER-EL-AIN sur le cépage *Gros noir* et le symptôme de jaunissement partiel a été observé dans la station de MEFTAH sur le cépage *Cardinal* et dans la station de AHMER-EL-AIN sur le cépage *Dattier de Beyrouth* (Fig.41&42).



Figure 41 : Jaunissement total des feuilles,
Station de AHMER-EL-AIN cépage *Gros noir* (PERSONNELLE, 2017).

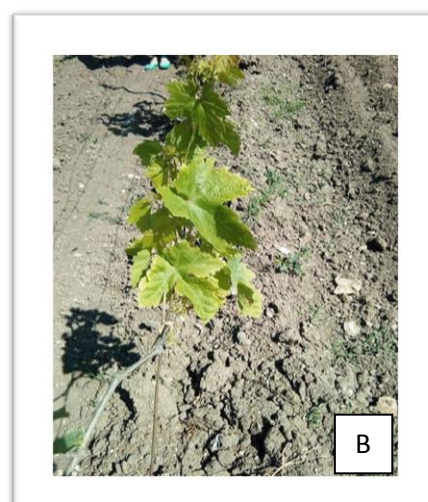


Figure 42 : Jaunissement partiel des feuilles,
A : Station de MEFTAH sur le cépage *Cardinal* ; B : station de AHMER-EL-AIN sur le cépage *Dattier de Beyrouth* (PERSONNELLE, 2017).

d) Panachure des feuilles :

La panachure des feuilles (panachure ordinaire et panachure réticulée) est le symptôme le plus fréquent sur les cépages *Cardinal* dans la station de MOUZAIA, et dans la station de MEFTAH, *Gros noir* dans la station de AHMER-EL-AIN (Fig.43)

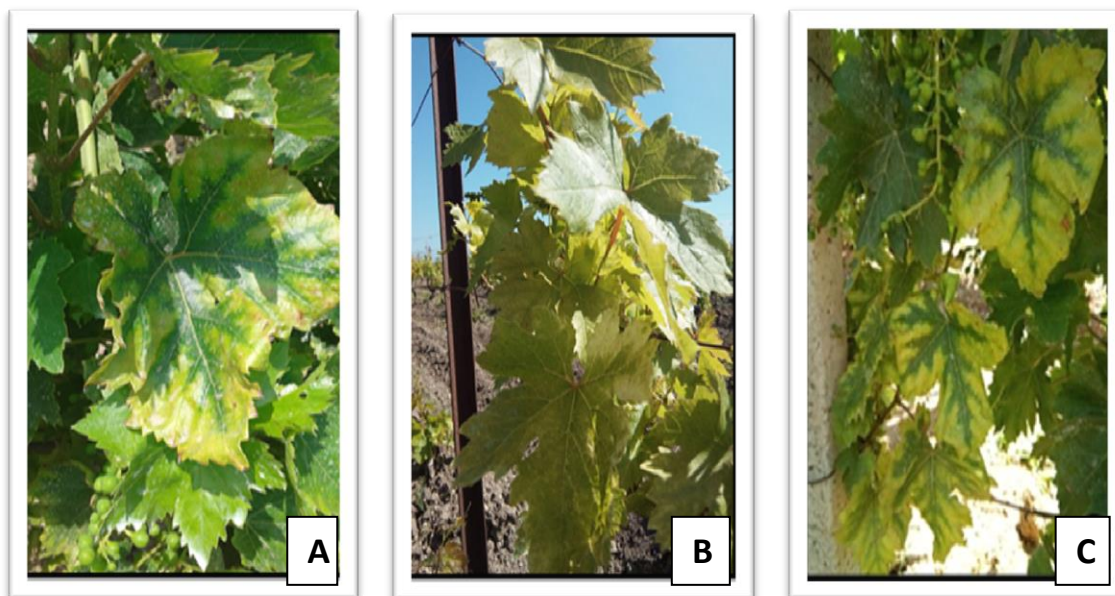


Figure 43 : Panachure ordinaire

A: Station de MOUZAIA sur le cépage *Cardinal*, **B:** de AHMER-EL- AIN sur le Cépage *Gros noir*, **C:** station de MEFTAH sur le cépage cardinal (PERSONNELLE,2017).

e) Enroulement des feuilles :

Seul le cépage *Cardinal* dans la station de MOUZAIA a extériorisé ce symptôme (Fig.44).



Figure 44 :enroulement des feuilles

Station de MOUZAIA sur le cépage *Cardinal* (PERSONNELLE, 2017).

f) Nanisme :

Cesymptôme a été observé uniquement sur le cépage *Cardinal* dans la station de Mouzaia (Fig.45).



Figure 45 : Symptôme de nanisme station de MOUZAIA cépage *Cardinal* (PERSONNELLE,2017).

Discussion des résultats :

L'ensemble des symptômes foliaires observés sur les cépages de vigne rappellent ceux provoqués par le *GFLV*. Il s'agit des raccourcissements des entre-nœuds, double nœuds aux niveaux des sarments, bifurcations, aplatissement des sarments, déformation et modification de limbe, mosaïque, panachure, des taches annulaires chlorotiques sur les feuilles. Ces symptômes étaient présents pendant la période d'avril à Mai, période favorable à la détection symptomatologique du *GFLV*.

