

**UNIVERSITE BLIDA-1**

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**

**Département de biotechnologie**

## **MÉMOIRE DE MAGISTER**

en sciences agronomiques

Spécialité : phytopathologie

Connaissances sur les viroses de la vigne (Etude du

court-noué de la vigne dans trois région viticoles :

Alger, Blida et Médéa)

Par

**Idir IDRIS**

Devant le jury composé de :

A. BOUTEKRABT	Professeur, U. de Blida-1	Président
M. BENCHABANE	Professeur, U. de Blida-1	Examineur
K. AISSAT	Professeur, U. de Bejaia	Examineur
H. BELKAHLA	Professeur, U. de Blida- 1	Promotrice

Blida, Mai 2016.

## Résumé:

Le court-noué de la vigne est la virose la plus répandue et la plus dommageable dans le vignoble mondial. Elle est causée par le virus *Grapevine fanleaf Virus (GFLV)* qui se transmet par le nématode *Xiphinema index*. L'objectif de notre étude consiste à détecter le virus dans trois différentes régions viticoles (Alger, Blida et Médéa) et sur cinq différents cépages (*Gros Noir*, *Cardinal*, *Muscat*, *Muscat d'Italie* et *Dattier de Beyrouth*). L'analyse symptomatologique des échantillons a révélé la présence des symptômes typiques du court-noué dans l'ensemble des stations prospectées avec des variations. Les symptômes les plus sévères ont été observés dans la station d'Ain Benian sur le *Cardinal* et le cépage de *Dattier de Beyrouth* de la station d'El Affroun est le cépage qui a exprimé le moins de symptômes typiques. L'analyse nématologique du sol a montré la présence de trois espèces de nématodes appartenant au genre *Xiphinema sp*: *X. index*, *X. italiae* et *X. americanum*. Leurs effectifs varient entre les différentes stations et cépages. Les stations Tessala el Merdja et Ben Chicao occupées par les deux cépages *Muscat d'Alexandrie* et *Dattier de Beyrouth* sont les plus infestées par *X. index* avec respectivement un effectif moyen de 66.65 et 20 nématodes par 250 ml de sol. L'inoculation du virus sur des plantes hôtes herbacées nous a permis d'avoir des symptômes typiques sur 80 % des plants infectés avec la souche virale isolée de la station de Tessala el Merdja contre 70 % et 60% de plants infectés respectivement par les souches virales isolées d'Ain Benian et Ben Chicao. Par conséquent, l'analyse immuno-enzymatique de 94 échantillons par la technique DAS-ELISA révèle 11 réponses positives ce qui correspond à un taux d'infection de 11.70 % ou la région de Ben Chicao a le plus de réactions positives pour le virus *GFLV*.

Mots clés : Court-noué, *GFLV*, *Xiphinema sp*, cépages, analyse immunoenzymatique.

Summary: Knowledges about grapevine viral infection.

The fanleaf of grapevine virus disease is the most responded and most damaging in the world vineyard. It is caused by Grapevine fanleaf virus Virus (GFLV) which is transmitted by the nematode *Xiphinema index*. The objective of our study was to detect the virus in three different wine regions (Algiers, Blida and Medea) and five different varieties (Big Black, Cardinal, Muscat, Muscat Italy and Dattier Beirut). The symptomatic analysis of the samples revealed the presence of typical symptoms fanleaf in all stations surveyed with variations. The most severe symptoms were observed in Ain Benian station on the Cardinal and Dattier varietal Beirut el affroun the station is the grape that expressed less typical symptoms. The nematode soil analysis showed the presence of three species of nematodes of the genus *Xiphinema* sp: *X. index* and *X. italiae* *X. americanum*. Their numbers vary between different stations and grapes. The stations Tessala el Merdja and Benchicao occupied by the two varieties Muscat and Beirut Dattier are most infested by *X. index* with an effective mayen respectively 66.65 and 20 nematodes per 250 ml of soil. The virus inoculation to herbaceous hosts allowed us to have typical symptoms on 80% of plants infected with the viral strain isolated from the station Tessala el Mardja against 70% and 60% of plants infected with strains respectively isolated virus Ain Benian and Benchicao. Therefore, the immunoenzymatic analysis of 94 samples by DAS-ELISA technique revealed 11 positive responses corresponding to a rate of 11.70 % or Benchicao region has more positive responses for GFLV virus.

Keywords: Fanleaf, GFLV, *Xiphinema* sp, grapes, immunenzymatique analysis.

\_\_\_\_\_:

مرض فيروس العنب هو الأكثر انتشارا والأكثر ضررا للكروم في العالم. وهو ناتج عن فيروس (GFLV) الذي ينتقل عن طريق الديدان الخيطية (*Xiphinema index*). وكان الهدف من دراستنا الكشف عن وجود الفيروس في ثلاث مناطق إنتاج العنب مختلفة (الجزائر العاصمة والبلدية والمدية) وخمسة أصناف (*Gros Noir, Cardinal, Muscat, Muscat d'Italie et Dattier de Beyrouth*)

كشفت تحليل أعراض من العينات وجود أعراض نموذجية في جميع المناطق التي شملتها الدراسة مع وجود .وقد لوحظت الأعراض الأكثر حدة في منطقة عين البنيان على الأصناف التالية: *Cardinal*

*Dattier de Beyrouth*. بينما منطقة العفرون تبين وجود أعراض أقل نموذجية. أظهر تحليل التربة وجود ثلاثة أنواع من الديدان الخيطية تنتمي إلى جنس: *Xiphinema sp: X. index, X. italiae et X. americanum*. أعدادهم تتفاوت من منطقة إلى أخرى ومن نوع عنب إلى آخر. منطقة بلدية تسالة

المرجة وبن شكاو تشتهر بإنتاج نوعين ( *Dattier de Beyrouth Muscat* )، هي

*X. index* 67 2 0 250 الديدان الخيطية لكل

تلقيح بعض النباتات المضيضة بالفيروس أوضح وجود أعراض نموذجية على 80

بالسلالة الفيروسية معزولة من منطقة تسالة المرجة 60 70

فيروس المعزول من منطقتي عين بنيان وبن شكاو . 94 عينة بواسطة تقنية

DAS- ELISA 11 رد فعل إيجابي 11.70 ، في منطقة بن شكاو هناك استجابة أكثر

إيجابية لفيروس *GFLV*.

\_\_\_\_\_ : *Xiphinema sp GFLV* ، أنواع العنب، تحليل Immuno-enzymatique

## REMERCIEMENTS

L'encadrement scientifique de ce travail a été assuré par **Pr BELKAHLA H.**, Directrice du laboratoire de recherche « Protection et Valorisation des Produits Agro Biologiques ». Je tiens vivement à lui exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension, ses qualités humaines, ses conseils et ses intérêts portés pour le sujet tout en croyant et en me faisant confiance.

Mes remerciements les plus chaleureux et fraternels au président du jury, **Pr BOUTEKRABT A.**, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury et pour ses contributions scientifiques ainsi que ses rapports humains.

Je tiens à remercier également **Pr BENCHABANE M.**, d'avoir accepté de lire et de juger ce travail. Qu'il trouve ici mes sincères sentiments de gratitude et de respect pour son enseignement qui m'a permis de développer ma curiosité scientifique.

Mes remerciements vont aussi au **Pr AISSAT K.**, pour avoir eu l'amabilité d'accepter volontairement et aimablement de critiquer et de juger ce travail. Je suis particulièrement reconnaissant pour sa générosité, ses fructueux conseils et honoré par sa participation au jury.

Je remercie particulièrement **Mme BRIKI F** pour sa précieuse présence à mes côtés et à tous les enseignant(e)s pour leur soutien et les conseils scientifiques prodigués.

Au Personnel du département d'agronomie, notamment les techniciens de laboratoire, Walid et Djamila, et le personnel de l'ITAFV de Tessala el Merdja et de Ben Chicao pour avoir ménagé leur effort.

Nos sentiments les plus profonds et remerciements infinis à nos collègues et amis, pour leurs relations amicales, conviviales, fraternelles et professionnelles qu'ils ont su tisser en dehors et au sein du laboratoire.

## Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes aimables et honorables parents*

*Mes enviabes grands parents*

*Mes agréables frères : Riadh, Fayçal et Nassim*

*Mes gracieux oncles : Faziid, Farouk et A/Louhab*

*Mes tantes : Houria et Zhoukha et leurs familles*

*Mes camarades de Béjaïa*

*Ma promotion et tous les camarades du département d'agronomie.*

## LISTE DES TABLEAUX

	<b>Page</b>
<u>Tableau 1.1</u> : Situation viticole en Algérie de 2003 à 2013.....	19
<u>Tableau 2.1</u> : Principales plantes hôtes herbacées du court-noué.....	59
<u>Tableau 3.1</u> : Notation de l'expression des symptômes pour l'ensemble des ceps observés malades.....	77
<u>Tableau 3.2</u> : Symptômes observés dans les différentes stations et cépages prospectés.....	78
<u>Tableau 3. 3</u> : Résultat de la transmission mécanique sur le concombre ( <i>Cucumis sativus</i> ) par des souches virales en provenance de différentes stations. ....	90
<u>Tableau 3.4</u> : Résultats du test DAS-ELISA selon les stations et les cépages.....	93

## LISTES DES FIGURES

	Page
<u>Figure 1.1</u> : La vigne, présentation des différents organes.....	21
<u>Figure 1.2</u> : Stades phénologiques de la vigne.....	22
<u>Figure 1.3</u> : Symptômes du mildiou sur la vigne.....	25
<u>Figure 1.4</u> : Symptômes de l'oïdium sur la vigne.....	26
<u>Figure 1.5</u> : Les différentes espèces de cochenilles vectrices du <i>GLRaV-1</i> et/ou du <i>GLRaV-3</i> .....	28
<u>Figure 1.6</u> : Symtômes de l'enroulement viral de la vigne.....	28
<u>Figure 1.7</u> : Symptômes de la maladie du bois strié.....	29
<u>Figure 1.8</u> : Eclaircissement typique des nervures sur <i>Vitis rupestris</i> .....	30
<u>Figure 1.9</u> : Symptômes du court-noué dans une parcelle.....	31
<u>Figure 1.10</u> : Cliché de microscopie électronique montrant des particules virales de GFLV après purification. La barre représente 100 nm.....	34
<u>Figure 1.11</u> : Structure et expression des ARN 1 et 2 du <i>GFLV</i> .....	35
<u>Figure 1.12</u> : Symptômes de malformation sur sarments.....	36
<u>Figure 1.13</u> : Sinus pétiolaire élargi et indentation plus prononcée.....	37
<u>Figure 1.14</u> : Panachure avec jaunissement des nervures.....	37
<u>Figure 1.15</u> : Mosaïque le long des nervures.....	38
<u>Figure 1.16</u> : Jaunissement total de la plante.....	38
<u>Figure 1.17</u> : Symptômes de la panachure réticulée.....	39
<u>Figure 1.18</u> : Symptômes sur les grappes.....	39
<u>Figure 1.19</u> : Symptômes microscopiques du cordon endocellulaires.....	40
<u>Figure 1.20</u> : Foyer de court-noué dans un vignoble en Bourgogne.....	41
<u>Figure 1. 21</u> : Distribution mondiale des nématodes <i>Longidoridae</i> , <i>X.index</i> est indiqué en rouge.....	43
<u>Figure 1.22</u> : Partie antérieure des <i>Longidoridae</i> .....	44
<u>Figure 1.23</u> : Larve de <i>Xiphinema</i> en train de muer.....	45
<u>Figure 2.1</u> : parcelle échantillonnée de l'exploitation de la station expérimentale de département de biotechnologie végétale, université Blida..	47
<u>Figure 2.2</u> : parcelle échantillonnée de l'exploitation d'El Affroun.....	48
<u>Figure 2.3</u> : Vignoble de la station d'Ain bénian.....	49

<u>Figure 2.4</u> : Parcelles échantillonnées de la station de Tessala-El-Merdja...	50
<u>Figure 2.5</u> : parcelles échantillonnées de l'exploitation de Ben Chicao.....	51
<u>Figure 2.6</u> : Schéma d'échantillonnage d'une parcelle.....	52
<u>Figure 2.7</u> : Echantillon des feuilles de vigne .....	53
<u>Figure 2.8</u> : Procédé de purification actif des nématodes.....	55
<u>Figure 2.9</u> : Etapes de montage des nématodes.....	57
<u>Figure 2.10</u> : Kit complet de DAS-ELISA de BIOREBA AG® .....	60
<u>Figure 2.11</u> : Broyage des feuilles à l'aide d'un broyeur.....	61
<u>Figure 2.12</u> : Sachet de broyage.....	61
<u>Figure 2.13</u> : Dépôt de l'anticorps spécifique.....	62
<u>Figure 2.14</u> : Dépôt de l'extrait des feuilles « antigène ».....	63
<u>Figure 2.15</u> : Dépôt de l'anticorps conjugués à l'enzyme.....	63
<u>Figure 2.16</u> : Dépôt du substrat de l'enzyme.....	64
<u>Figure 2.17</u> : Lecteur ELISA utilisé.....	65
<u>Figure 3.1</u> : Raccourcissement et déformation des entre-nœuds sur <i>Muscat d'Alexandrie</i> , station Ben Chicao.....	66
<u>Figure 3.2</u> . Entre nœuds sur <i>Cardinal</i> dans la station d'Ain Benian.....	67
<u>Figure 3.3</u> . Entre noeds sur <i>Dattier de Bayrouth</i> dans la station de Tessala El Merdja.....	67
<u>Figure 3.4</u> : Aplatissement du sarment de <i>Muscat italia</i> , station Ben Chicao..	68
<u>Figure 3.5</u> : Fasciation du sarment de <i>Cardinal</i> , station Ain Benian.....	68
<u>Figure 3.6</u> : Aplatissement du sarment du <i>Gros noir</i> , la station expérimentale du département de biotechnologie végétale (ex agronomie) université Blida .	68
<u>Figure 3.7</u> : Bifurcation sur <i>Muscat d'Alexandrie</i> , station Ben Chicao.....	62
<u>Figure 3.8</u> : Bifurcation sur <i>Cardinal</i> , station Ain Benian.....	69
<u>Figure 3.9</u> : Bifurcation sur <i>Cardinal</i> , station de Tessala El Merdja.....	69
<u>Figure 3.10</u> : Bifurcation sur <i>Dattier de Bayrouth</i> , station de Tessala El Merdja.....	69
<u>Figure 3.11</u> : Croissance en zigzag du sarment de <i>Cardinal</i> , station d'Ain Benian.....	70
<u>Figure 3.12</u> : Croissance en zigzag du sarment de <i>Muscat</i> , station Ben Chicao.....	70
<u>Figure 3.13</u> : déformation du limbe du <i>Cardinal</i> , station Ain Benian.....	71

<u>Figure 3.14</u> : modification du limbe du <i>Dattier de Bayrouth</i> , station Ben Chicao.....	71
<u>Figure 3.15</u> : Modification de l'aspect du limbe du <i>Dattier de Bayrouth</i> , station de Tessala el Merdja.....	71
<u>Figure 3.16</u> : Déformation du limbe du <i>Muscat</i> , station Ben Chicao.....	71
<u>Figure 3.17</u> : Feuille de <i>Dattier de Beyrouth</i> présentant une indentation plus prononcée, station de Tessala El Merdja.....	72
<u>Figure 3. 18</u> : Réduction de la taille de la grappe et le nombre des baies du <i>Cardinal</i> , station de Tessala El Merdja.....	72
<u>Figure 3.19</u> : Coulure partielle de la grappe du <i>Dattier de Bayrouth</i> , station Tessala El Merdja.....	72
<u>Figure 3. 20</u> : Coulure de la grappe du <i>Cardinal</i> , station d'Ain Benian.....	73
<u>Figure 3. 21</u> : jaunissement total des feuilles du <i>Dattier de Bayrouth</i> , station Tessala El Merdja.....	74
<u>Figure 3. 22</u> : jaunissement partiel des feuilles de <i>Muscat</i> , station Ben Chicao.....	74
<u>Figure 3. 23</u> : (A & B) mosaïque sur les feuilles de la <i>Muscat</i> , station Ben Chicao.....	74
<u>Figure 3. 24</u> : taches annulaires chlorotiques sur <i>Dattier de Bayrouth</i> , station Tessala El Merdja.....	75
<u>Figure 3. 25</u> : Panachure réticulée sur <i>Dattier de Bayrouth</i> , station d'El Affroun.....	76
<u>Figure 3. 26</u> : Panachure ordinaire sur <i>Dattier de Bayrouth</i> , station d'El Affroun.....	76
<u>Figure 3. 27</u> : Panachure ordinaire sur le <i>Cardinal</i> , station d'Ain Benian .....	76
<u>Figure 3. 28</u> : Feuille à moitié panachée de <i>Muscat</i> , station Ben Chicao.....	76
<u>Figure 3.29</u> : Morphologie du <i>X. index</i> vu au microscope optique (Gr x 10)...	80
<u>Figure 3. 30</u> : Forme de la tête de <i>X. index</i> vu au microscope optique (Gr x 40).....	81
<u>Figure 3. 31</u> : Forme de la queue de <i>X. index</i> vu au microscope optique (Gr x 40).....	81
<u>Figure 3. 32</u> : Morphologie du <i>X. italiae</i> vu au microscope optique (Gr x 10)..	81
<u>Figure 3. 33</u> : Forme de la tête de <i>X. italiae</i> vu au microscope optique (Gr x	