Ces symptômes ont été observés et signalés par BEN FREHA (1983), MELOUK (2002), et par TABOUCHE (2005) à l'ouest de Mascara sur le cépage *Ahmer-Bou-amer* et dans la région de BEN CHICAO par HADJI (1991) et MORSLI (1995). MARTELLI (1985) a signalé des cas très graves du *GFLV* sur plusieurs cépages de vigne à l'ouest du pays (Mascara), au centre (MITIDJA, TIPAZA ET MEDEA).

Dans la région de Montpellier des symptômes du court-noué de type raccourcissement des entre-nœuds, déformations des feuilles et coulure des grappes ont été décrits par CAZALIS (1852) et MARES (1856).

D'après les observations en plein champs au niveau des stations prospectées : MEFTAHA, MOUZAIA et AHMER-EL-AIN qui sont occupées respectivement par les cépages : *Dattier de Beyrouth*, *Gros noir*, et *Cardinal*. Les symptômes les plus caractéristiques du court-noué : jaunissement des feuilles, panachure des feuilles, déformation du limbe, mosaïque, tache annulaire chlorotique sur les feuilles, bifurcation, raccourcissement des entre nœuds, double nœuds, ces symptômes étaient variables d'une station à une autre. Le symptôme le plus sévère observé est l'aplatissement des sarments dans la station AHMER-EL-AIN sur le cépage *Gros noir*.

Cependant cette symptomatologie directe ne nous a pas permis de nous prononcer de façon certaine sur la présence du *GFLV*, en raison de l'existence des confusions possibles entre ce dernier et autres maladies relatives aux autres pathogènes divers champignons : un *myxomycète*, des *mycorhizes*, le *Pumillus medullae* ou maladie de la moelle, un champignon endophyte, par erreur de coloration ou facteurs abiotiques : humidité du sol, terres compactes, insuffisance de

La pression osmotique (GALET, 1999).

3.2 Analyse nématologique :

L'analyse nématologique faite au laboratoire des différents prélèvements du sol durant la période expérimentale a révélé la présence de genre *Xiphinema* (Fig.46) (Dr NEBBIH) (comm perso.) et autres espèces phytophages et non phytophages dans toutes les régions, dont leurs densités varient en fonction des stations prospectées, BLIDA (MEFTAH ET MOUZAIA), TIPAZA (AHMER-EL AIN).

Après comptage des espèces de nématodes nous avons constaté la variabilité de la population de nématodes selon les stations prospectées.