400).....	82
<u>Figure 3. 34</u> : Forme de la queue de <i>X. italiae</i> vu au microscope optique (Gr x 40).....	82
<u>Figure 3. 35</u> : Morphologie du <i>X. americanum</i> vu au microscope optique (Gr x 10).....	82
<u>Figure 3. 36</u> : Forme de la tête du <i>X. americanum</i> vu au microscope optique (Gr x 40).....	
<u>Figure 3. 37</u> : Forme de la queue du <i>X. americanum</i> vu au microscope optique (Gr x 40).....	83
<u>Figure 3. 38</u> : Répartition des espèces de <i>Xiphinema sp</i> pour la totalité des stations.....	84
<u>Figure 3. 39</u> : Effectifs des nématodes <i>Xiphinema sp</i> dans les différentes stations pour 1 Kg de sol prélevé.....	86
<u>Figure 3.40</u> : Répartition des nématodes <i>Xiphinema sp</i> selon les cépages.....	86
<u>Figure 3. 41</u> : Effectif moyen des nématodes <i>Xiphinema sp</i> en fonction des cépages pour 1 Kg de sol.....	87
<u>Figure 3.42</u> : Eclaircissement des nervures et jaunissement de feuille (à gauche), feuille saine (à droite).....	91
<u>Figure 3.43</u> : Lésions locales chlorotiques de feuille (à gauche), feuille saine (à droite).....	91
<u>Figure 3.44</u> : Taux d'infection révélé par le test DAS-ELISA.....	92

## LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléase.

ARN: Acide ribonucléique.

ARNsat: ARN satellite.

ARNsb: Acide nucléique simple brin.

*C.amaranticolor: Chenopodium amaranticolor.*

*C.quinoa: Chenopodium quinoa.*

CP: protéine capside.

DAS-ELISA: Double antibody sandwich-ELISA.

ELISA: Enzyme Linked Immuno sorbent Assay.

FAO : Food and Agriculture Organisation

GALV: Grapevine algerian latent virus.

GBLV: Grapevine Bulgarian Latent Virus.

GFLV: Grapevine fanleaf virus.

GLPV: Grapevine line pattern virus.

GLRV: Grapevine leafroll virus.

GVA: Grapevine virus A.

*N.clevelandii: Nictiana clevelandii.*

OIV: Organisation Internationale de la vigne et du vin

ORF: Open Reading frame.

*P. hybride: Phaseolus hybride.*

P.C.R: polymérase Chain réaction (réaction en chaine de polymérisation).

Poly (A): poly-adenosine.

TAS-ELISA: Triple antibody sandwich-ELISA.

VPg: virion protéine génome linked (protéine ouvert au génome viral).

## TABLE DES MATIERES

RESUME .....	1
REMERCIEMENTS .....	4
TABLE DES MATIERES.....	6
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX .....	10
INTRODUCTION .....	16
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	18
<b>CHAPITRE 1: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>18</b>
1.1. Généralités sur la plante hôte .....	18
1.1.1 Historique .....	18
1.1.2 Importance économique de la vigne .....	19
1.1.2.1 Dans le monde .....	19
1.1.2.2 En Algérie.....	19
1.1.3.Taxonomie de la vigne.....	20
1.1.4 Morphologie de la vigne.....	21
1.1.5 Stades repères de développement.....	21
1.1.6 Exigences de la vigne.....	23
1.1.6.1 Exigences climatiques .....	23
1.1.6.2 Exigences pédologiques .....	23
1.2 Principaux ravageurs et agents pathogènes .....	24
1.2.1 Principaux ravageurs .....	24
1.2.1.1 Phylloxera.....	24
1.2.1.2 Pyral .....	24
1.2.1.3 Nématodes .....	24
1.2.2 Principaux agents pathogènes .....	25
1.2.2.1 Champignons .....	25

1.2.2.2 Mildiou.....	25
1.2.2.3 Oïdium.....	25
1.2.2.4. Pourriture grise.....	26
1.2.2.5 Pourriture noire .....	26
1.2.3 Maladies bactériennes .....	26
1.2.3.1 Tumeur du collet.....	26
1.2.3.2 Nécroses .....	27
1.2.3.3 Maladie de Pierce .....	27
1.2.4 Maladies virales .....	27
1.2.4.1 Enroulement viral ou complexe de l'enroulement.....	27
1.2.4.2 Bois strié de la vigne .....	28
1.2.4.3 Marbrure ou complexe de la marbrure (Fleck complex) .....	29
1.2.4.4 Court-noué .....	30
1.3 Court-noué de la vigne .....	31
1.3.1 Impact de la maladie sur la vigne .....	31
1.3.2 Historique .....	32
1.3.3 Répartition géographique .....	33
1.3.4 Taxonomie.....	33
1.3.5 Structure et expression du génome .....	33
1.3.6 Symptomatologie.....	36
1.3.6.1 Symptômes macroscopiques .....	36
1.3.6.2 Symptômes microscopiques .....	40
1.3.7 Epidémiologie du court-noué .....	40
1.3.8 Voies de transmissions .....	41
1.3.8.1 Transmission par greffage .....	41
1.3.8.2 Transmission par semence .....	41
1.3.8.3 Transmission par nématodes .....	42
1.4. Nématode-vecteur du court-noué .....	42
1.4.1 Distribution géographique des vecteurs des Nepovirus .....	42
1.4.2 Morphologie .....	43
1.4.3 Mécanismes de transmission .....	44
1.4.4 Site de rétention des particules virales .....	45
1.4.5 Interaction nématodes-virus .....	46

<b>CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES</b> .....	<b>47</b>
2.1. Sites prospectés .....	47
2.1.1 Station n° 01.....	47
2.1.2 Station n° 02.....	48
2.1.3 Station n° 03 .....	48
2.1.4 Station n° 04 .....	49
2.1.5 Station n° 05.....	50
2.2 Méthode d'échantillonnage .....	51
2.2.1 Prélèvement et conditionnement des feuilles .....	52
2.2.2 Prélèvement et conditionnement du sol .....	52
2.3 Analyse nématologique du sol.....	54
2.3.1 Méthode d'extraction des nématodes du sol .....	54
2.3.2 Procédé d'extraction.....	54
2.3.3 Purification par passage actif des nématodes .....	55
2.3.4 Méthode de dénombrement des nématodes.....	55
2.3.5 Méthode pêche et de fixation des nématodes .....	56
2.3.6 Méthode de montage des nématodes .....	57
2.3.7 Identification des nématodes.....	58
2.4. Inoculation mécanique sur une gamme de plantes hôtes.....	58
2.4.1. Source du virus.....	58
2.4.2. Matériel végétal.....	58
2.5. Dépistage immunologique de la maladie .....	59
2.5.1. Principe du test ELISA .....	59
2.5.2 .Technique DAS-ELISA direct .....	60
2.5.3. Extraction du virus.....	60
2.5.4. Protocole de DAS-ELISA .....	62
2.5.5. Lecture des résultats.....	64
2.6. Analyse statistique.....	65

<b>CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION</b> .....	66
3.1 Analyse symptomatologique des échantillons .....	66
3.1.1 Malformation des sarments et des feuilles .....	66
3.1.2 Changement de la pigmentation des feuilles .....	73
3.2 Analyse nématologique des prélèvements du sol.....	80
3.2.1 Répartition des nématodes <i>Xiphinema Sp.</i> en espèces .....	83
3.2.2 Distribution des nématodes <i>Xiphinema Sp.</i> dans les différentes stations .....	84
3.2.3 Distribution des nématodes <i>Xiphinema Sp.</i> selon les cépages .....	86
3.3. Détection biologique:.....	90
3.4 Détection immunologique du virus.....	92
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....	96
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	98
ANNEXES.....	108

## INTRODUCTION

La vigne (*Vitis vinifera* L.) est l'une des plus importantes espèces fruitières cultivées dans le monde. C'est une espèce à vocation agronomique remarquable, chargée d'histoire et de symboles. La vigne est la 14<sup>ème</sup> culture d'importance économique au niveau mondial alors qu'elle ne représente seulement que 0,5% des terres cultivées.