3.2.1 Abondance des espèces de *Xiphinema sp* en fonction des cépages :

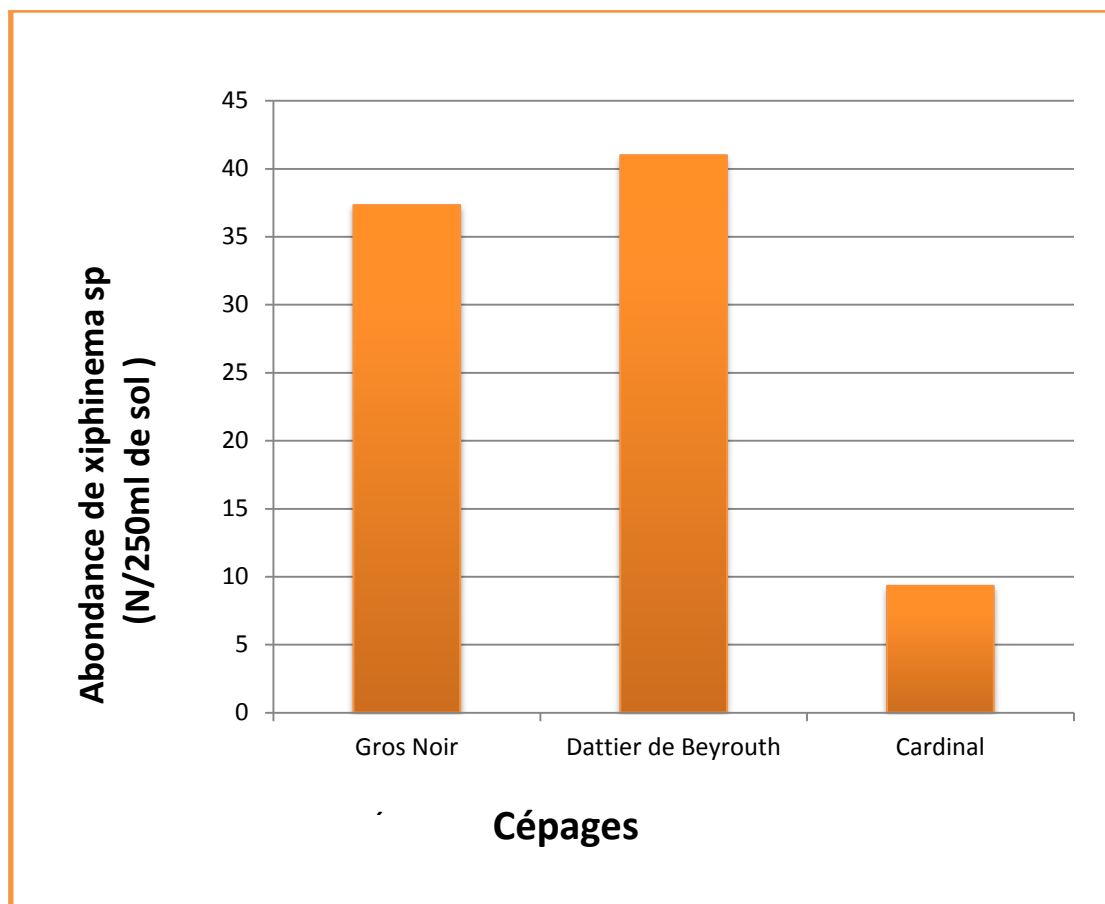


Figure 47: Abondance des espèces de *Xiphinema sp* en fonction des cépages.

Selon la figure 47, les espèces du genre *Xiphinema* a varié en fonction des cépages. Le cépage *Dattier de Beyrouth* a montré une moyenne élevée des espèces de *Xiphinema* (41 individus). Pour le cépage *Gros noir* nous avons dénombré 38 individus, et pour le cépage *Cardinal* nous avons 9,33 individus.

3.2.2 Abondance des espèces de *Xiphinema sp* en fonction des régions

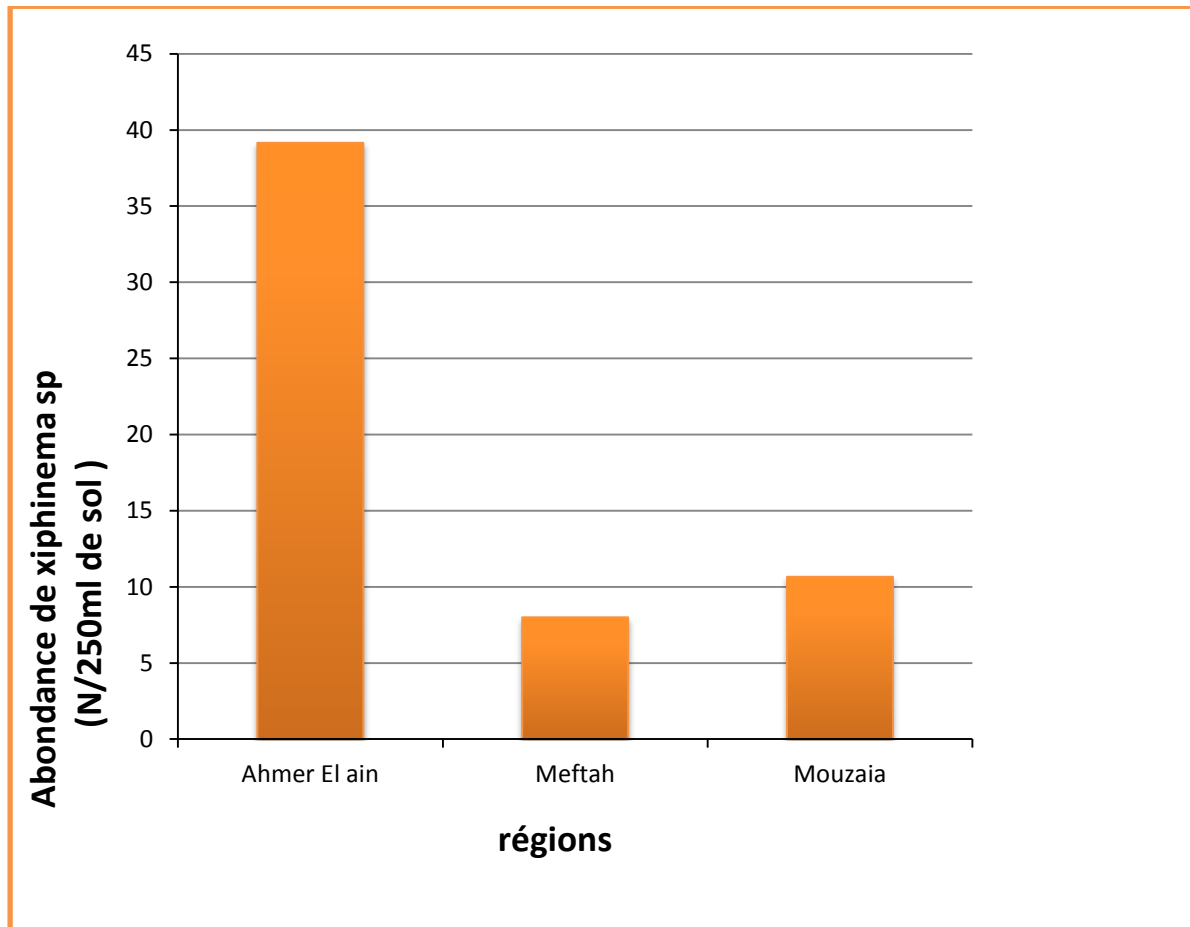


Figure 48 : Abondance des espèces de *Xiphinema sp* en fonction des régions

Selon la figure 48, les espèces du genre *Xiphinema* varie en fonction des régions. Le vignoble de AHMER EL AIN a montré une moyenne élevée des espèces de *Xiphinema* (39,16 individus), Pour le vignoble MEFTAH nous avons dénombré 8 individus, et pour le vignoble MOUZAIA nous avons 10,66 individus.

Discussion :

L'analyse nématologique du sol des différentes stations a montré la présence de *X. index* vecteur exclusif du *GFLV* dans la majorité des stations Blida et Tipaza sur les cépages *Cardinal*, *Gros Noir*, et *Dattier de Beyrouth* confirmant ainsi par les résultats des prospections symptomatologiques. Le genre de *Xiphinema* a été identifié dans tous les vignobles prospectés, il est adapté aux différents sols et aux différents étages bioclimatiques algériens qui semblent être particulièrement favorables.

L'effectif de *Xiphinema* dans les vignobles de *Dattier de Beyrouth* est élevé par rapport aux autres cépages donc celui-ci peut attirer les espèces de *Xiphinema sp.* L'abondance de *Xiphinema sp* vecteur du court-noué dans le vignoble de Ahmer-El-ain probablement liée à la texture, la structure du sol et l'âge des vignoble convient bien le développement de ce genre.

En Tunisie dans la région de Rafrat, Trabelssi (1999), a rencontré seulement cinq genres représentés par des espèces s'avérant parasites de la vigne permis au genre *Xiphinema*. Nos résultats sont aussi comparables à ceux de Gracia de Lujan (2007) sur vignobles Espagnol, avec une grande abondance de différents ordres parmi eux les *Dorylaimide* représentés par le genre *Xiphinema*.

En conséquence, cette variation du nombre d'espèces de *Xiphinema* dans les différents prélèvements effectués à partir de régions viticoles peut être liée aux facteurs suivant :

- ✓ âge des ceps
- ✓ la structure et la nature du sol
- ✓ la sensibilité des nématodes
- ✓ les travaux culturaux
- ✓ Mauvais contrôles des vignobles
- ✓ Mauvaise application des mesures de la lutte préventive contre les parasites

La vigne occupe une place stratégique dans l'agriculture de nombreux pays. Comme toute culture la vigne est une plante hôte à de nombreuses maladies car Le court-noué qui provoquée par des *Nepovirus* est l'une des viroses les plus graves de la vigne. Cette maladie entraîne une dégénérescence progressive ou un dépérissement de la vigne qui conduit à la mort des cépages.

Les prospections effectuées sur les vignobles Algériens dans différents régions et cépages: AHMER-EL-AIN (*Gros Noir et Dattier de Beyrouth*), MEFTAH(*Cardinal*), MOUZAIA (*Cardinal*).Les résultats symptomatologiques ont révélé la présence de diverses catégories de symptômes typiques du *GFLV* tels que raccourcissement et déformation des entre-nœuds, Double nœuds, Bifurcation, aplatissement des serments, déformations et modification de l'aspect du limbe, échancre du limbe, taches annulaires chlorotiques , mosaïque des feuilles Jaunissement des feuilles;panachure et enroulement des feuilles, nanisme. L'intensité des symptômes était variable d'une station à une autre et d'un cépage à un autre.

L'étude de la nématofaune des différentes stations prospectées a révélé la présence des nématodes du genre *Xiphinema*. Le nématode vecteur du *GFLV* *Xiphinema* était présent dans toutes les stations prospectées. La station de AHMER EL- AIN était la plus infestée avec une moyenne de 39,16 nématodes /250 ml de sol. Pour le cépage *Dattier de Beyrouth*, qui montré une effectif élevé des espèces de *Xiphinema* (41individus).

En perspectives dans le cadre de lutte contre cette maladie, il est difficile de contrôler le vecteur donc il faut utiliser de greffons et de porte-greffe exempts devirus est le meilleur moyen de lutte contre la dissémination de la dégénérescence infectieuse ou bien par l'utilisation de la thermothérapie lorsqu'un cépage est complètement virosé, il est nécessaire après l'arrachage de :

- Laisser le sol au repos
- Désinfecter les outils de travail lors de la taille et le greffage
- L'arrachage peut être précédé d'une dévitalisation des racines de la vigne qui réduit la survie des racines

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DE REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Aggad H., 1988:** Matériel, méthodes et techniques de détection des maladies à virus sur la vigne. Rapport de stage pratique. Italie.22 p.
2. **Antoniou M., 1989:** Arrested development in plant parasitic nematodes. Helminthol.Abstr; 58(Serie B) .Pp1-19 .
3. **Andret-Link P., Laporte C., Valat L., Ritzenthaler C., Demangeat G., Vigne E., Laval V., Pfeiffer P., and Stussi-Garaud C., Fuchs M., 2004:** Grapevine fanleafvirus: still a major threat to the grapevine industry. Jour. Plant Pathol: 86.Pp 183-195.
4. **Anonyme., 2006:**ICVG extended abstracts 15th Meeting ICVG, Stellenbosch, South Africa, 3 and 7 April 2006.
5. **Anonyme., 2007:** Sélection-clonale. L'institut Français de la Vigne et du Vin (IFV). Sec-1.367 p.
6. **Anonyme.,2009:**www.omafra.gov.on.ca/IPM/french/grapes/diseases-and-disorders/fanleaf.html #beginner.
7. **Anonyme., 2012:** http://bioweb.ensam.inra.fr/collections_vigne/Charte.html.
8. **Anonyme.,2013_(a):**Statistique agricole. Ed. Institut Technique de L'Arboriculture Fruitière et de la Vigne (ITAFV), 105 p.
9. **Anonyme.,2013_(b):**<http://ephytia.inra.fr/fr/C/7056/Vigne-Ecologie> épidémiologie.
10. **Anonyme., 2014 :** <http://www.nemachile.cl/xiphinema.html>.
11. **Anonyme., 2015:** <http://www.plantgrape.plantnet-project.org>.