La vigne est troublée, comme d'autres espèces fruitières, par des attaques de plusieurs ravageurs et des infections causées par de nombreux agents phytopathogènes. Plus de 70 agents infectieux de la vigne ont été inventoriés dans les travaux de Martelli et Boudon-Padieu (2006) [1]; dont 58 virus, 5 viroïdes, 8 phytoplasmes et 1 bactérie xylématique. Ce qui représente le plus grand nombre de pathogènes intracellulaires jamais rencontrés sur une seule culture.

La maladie du court-noué de la vigne, provoquée par des *Nepovirus* est l'une des viroses les plus graves de la vigne. Elle est 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.

Cette maladie entraîne des pertes de récolte pouvant atteindre 80% et provoque des altérations de la qualité des moûts incompatibles avec la production de dérivés de qualité, objectif important de la profession viticole, et diminue la longévité des ceps dans les vignobles. L'expression des symptômes varie en fonction de l'isolat viral, du cépage et des conditions pédoclimatiques. Ils se caractérisent généralement par des raccourcissements des entre nœuds, des feuilles montrant des malformations, des mosaïques jaunes ou des panachures à jaunissement total du limbe. Les vignes infectées peuvent subir une réduction significative de la végétation.

Dans ce contexte, il paraît très intéressant de se pencher sur le problème majeur que représente le court-noué dans les vignobles algériens vu d'une part, l'interdiction de l'utilisation de la quasi-totalité des molécules « nématocides »

utilisées pour contrôler les populations de nématodes vecteurs et l'absence d'une alternative technique pour lutter contre cette maladie. D'autre part, le manque des connaissances sur la situation sanitaire des vignobles malgré que des cas très graves du *GFLV* sur plusieurs variétés de vigne aient été signalés au centre du pays (Mitidja, Tipaza et Médéa) par Martelli (1985) et par Ben freha (1983); Melouk (2002); 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).

Notre objectif dans ce présent travail consiste à évaluer la maladie du court-noué de la vigne dans trois différentes régions viticoles (Alger, Blida, Médéa) et sur différents cépages (*Cardinal*, *Gros Noir*, *Muscat d'Alexandrie*, *Muscat italia* et *Dattier de Beyrouth*) par la recherche et l'identification du *GFLV*. Notre étude va porter donc sur plusieurs volets: Analyse symptomatologique directe, détection biologique du *GFLV*, la recherche du *Xiphinema index* nématode vecteur du *GFLV* et la détection immuno-enzymatique du virus par la méthode DAS-ELISA direct dans les différents vignobles prospectés.

## CHAPITRE 1 : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

### 1.1. Généralités sur la plante hôte

#### 1.1.1. Historique

La vigne traditionnellement cultivée appartient à l'espèce *Vitis vinifera* L. C'est une espèce à vocation agronomique remarquable, chargée d'histoire et de symboles et offrant une diversité exceptionnelle [1].

Les connaissances actuelles permettent de constater que la vigne et le vin font partie de la vie humaine depuis la préhistoire. Il semble que nos ancêtres du néolithique qui pratiquaient déjà la chasse et la cueillette aient domestiqué la vigne entre le 5<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> millénaire avant notre ère dans la région du Caucase. En Iran sur les parois internes de poteries des résidus d'acide tartrique, un des principaux composants du vin, datant de 7 500 ans ont été retrouvés. La culture de la vigne s'est ensuite répandue en Mésopotamie pour poursuivre autour du bassin Méditerranéen en Égypte vers -3 000, en Grèce vers -2 500 et à Marseille dès 600 avant JC [2].

Les auteurs latins comme Pline l'Ancien et Columelle citent des dizaines de cépages et il en existe aujourd'hui plusieurs milliers. Il faut quand même attendre le 19<sup>ème</sup> siècle pour voir apparaître l'ampélographie, science dédiée exclusivement à l'étude de la vigne, des espèces et des variétés : les cépages.

Les premiers hommes à cultiver la vigne ont naturellement choisi les plantes femelles et détruisent les plantes mâles bien que sans celles-ci, les femelles seraient, elles aussi, improductives. L'expérience leur aura donc appris à sélectionner uniquement les hermaphrodites et donc à développer ce caractère génétique qui, en fin de compte, différencie la vigne cultivée (*sativa*) de la vigne sauvage (*sylvestris*) [3].

Par ailleurs, la viticulture en Algérie a débuté avant la colonisation française. Selon [4], la superficie de la vigne était estimée à environ 3000 ha représentée principalement par les cépages autochtones et ceux introduits du Moyen Orient par les Turcs. La superficie du vignoble algérien passait de 23000 ha en 1880 à 123000 ha en 1896 [4] [5]. Selon Mullins (1992) [6], l'encépagement des plantations était fait exclusivement de cépages de cuve originaire d'Europe

occidentale (France, Espagne, Italie,...) en général, au détriment des cépages autochtones.

En 1918, les vignes avaient conquis près de 171 723 hectares [7], 396 000 hectares en 1935-1936 [8] et s'étendaient sur 399 447 hectares où ce fut leur summum [7]. Selon Larbi (1993) [9], la période de 1962 à 1983 a connu des bouleversements profonds liés à des arrachages intensifs des vignobles de cuve (221 000 ha) et ceci dans le cadre de la reconversion.

### 1.1.2. Importance économique de la vigne

#### 1.1.2.1. 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) [10] [11].

Le vignoble mondial total a connu en 2014 une légère croissance, 10 milliers d'hectares par rapport aux années précédentes [12]. 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 [12].

#### 1.1.2.2. 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 1.1: Situation viticole en Algérie de 2003 à 2013 [13].

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 1.1, on remarque que les surfaces occupées par la vigne sont en régression ces dernières années. Par conséquent, la production et le rendement ont connus une nette amélioration avec un rendement de 77.82 Qtx/Ha en 2013.

### 1.1.3. Taxonomie de la vigne

La vigne appartient à la famille des *Vitaceae* qui comporte 17 genres, parmi lesquels le genre *Vitis* [14]. Le mot *Vitis* signifie en grec ancien « baguette courbée » [15].

D'après Péros *et al.*, (2010) [16], l'origine du genre *Vitis* est située en Eurasie et il s'est ensuite étendu vers l'Ouest sur le continent américain. La séparation des continents et les périodes de glaciations successives du pléistocène, ont alors provoqué l'isolement de populations qui a conduit à des événements de spéciations.

Le genre *Vitis* est en fait composé de deux sous-genres (*Euvitis* et *Muscadinia*) sur la base des caractères morphologiques et anatomiques [17], ainsi que de leur garniture chromosomique ( $2n = 40$ ) pour *Muscadinia* et ( $2n = 38$ ) pour *Euvitis* [17]. Le sous-genre *Muscadinia* comprend deux espèces (*Muscadinia popenoei*, et *Muscadinia rotundifolia*) [16].

Le sous-genre *Euvitis* comprend une soixantaine d'espèces diploïdes dont *Vitis vinifera* L. Ces espèces, malgré la spéciation, sont restées inter-fertiles. D'après Galet (1988) [18], elles sont classées selon leurs origines géographiques:

**1) Vignes américaines** : utilisées en particulier depuis la crise phylloxérique comme porte-greffes ou en croisement avec *Vitis vinifera* L.

**2) Vignes asiatiques** : notamment l'espèce *Vitis amurensis* qui est utilisée dans les programmes d'amélioration pour sa tolérance au froid;

**3) Vignes euro-asiatiques** : *Vitis vinifera* L. qui regroupe l'ensemble des cépages cultivés, de cuve et de table appartenant à la sous espèce *Vitis vinifera* subsp. *vinifera*, ainsi que les vignes sauvages de la sous espèce: *Vitis vinifera* subsp *sylvestris*.