- 12. Barbier S., Edel-Hermann V., Granereau G., Heraud C., Jimenez D., Martiny B., Mateille T., 2010** : Rapport de prospection nematologique ; écosystèmes résiduels ; landais 20-21 juillet 2010. Centre de biologie pour la gestion des Populations. Montpellier . 9 p.
- 13. Brada F., Tamoucht A., 2015** : Recherche et identification du nématode vecteur du virus de court-noue de la vigne (*GFLV*). Mém. Master. Département de biotechnologie. Fac. SNV. Univ. Blida 1.81 p.
- 14. Ben frehaZemouli F., 1983** : Revue critique des méthodes d'études des modifications intra structurales entraînés par le virus de la vigne : Essai d'adaptation de la méthode de Hirsch et Fedorko à l'étude du court-noué chez la sultanine. Mem. Ing. Agro. INA, El Harrach .37 p.
- 15. Belin C., Schmitt C., Demangeat G., Komar V., Pink L., Fuchs M., 2001** : Involvement of RNA2-encoded proteins in the specific transmission of Grapevine Fan leaf nepovirus by its nematode vector. *Virology*291.Pp 71-161.
- 16. Blouin J., 2005** : Les parasites de la vigne. Stratégie de protection raisonnée. Traduit de l'espagnol sous la direction de Daniel Gouarec par Gaulou-Brain. J. et Amos-Sanchez. A.2007.430 p.
- 17. Bovey R., Gartel W., Hewitt W.B., Martelli G.P., Vuittenez A., 1980** : Maladies à virus et affections similaires de la vigne. Ed. Payot, Lausanne .181 p.
- 18. Bouby L., Terral J-F., Figueiral I., Ivorra S., Lacombe T., Pastor T., Picq S., Buffat L., Fabre L., Jung C., Marinva P., Petitot H. et Tardy C., 2010** : La vigne sauvage (*Vitis vinifera* subsp. *silvestris*): une plante cultivée dans les établissements de la Narbonnaise. Exploitation Du milieu et gestion Des ressources végétales De la préhistoire nos jours. Éditions APDCA, Antibes .12 p.
- 19. Brown DJF, MacFarlane SA., 2001** : Worms that transmit viruses. *Biologist*48 Pp 35-40.

- 20. Brown DJF., Weischer B., 1998:** Specificity, exclusivity and complementarity in the transmission of plant viruses by plant parasitic nematodes: an annotated terminology. *FundamApplNematol*; 21Pp 1-11. Conference on virus and vector on Perennial Hosts, with Special Reference to Vitis: 353p.
- 21. Brückbauer H., Rüdel M., 1961:** Wein-Wissenschaft 16.177 p.
- 22. Cadman C.H., 1963:** Biology of soil-borne viruses.
- 23. Carbonneau A., Deloire A., et Benoit J., 2007 :** La vigne physiologie, terroir, culture, Dunod, Paris 1 .441p.
- 24. Charbeau S., 2012:** Guide viticulture durable Charentes, installation du vignoble, BNIC .31p.
- 25. Cory L., Hewitt W.B., 1968:** Some grapevine viruses in pollen and seeds. *Phytopathology* 58-1316 .968 p.
- 26. Coyne D.L., Nicol J.M. et Claudius-Cole B., 2010:** Les nématodes des plantes : Un guide pratique des techniques de terrain et de laboratoire. Traduit par Patrick Queneherve .93 p.
- 27. Dalmasso A., 1968 :** Etude anatomiques et taxonomiques des genres *Xiphinema*, (*Nematoda*, *Dorylaimida*) *Ann. App. Zool.*, 61 Pp 33-82.
- 28. Dalmasso A., et Cuany., 1969 :** Importance de la transmission par le sol de la dégénérescence infectieuse de la vigne dans l'Algérois. *Bull. phytosanitaire, FAO.*, *Virologie* 17.3 p.
- 29. Demangeat G., 2007 :** Transmission des *Nepovirus* par les nématodes *Longidoridae*. *Virology* 11,Pp 309-330.
- 30. Dias H.F., 1963:** Host range and properties of grapevine fan leaf and grapevine yellow mosaic viruses. *Ann. Appl. Biol.* 51, Pp 85-95.