#### 1.1.4. Morphologie de la vigne

La vigne est une plante pérenne, dicotylédone de type liane, ligneuse à port grimpant. L'écorce est squameuse, les rameaux filiformes et flexibles portent des feuilles et [19] [20]. Les feuilles ont une distribution alterne et sont pétiolées avec cinq nervures principales, Elles possèdent un sinus pétiolaire et sont plus ou moins découpées, constituées d'un ou plusieurs lobes. Les fleurs sont à 5 pétales, petites, de couleur verte, formant des inflorescences en grappe. Les fruits sont charnus et communément appelés baies de raisin [16].

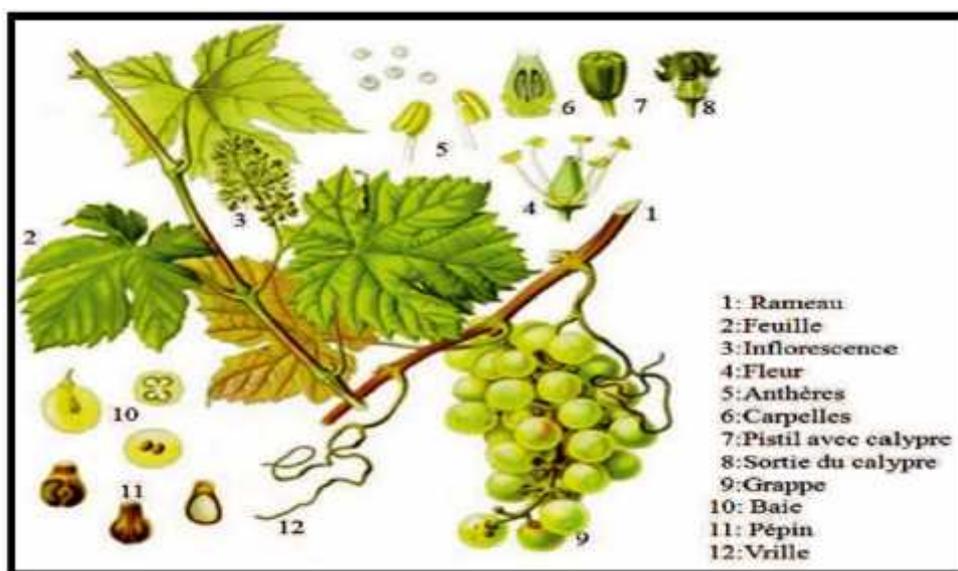


Figure 1.1 : La vigne, présentation des différents organes [16].

Comme toute plante, elle développe un système racinaire qui colonise le sol et le sous-sol. Le système aérien, formé d'un tronc qui se divise en bras portant des bois de taille qui peuvent être longs (baguette) ou court (coursons). Ces bois sont appelés sarment, qui sont capables de se fixer par les vrilles, ils portent les yeux. Ces derniers donneront naissance à des rameaux feuillés et fructifères [21].

Depuis la crise phylloxérique dans les années 1870, le recours au greffage s'est quasiment généralisé et un plant de vigne est désormais composé d'un porte-greffe, obtenu à partir d'espèces d'origines américaines, pour la partie racinaire et d'un cépage de *Vitis vinifera* L. pour la partie aérienne [22].

### 1.1.5. Stades repères du développement

Le cycle végétatif qui correspond à la croissance des organes : rameaux, feuilles, vrilles et racines, comporte plusieurs stades phénologique [23] [24].

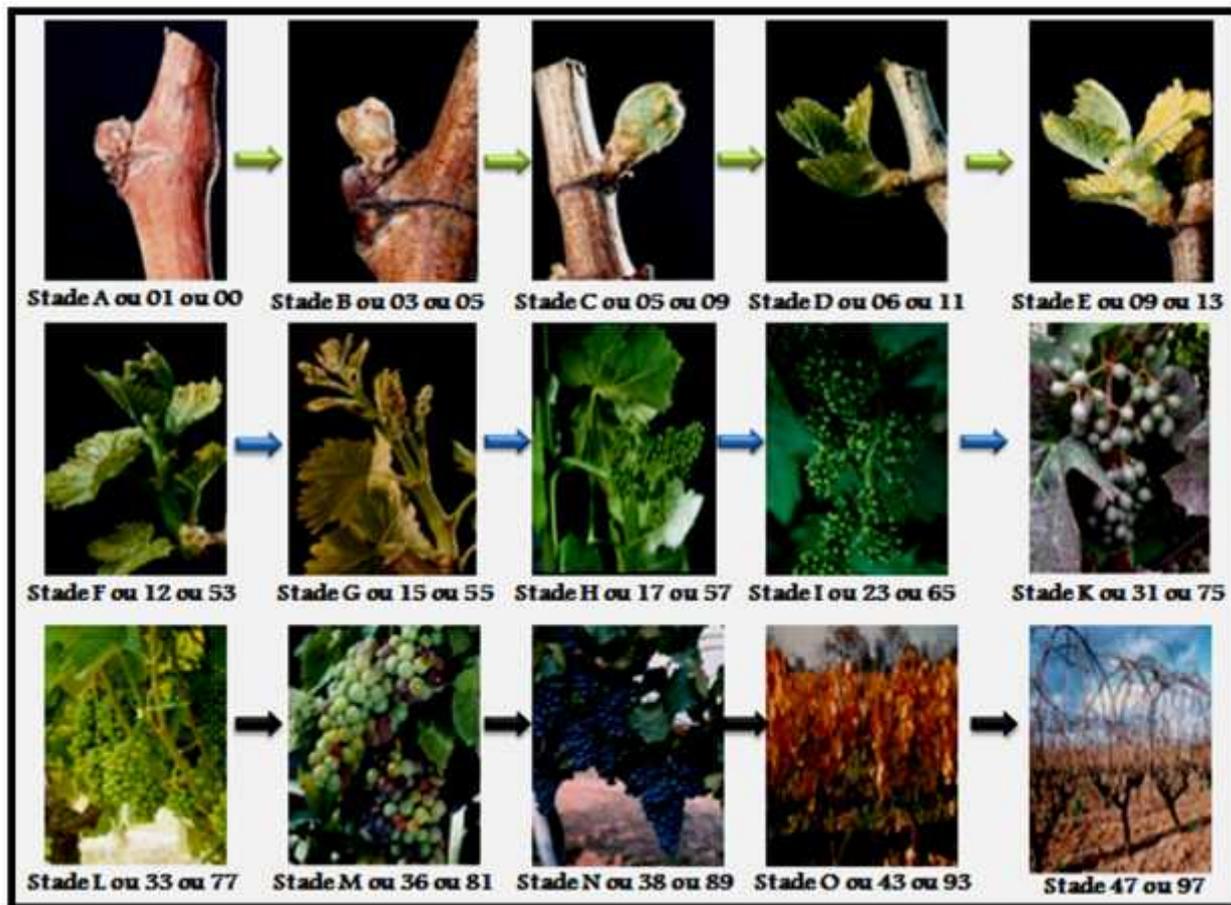


Figure 1.2 : Stades phénologiques de la vigne [25]

Légende : *Stade A ou 01 ou 00 : Bourgeon d'hiver. Stade B ou 03 ou 05 : bourgeon dans le coton. Stade C ou 05 ou 09 : pointe verte. Stade D ou 06 ou 11 : sortie des feuilles. Stade E ou 09 ou 13 : 2 à 3 feuilles étalées. Stade F ou 12 ou 53 : grappes visibles. Stade G ou 15 ou 55 : boutons floraux agglomérés. Stade H ou 17 ou 57 : boutons floraux séparés. Stade I ou 23 ou 65 : Floraison. Stade K ou 31 ou 75 : petit pois. Stade L ou 33 ou 77 : fermeture de la grappe. Stade M ou 36 ou 81 : véraison. Stade N ou 38 ou 89 : maturité. Stade O ou 43 ou 93 : début de la chute des feuilles. Stade 47 ou 97 : fin de chute des feuilles.*

Depuis 1994, la notation des stades phénologiques de la vigne s'effectue suivant une échelle numérique s'étalant de 1 à 47, établie par Eichhorn & Lorenz.

Cette échelle complète celle de Baggiolini, notée de A à O. Enfin, il existe une échelle universelle, appelée BBCH (Biologische Bundesanstalt bundessortenant and CHimical industry). Chaque stade est défini par une lettre et deux chiffres dans l'ordre Baggiolini, Eichhorn & Lorenz et BBCH [25].

#### 1.1.6. Exigences de la vigne

##### 1.1.6.1. Exigences climatiques

La vigne a une large plasticité d'adaptation. Cependant, il est essentiel de connaître les principaux facteurs climatiques qui influencent la production viticole. **Reynier (1986)** [26] mentionne que la forêt constitue l'habitat naturel de la vigne. **Galet (1988)** [18] a regroupé 3 climats favorables à la vigne avec les climats tempérés (océaniques et continentaux), méditerranéens et les climats équatoriaux sont les plus favorables. Les moins favorables sont les climats de montagne et les climats désertiques.

La vigne est une plante héliophile qui exige donc des climats lumineux, car ses fleurs nouent mal à l'ombre ou par temps brumeux [26]. Selon les travaux de **Simon et al. (1992)** [27], la vigne est une plante de jour long, qui nécessite un ensoleillement entre 1500 et 1600 heures/an.

La température joue un rôle primordial : en effet, le développement optimal de la vigne est limité par des seuils thermiques aux différents stades du cycle végétatif, notamment d'avril à septembre quand la vigne est active [28].

##### 1.1.6.2. Exigences pédologiques

La vigne est une plante peu exigeante sur le plan nutritionnel minéral, elle s'accommode d'un sol pauvre, caillouteux, lourd ou sableux. Mais des sols profonds argilo - limoneux, ayant une bonne structure et riches en matière organique garantissent un bon développement [29] ; [30].

L'influence du sol sur le comportement de la vigne et sur la constitution du raisin se situe davantage au niveau de l'alimentation en eau qu'il fournit à la vigne qu'au niveau de la nutrition minérale. Une contrainte hydrique modérée est favorable à la qualité, car elle favorise un arrêt de croissance précoce des rameaux et elle limite le grossissement des baies [31] ; [32] ; [33].

## 1.2. Principaux ravageurs et agents pathogènes

La vigne, comme d'autres plantes qui ont considérablement une importance socio-économique, est troublée par des attaques de plusieurs ravageurs et des infections causées par de nombreux agents phytopathogènes.

### 1.2.1. Principaux ravageurs

#### 1.2.1.1. Phylloxera

Le phylloxéra est un insecte qui fut signalé sur la vigne par Asa Fitch aux Etats-Unis en 1854 Cet insecte est un puceron de la famille des Aphidinés. En France, Planchon l'avait appelé *Phylloxera vastatrix* [34].

Les dégâts varient selon la nature de sol et la sensibilité des vignes et presque tous les pays viticoles sont phylloxérés. Selon Galet (1991) [35], le phylloxera a été identifié en Algérie en 1879. Les dégâts sont estimés de 30 à 60% [36].

#### 1.2.1.2. Pyrale

La pyrale fut découverte en 1786 à Paris. Elle n'a pas une grande importance économique, mais elle peut être occasionnellement très nuisibles [27]. Galet (1982) [33] rapporte que la pyrale hiverne sous les écorces à l'état de très petite chenille enveloppée dans un cocon et, se développe très rapidement et atteint sa taille définitive en juin et se développent entre 25 et 30°C. La pyrale n'a qu'une génération par année.

#### 1.2.1.3. Nématodes

Les nématodes sont des animaux vermiformes, les plus souvent microscopiques et forment sur les racines des nodules qui ont l'aspect de galles. On les retrouve pratiquement dans tous les milieux, à la fois sous forme de parasites ou d'organismes libres.

Il est également bien reconnu que certains nématodes ectoparasites sont des agents importants de transmissions de virus aux plantes (*Xiphinema* sp ; *Longidorus* sp) [37].

## 1.2.2. Principaux agents pathogènes

### 1.2.2.1. Champignons

A coté des grandes maladies cryptogamiques de la vigne qui causent des dommages dans la plupart des vignobles du monde, il existe d'autres champignons plus ou moins étudiés qui peuvent se rencontrer sur les vignes cultivées ou les Vitacées sauvage. Les dégâts occasionnés sont en général peu importants, mais sous certains climats humides et chauds ils peuvent provoquer des dommages non négligeables [38].

### 1.2.2.2. Mildiou

Le mildiou de vigne est une maladie originaire d'Amérique du Nord qui fut observée pour la première fois en France (Planchon en 1878). Elle est due à un champignon, *Plasmopara viticola*, qui se développe sur tous les organes verts. Elle fut à l'origine de pertes catastrophiques de récolte [39].



Figure 1.3. : Symptômes du mildiou sur la vigne [39].

a) Sur les feuilles b) Sur les baies c) Sur les sarments

### 1.2.2.3. Oïdium

L'oïdium de la vigne, originaire d'Amérique du Nord, se manifeste d'abord dans des serres anglaises puis fut observé en France, pour la première fois, en 1847, dans une serre de la région parisienne. Cette maladie est due à un champignon, *Erysiphe necator* (*Uncinula necator*), se développe à la surface de tous les organes herbacés de la vigne [39].

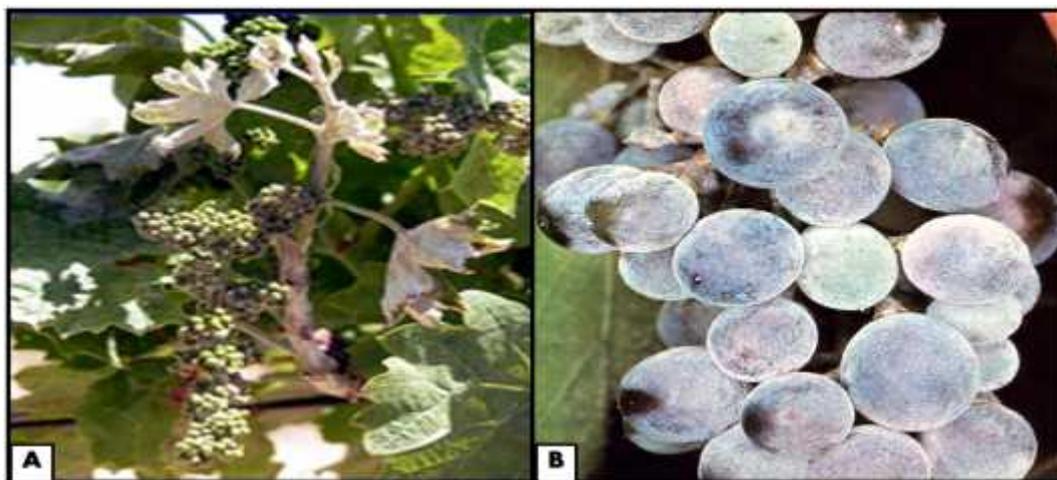


Figure 1.4: Symptômes de l'oïdium sur la vigne [39].

A) Sur les feuilles et les sarments B) Sur les grappes

#### 1.2.2.4. Pourriture grise

La pourriture grise est une maladie cryptogamique qui préoccupe l'ensemble des viticulteurs car le champignon *Botrytis cinerea* s'attaque à un grand nombre de plantes. Chez la vigne *Botrytis cinerea* se manifeste sur les organes herbacés (feuilles, rameaux, inflorescences), sur les greffes-boutures en chambre chaude de stratification (maladie de la toile) et sur les grappes [39].

#### 1.2.2.5. Pourriture noire

La pourriture noire est une maladie indigène de l'Amérique du Nord causée par le champignon *Guignardia bidwellii*. La vigne est particulièrement sensible au printemps lors des périodes de forte croissance. La pourriture noire est une maladie qui affecte les organes en croissance (feuilles, pétioles, vrilles et tiges) et les baies [40].

### 1.2.3. Maladies bactériennes

Plusieurs maladies bactériennes ont été signalées sur les vignobles. Elles touchent presque tous les organes de la vigne.

#### 1.2.3.1. Tumeur du collet

La tumeur du collet est une maladie causée par la bactérie *Agrobacterium vitis*. La maladie est présente dans plusieurs vignobles et est difficile à contrôler.

La bactérie responsable est disséminée par le matériel de multiplication de la vigne [40].

#### 1.2.3.2. Nécroses

C'est une maladie fugace qui se manifeste d'une manière cyclique. Elle peut entraîner des pertes importantes de récolte dans les parcelles les plus touchées. Cette maladie est due à une bactérie *Xylophilus ampelinus*, qui se conserve sur les bois vivants mais aussi pendant 5 à 6 mois sur les bois de taille laissé sur le sol [39].