- 31. Fuchs M., Pinck M., Serghini M.A., Ravelonandro P., Walter B., et Pinck L., 1989:** The nucleotide sequence of satellite RNA in grapevine fanleaf virus strain F13. Jour.Gen. Virol.70,Pp 155-161.
- 32. Galet P., 1977 :** Les maladies et les parasites de la vigne. Les maladies dues à des végétaux, champignons, bactéries, viroses, et phanérogames .Tome I. Imp du paysan du midi Montpellier .872 p.
- 33. Galet P., 1999 :** Précis de pathologie viticole, 3ieme ed, Lavoisier (Tec et Doc) .246 p.
- 34. Gerola F.M., Babassi M, ET Belli G., 1969:** An electron microscope study of different plants infected with grapevine fanleaf virus. Gio.Botan.Italiano, Virologie.103.271 p.
- 35. Habili N., Monis J., 2006 :** Highlights of ICVG. Meeting. Advances in research: grapevine viruses. Practical winery and vineyard. (December/November 2006).
- 36. Hadji Z., 1991:** Identification biologique et sérologique du virus de court-noué de la vigne dans la région de Ben Chicao (Médéa). Mem. Ing. Agro. Blida .28 p.
- 37. Halgand F., 2009 :** Le court noué de la vigne : état actuel des connaissances. Th. Doc univ. Nantes, en pharmacies .275 p.
- 38. Hans F., Fuchs M., Pinck L., 1992:** Replication of *Grapevine fan leaf virus* satellite RNA transcripts in *Chenopodium quinoa* protoplasts. Journal of General Virology 73,Pp 2517-2523.
- 39. Hewitt W.B., Raski D.J., Goheen A.C., 1958:** Nematode vector of soil-borne fan leaf virus of grapevines. Phytopathology; 48-95: 586 p.
- 40. Idris I., 2016:** Etude du court-noué de la vigne dans trois régions viticoles : Alger, Blida et Médéa. Mém. Mag. Département des biotechnologies. Fac. SNV.Univ. Blida 1.107 p.
- 41. Jha A., Posnette AF., 1959,** Transmission of a virus to strawberry plants by a

Nematode (*Xiphinema sp.*). Nature, 184.Pp962-963 .

- 42. Jonathan E., Oliver. et Marc F., Fuchs M., 2011:**
www.nysipm.cornell.edu/factsheets/grapes/diseases/fanleaf.pdf.
- 43. Khenchlaoui K., Guennane S., 2014 :** Etude du court noué dans les vignobles algériens. Mém. Ing. Département des biotechnologies. Fac. SNV. Univ. Blida 1.84 p.
- 44. Lamberti F., Martelli G.P., 1965:** On the distribution of *Xiphinema index* Thorne and Allen in some appulian vineyards. Proceedings of the International Conference on virus and vector on Perennial Hosts, with Special Reference to *Vitis*. 353 p.
- 45. Lamberti F., Taylor C.E., Seinhorst J.W., 1975:** Nematode vectors of plant viruses. New York: Plenum Press. 312 P.
- 46. Lazar J., Kolber M., Lehoczky J., 1990:** Detection of some *Nepoviruses* (*GFV*, *GFVYM*, *GCMV*, *ArMV*) in the seeds and seedlings of grapevine by ELISA. Kertgasdasag 22, Pp 58-72.
- 47. Lemaire O., et Djennane S., 2013 :** Avancées récentes sur l'étude du court-noué de la vigne et sur les perspectives de résistances au virus. Porte-greffes des racines et des vins. INRA éditions .24 p.
- 48. Lery., 1982 :** L'agriculture au Maghreb G.P. Ed. Maisonneuve et Larose, Pp 284-286.
- 49. Martelli G.P., 1985:** Virus and virus like diseases of grapevine in Algeria. Rapport to the government of Algeria, F.A.O., Rome: 553 p.
- 50. Martelli G.P., 1993:** Grapevine degeneration-fanleaf. Martelli G.P. (ed). Graft transmissible diseases of grapevines. Handbook for détection and diangnosis. FAO, Rome, Italy, Pp 9-18.

- 51. Martelli G.P., 1997** : Maladies à virus de la vigne .Département pathologie Végétal de l'université de Sassari. Ed centre international des hautes études agronomiques méditerranéens : 39 p.
- 52. Martelli G.P., 2008**: Fan leaf degeneration/decline disease of grapevines, Department of Plant Pathology and Plant-Microbe Biology, Cornell University, NYSAES, Geneva, NY, Enlignesur:
www.nysipm.cornell.edu/factsheets/grapes/diseases/fanleaf.pdf.
- 53. Martelli GP., 2012**: Grapevine virology highlights 2010–2012. Proceedings of 17th Congress of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG); October 7–14, 2012; Davis, CA, USA: Foundation Plant Services, University of California, Pp 13–31.
- 54. Martelli G.P., Taylor C.E 1990**: Distribution of viruses and their nematode vectors. In: Harris K, ed. Advances in disease vector research. New York: Springer-Verlag.315p.
- 55. Martelli G.P., et Boudon-Padieu E., 2006**: Directory of infectious diseases of grapevines and virus and virus–likedisease of the grapevine: bibliographic report 1998- 2004”.Options méditerranéennes, série B.55 p. (CIHEAM), Bari, Italie.
- 56. Martin P.A., Voisin G., 2006**: Rapport d'information d'une assemblée nationale N°3435, sur la situation de la viticulture en France.Pp1-26.
- 57. Masson J., Lemaire O. et Fuchs M., 2004** : Dossier de demande d'avis pour une expérimentation hors confinement de plants de vigne transgéniques développés pour induire une résistance au *Grapevine fan leaf virus*, agent principal de la maladie du court-noué.27p.
- 58. Mayo M.A., Robinson D.G., 1996**: Nepovirus molecular biology and replication. In: Harrison BD, Murrant AF, Eds. The plant viruses, polyhedral virions and bipartite RNA genomes. New York: Plenum press8.287p.

- 59. Melouk S., 2002** : Inventaire des vecteurs de virus de la vigne. Mém. Ing. Agro. Blida. 55 p.
- 60. Montgomery., 2009**: Statistique en bref Eurostat. KS-SF-09-012-FR-N. Pp 1-7.
- 61. Morsli D., 1995** : Evaluation sanitaire du vignoble et identification par voie biologique et sérologique d'un isolat du court-noué à partir d'une variété autochtone. Mém. Ing. Agro. INA, El Harrach . Pp87.
- 62. Mrabet B., 2012** : Étiologie de la maladie du court noué dans les principales régions viticoles de la Tunisie. Mém. Master en lutte biologique et intégrée en agriculture. Tunis (Tunisie) : INRAT. 80p.
- 63. Pinck L., Fuchs M., Pinck M., Ravelonandro M., Walter B., 1988**: Satellite RNA in *grapevine fan leaf virus* Strain F13. J. Gen. Virology, 69. Pp 233- 239.
- 64. Quacquarelli A., Gallitelli D., Savino V et Martelli G.P., 1976**: Propriétés *grapevine fan leaf virus* ». J. Gen. Virol. Pp 349-360.
- 65. Reynier A., 2007** : Manuel de viticulture. », Edition TEC & DOC. Paris. 10^{ième} Ed. 527 p.
- 66. Ritzenthaler C., Viry M., Pinck M., Margis R., Fuchs M, et Pinc L., 1991**: Complete nucleotide sequence and genetic organization of *grapevine fan leaf* RNA-1. J. Gen. Virol. 72. Pp 2357-2365.
- 67. Roberts I.M., Brown DJF., 1980**: Detection of six *Nepoviruses* in their nematode vectors by immunosorbent electron microscopy. Ann. App. Biol.; 92-96. 187 p.
- 68. Sanfaçon H., Wellink J., Le Gall O., Karasev A., van der Vlugt R., Wetzel T., 2009**: Secoviridae: A proposed family of plant viruses within the order *Picornavirales* that combines the families *Sequiviridae* and *Comoviridae*, the unassigned genera *Cheravirus* and *Sadwavirus*, and the proposed genus *Torradovirus*. Arch. Virol. 154. Pp 899-907.

- 69. Savino V., Boscia D., et Martelli G.P., 1985:** Incidence of some graft-transmissible virus-like diseases of grapevine in visually selected and beat treated from southern Italy». Proceedings of the 8ième Meeting of ICVG, BARI, SASSARI, Research.251 p.
- 70. Serghini M.A., Fuchs M., Pinck M., Reinbolt J., Walter B et Pinck L., 1990:** RNA-2 of *grapevine fan leaf virus*: sequence analysis and coat protein cistron location J.Gen Virology, 71.1433 p.
- 71. Siddiqi M.R., 1974:** *Xiphinema index*, CIH description of plant parasitic nematode set 3.45. Common with agricultural bureau, England.4 p.
- 72. Sokhandan Bashir N., Pashae A., Doulati-Baneh H., 2011:** Characterization of the full-length coat protein gene of Iranian *Grapevine fan leaf virus* isolates, genetic variation and phylogenetic analysis. Iranian J. Biotech.9.Pp 213-221.
- 73. Tabouche A., 2005 :** Etude de virus de court-noué de la vigne (*Grapevine Fanleaf Virus, Nepovirus, GFLV*) en Algérie: Diagnostic séro et bio-détection. Efficacité de la transmission par différents vecteurs inventoriés. Mém. Mag. Agro. Blida.145 p.
- 74. Taylor C.E., ET Brown D.J.F., 1997:** Nematode Vectors of plant Viruses. CAB International, Wallingford.286 p.
- 75. Taylor C.E., Robertson W.M., 1970:** Sites of virus retention in the alimentary tract of the nematode vectors, *Xiphinema diversicaudatum* (Nicol.) and *X. index* (Thorne and Allen). Ann.Appl.Biol.66-80.375 p.
- 76. Thorne G., Allen M.W., 1950:** *Paratylenchus hamatus* sp. and *Xiphinema index* sp, two nematodes associated with fig roots, with a note on *Paratylenchus aniceps* Cobb. Proceeding of the Helminthological Society of Washington 17.Pp 27- 35.
- 77. Trabelssi M., 1999 :** Les principaux nématodes associant à la vigne. Mém. Ing. Agro. Tunisie .75 p.