#### 1.2.3.3. Maladie de Pierce

La maladie de Pierce est due à une bactérie *Xylella fastidiosa* [39]. Cette maladie appelée autrefois maladie de Californie, elle provoque des dommages importants aboutissant à la mort des souches [35]. La maladie est véhiculée par des insectes : cicadelles et Cécrops. La transmission est possible aussi par voie végétative (bouturage et greffage) [39]. La maladie de Pierce freine le développement de certains cépages de *V. vinifera* [41].

#### 1.2.4. Maladies virales

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 le court-noué, l'enroulement foliaire et le complexe du bois strié [39].

##### 1.2.4.1. Enroulement viral ou complexe de l'enroulement

L'enroulement viral est causé par 10 virus différents avec des particules filamenteuses ont été trouvés dans des vignes portant des symptômes d'enroulement [42]. Ils sont appelés *Grapevine Leafroll-associated Viruses* (GLRaVs) et sont différenciés les uns des autres par un numéro de 1 à 10. Tous les GLRaVs appartiennent à la famille des *Closteroviridae* [41].

La déssemination naturelle se réalise par plusieurs cochenilles et insectes et seuls les vecteurs du GLRaV-1, -3,-5 et -9 sont pour l'instant identifiés avec

certitude et on peut penser que tous ne sont pas encore connus pour ces virus [43].



Figure 1.5: Les différentes espèces de cochenilles vectrices du *GLRaV-1* et/ou du *GLRaV-3* [44].

Sur les cépages européens l'enroulement viral s'exprime par un enroulement des feuilles vers le bas accompagné d'un rougissement des limbes sur cépages rouges et d'un jaunissement sur cépages blancs [45].



Figure 1.6: Symptômes de l'enroulement viral de la vigne [45].

A) Symptômes sur cépage rouge B) Symptômes sur cépage blanc C)  
Diminution du taux d'antocyanes dans les raisins.

#### 1.2.4.2. Bois strié de la vigne

Les agents viraux probables associés aux différentes maladies du bois strié sont des membre des genres *Vitivirus* ou *Foveavirus* appartenant à la famille des *Flexiviridae*. Les *Faveavirus* sont restreints au phloème. Le *Grapevine Rupestris Stem Pitting-associated Virus (GRSPaV)* est associé au *RSP* et appartient au genre *Foveavirus* [46].

Les premières observations d'une possible dissémination au vignoble ont été faite au Mexique. Aujourd'hui, il a été démontré que le *GVA* et le *GVB* peuvent être transmis par des cochenilles et/ou des insectes volants selon un mode semi-persistant [46].

De façon générale, comme le mentionnent Martelli (1993) ; Martelli et Boudon-Padiou (2006) [47] [43], les maladies du bois strié se manifestent par une diminution de la taille et de la vigueur, un retard au débourrement et un dépérissement. Les symptômes caractéristiques se trouvent en dessous de l'écorce, sur le cylindre du bois. (fig.1 .7)

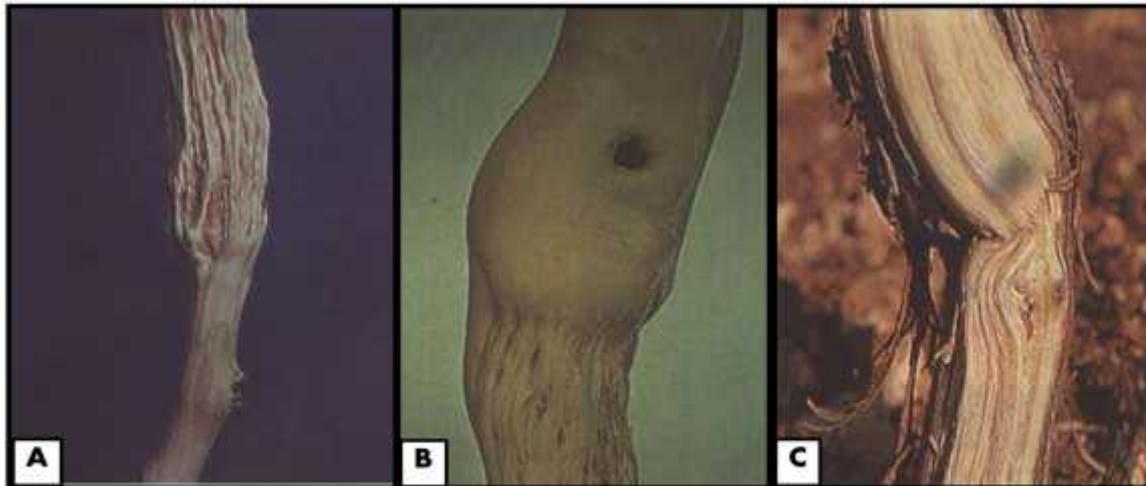


Figure 1.7: Symptômes de la maladie du bois strié [47] [43].

- A) *Symptômes uniquement sur le greffon* B) *Symptômes uniquement sur le porte-greffe* C) *Symptômes sur le greffon et le porte-greffe.*

#### 1.2.4.3. Marbrure ou complexe de la marbrure (Fleck complex)

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 [41]. 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, A frique 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 [48].

Selon Martelli (2008) [49], 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 rempliement 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. (fig.1.8).



Figure 1.8: Eclaircissement typique des nervures sur *Vitis rupestris* [49].

#### 1.2.4.4. Court-noué

Le *Grapevine Fanleaf Virus* est le virus responsable de la maladie du court-noué *stricto-sensu* : sa répartition est mondiale et il est transmis spécifiquement par le nématode *Xiphinema index* [41].

Les symptômes provoqués par le *GFLV* sur la vigne sont du même type pour toutes les infections. Il s'agit de déformations et diminutions de la tailles des feuilles, d'altérations chromatiques, de raccourcissements des entre-nœuds, double-nœuds, fasciations (aplatissement des sarments), de diminutions du nombre et de la tailles des grappes, de coulures et millerandages [46].



Figure 1.9: Symptômes du court-noué dans une parcelle [50].

### 1.3. Court-noué de la vigne

Le court-noué est l'une des maladies virales les plus sévères infectant la vigne. C'est aussi la plus ancienne maladie connue de la vigne. La plupart des auteurs la présente comme la virose la plus importante tant au niveau de sa présence sur le globe que de son incidence sur l'économie de la filière viti-vinicole et sur l'état sanitaire des vignobles [51];[52];[53];[54];[55].

Selon Martelli et Savino (1988) [56], la maladie du court noué sur la vigne a été décrite depuis plus 200 ans en Europe sur les portes-greffes hybrides.

Le court-noué infecte les portes-greffes et les cépages issus des *Vitis* américains ou de *Vitis vinifera* et leur hybrides. L'infection conduit à la mort du cep atteint soit d'une façon rapide soit suit à un dépérissement lent [57]. On estime en moyenne à 50% la diminution du temps de productivité d'un vignoble infecté par le *GFLV* [58].

### 1.3.1. Impact de la maladie sur la vigne

Selon les travaux de Gouadec (2007) [59], 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.

### 1.3.2. Historique

Cazalis-allut (1865) [60]; Rathay (1882) [61] et Cholin (1896) [62] ont décrit le court noué en France, Autriche, Italie et Allemagne respectivement.

Dés 1902, en s'appuyant sur les récentes découvertes de Beijerinck (1898) [63] sur le *contagium vivum fluidum*. Baccarini (1902) [64] émet pour la première fois l'hypothèse que le court noué est dû à un virus. En 1906, Schiff-giorgini transmet le court noué par greffage.

Les travaux de Pantanelli (1912) [65], affirment qu'il est transmis par le sol. La première mise en évidence expérimentale confirmant cette transmission a été obtenue par **Petri** en 1918. Il prouve que la désinfection à 120°C des sols contaminés, ou la filtration des eaux provenant de ces sols à travers des filtres de porcelaine, prévient des infections par les racines de la vigne. Par contre, à l'issue de ces expériences il émet une hypothèse fautive comme quoi le court noué pourrait être une maladie fongique. Il dément ceci en 1929 disant que « l'arricciamento » (court noué en italien) a une origine virale [66].

En 1937, Arnaud confirme que la dégénérescence infectieuse est une maladie causée par un virus venant du sol. Il émet la possibilité que le phylloxera soit

impliqué comme vecteur. Jusqu'à la fin des années 40, cette piste a été testée [67].