- 78. Trudgill D.L., Brown DJF. McNamara D.G., 1983:** Methods and criteria for assessing the transmission of plant viruses by *longidorid* nematodes. Rev Nematol; 6-41.133 p.
- 79. Vigne E., Demangeat G., Komar V., and Fuchs M., 2005:** Characterization of a naturally occurring recombinant isolate of *Grapevine fan leaf virus*. Arch.Virol.150.Pp 2241–2255.
- 80. Villate L., 2008 :** Origine, variabilité et gestion de populations de *Xiphinema index*, le nématode vecteur du *grapevine fan leaf virus (GFLV)*. Th. Doc. Rennes (France) : Université de Rennes 1.206 p
- 81. Viry H., Serghini M.A., Hans F., Retzenthaler C., Pinck M., et Pinck L.,1993:** Biologically active transcripts from cloned cDNA of genomic grapevine fan leaf virus RNAs .J. Gen. Virol. Pp 169-174.
- 82. Walter B., 2000:** Sanitary selection of the grapevine. Ed. INRA France.225 p.
- 83. Walter B., Boudon-Pardieu E., Ride M., 2000 :** Introduction. Généralités sur les virus. Dans : Maladies à virus, bactéries et phytoplasmes de la vigne. Collection des usuels Féret de la vigne et du vin .18 p. Editions Féret.
- 84. Walter B., Elisabeth B.P., et Ride M., 2000 :** Maladies à virus, bactéries et phytoplasmes de la vigne. Ed. Ferret.191 p.
- 85. Wyss U., 2000:** *Xiphinema index*, maintenance, and feeding in monogenic cultures. In : Maramorosch K, Mahmood F, eds. Maintenance of human, animal and plant pathogen vectors. Enfield, USA: Science Publishers Inc.315P.

ANNEXES

ANNEXE

1. Echantillonnage du sol:

- ✓ Matériel:

Pour le prélèvement du sol divers outils ont été utilisés. Il s'agit de:

- Une bêche
- Une binette
- Tarière ou une pioche
- Sachets en plastique
- Etiquettes

2. Extraction des nématodes:

- Matériel:
- deux seaux de 6 à 10 litres
- un bâton
- tamis de 90µm
- des assiettes en plastique
- papier filtre ou papier hygiénique
- béciers
- pissette d'eau

3. dénombrement:

- matériel:
- loupe binoculaire
- tube à essai de 50ml
- béciers
- cane à pêche
- cellule de comptage gradué
- entonnoirs

TABLE DES MATIERES

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Liste des Tableaux et Figures	
Liste des Abréviations	
Introduction	01
CHAPITRE I : Synthèse Bibliographique	
1. Importance économique de la vigne.....	03
1.1.1. Dans le monde.....	03
1.1. 2. En Algérie.....	03
1.2. Description morphologique de la vigne.....	04
1.3. Maladies virales de la vigne.....	04
1.3.1. L'enroulement foliaire.....	04
1.3.2. Complexe du bois strié.....	05
1.3.3. Complexe de la marbrure.....	06
1.3.4. Le court-noué (dégénérescence infectieuse).....	07
1.4. Le court-noué de la vigne (<i>GFLV</i>).....	08
1.4.1. Impact de la maladie du court noué sur la vigne.....	08
1.4.2. Génome du <i>GFLV</i>	09
1.4.3. Symptomatologies.....	10
1.4.3.1. Symptômes macroscopiques.....	10
1.4.3.2. Symptômes microscopiques.....	15
1.4.4. Transmission du virus <i>GFLV</i>	16

1.4.4.1. Transmission par le matériel végétal.....	16
1.4.4.2. Transmission par pollen et graine.....	16
1.4.4.3. Transmission par le sol.....	16
1.4.4.4. Transmission par les bois.....	17
1.5. Nématode vecteur du <i>GFLV</i>	17
1.5.1. Distribution géographique.....	17
1.5.2. Biologie et cycle de vie.....	18
1.5.3. Morphologies.....	19
1.5.4. Alimentation et transmission.....	20
1.5.5. Site de rétention des particules virales.....	21
1.5.6. Spécificité de l'interaction virus- nématode vecteur	23

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

2.1. Sites prospectés.....	24
2.1.1 Station N°1.....	24
2.1.2 Station N°2.....	25
2.1.3. Station N°3.....	25
2.2 Méthode de prélèvement et de conservation des feuilles.....	26
2.3 Méthode d'échantillonnage du sol.....	27
2.4 Analyse nématologique du sol.....	27
2.4.1 Méthode d'extraction des nématodes du sol.....	27
2.4.2 Procédé d'extraction.....	28
2.4.3. Purification par passage actif des nématodes.....	29
2.4.4 Méthode de dénombrement des nématodes.....	31

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats.....	32
-----------------------	-----------

3.1. Analyse symptomatologique.....	32
3.1.1. Malformation des sarments et des feuilles.....	32
3.1.1.1. Sur les sarments.....	32
3.1.1.2. Sur les feuilles.....	35
3.1.1.3 : Sur les grappes.....	37
3.1.2. Changement de la pigmentation des feuilles.....	39
Discussion des résultats	44
3.2. Analyse nématologique.....	45
3.2.1. Abondance des espèces de <i>Xiphinema sp</i> en fonction des cépages..	45
3.2.2. Abondance des espèces de <i>Xiphinema sp</i> en fonction des régions..	46
Discussion des résultats	47
Conclusion générale et perspectives	48
Références Bibliographiques	
Annexes	