En 1950, Hewitt décrit des symptômes de « fanleaf » et « yellow mosaic » en Californie sur des *Vitis* américains. En 1958, des découvertes importantes vont révolutionner les connaissances de la maladie. Bovey (1958) [68] publie les premiers résultats positifs de traitement par chaleur avec une élimination temporaire des symptômes sur les nouvelles pousses.

Vuittenez (1958) [69] prouve que la fumigation des sols contaminés avec des nématocides prévient de l'infection les jeunes plants sains replantés immédiatement. Cadman et *al.*, (1960) [70], réussissent à transmettre le *GFLV* à des hôtes herbacés par inoculation mécanique et ainsi à caractériser certaines propriétés biologiques et sérologiques de ce virus. C'est seulement en 1962 que Hewitt transmet le *GFLV* d'une vigne au *C. amaranticolor* pour le retransmettre ensuite à la vigne en utilisant *X. index* comme vecteur. Ces expériences démontrent formellement que le *GFLV* est l'agent causal du « fanleaf degeneration disease » [71].

### 1.3.3. Répartition géographique

Selon Galet (1977) [38], en dehors des pays d'Europe du bassin méditerranéen notamment en France, en Italie, en Allemagne et en Autriche-Hongrie. Le court-noué a été signalé en Afghanistan, en Algérie, en Tunisie, en Malte et en Turquie. Le court-noué continue sa progression dans les vignobles du monde à cause des échanges commerciaux et scientifiques [72].

### 1.3.4. Taxonomie

Les virus de la dégénérescence infectieuse, dont le *GFLV* et l'*ArMv*, ont été à l'origine inclus dans le groupe des *Nepovirus*, inexistant en taxonomie, qui a par la suite donné naissance au genre *Nepovirus* [73]. Selon le même auteur, le genre *Nepovirus* appartient à la famille de *Comoviridae*.

Le groupe des *Nepovirus* est divisé en trois sous-groupes selon les propriétés physico-chimiques des virus. Le *GFLV* appartient au sous groupe A [73] ; [43].

### 1.3.5. Structure et expression du génome

Les virus de la famille des *Comoviridae* sont des particules virales polyhédriques ou icosaédriques avec un diamètre variant de 28 à 30nm [57].

Selon les travaux de Le Gall et *al.*, (2005) [74], la capside des *Nepovirus* est typiquement composée de 60 sous-unités d'un seul polypeptide variant de 52 à 60 kDa. Le génome viral est constitué de deux ARN, ARN 1 et 2, simple brin de polarité positive. L'extrémité 5' de chaque ARN est liée de manière covalente à une protéine virale, la Vpg, et l'extrémité 3' est polyadénylée.

Certains isolats de *Nepovirus*, comme la souche F13 du *GFLV*, possèdent un ARN supplémentaire que l'on appelle ARN satellite ou RNA 3, qui est encapsidé dans les mêmes particules virales que les ARN génomiques, il code pour une protéine (P3) [75].

Les particules nucléoprotéiques du *GFLV* ont un diamètre de 28nm et sédimentent en gradient de saccharose en 3 fractions distinctes qui correspondent à la même coque protéique mais d'un contenu en acides nucléiques variable. Elles sont appelées « top »(T), « middle »(M), et « bottom »(B). La fraction T est constituée de particules vides, la fraction M de particules contenant le RNA 2 et la fraction B de particules contenant les deux ARN (1 et 2). L'ARN génomique 1 code pour une polyprotéine notée P1 de masse moléculaire 253 kDa et l'ARN génomique 2 pour la polyprotéine P2 de masse moléculaire 122 kDa. (fig 1.10).

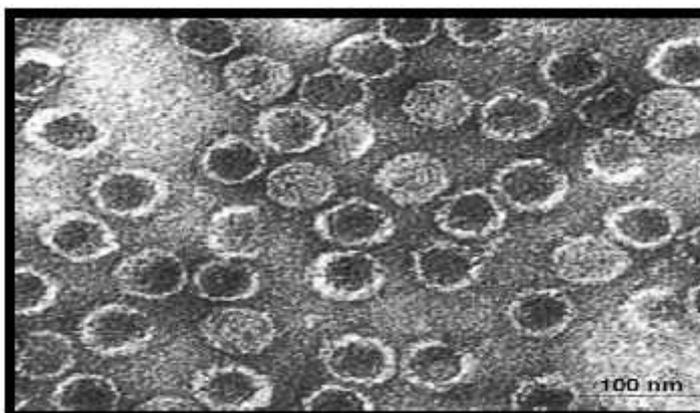


Figure 1.10: Cliché de microscopie électronique montrant des particules virales de *GFLV* après purification. La barre représente 100 nm [50].

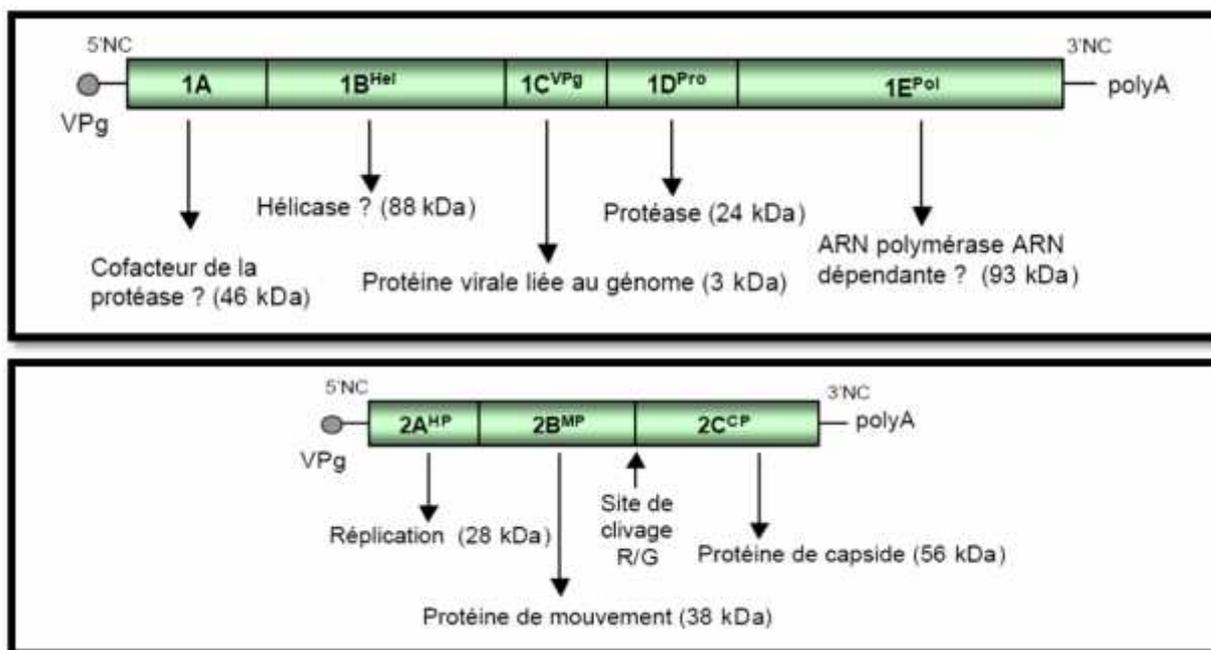


Figure 1.11: Structure et expression des ARN 1 et 2 du *GFLV* [77].

Cinq produits de maturation résultent du clivage de la polyprotéine P1 : la protéine 1A (46 kDa), 1B<sup>Hcl</sup> (88 kDa), 1C<sup>VPg</sup> (3 kDa), 1D<sup>pro</sup> (24 kDa) et 1E<sup>pol</sup> (92 kDa), en partant de l'extrémité n-terminale vers l'extrémité c-terminale de P1. Ces protéines sont libérées par un clivage en cis au niveau de sites spécifiques identifiés par l'action de la protéine 1D<sup>pro</sup> [78]. Les résultats suggèrent que la protéine 1A soit un cofacteur de la protéase. La protéine 1B<sup>hel</sup>, qui possède un domaine de fixation des nucléotides, est supposée être une hélicase alors que la présence d'un motif GDD permet de proposer une fonction polymérase RNA-dépendante pour la protéine 1E<sup>pol</sup> [79]. L'étude de l'expression du génome du GFLV a montré que 1C<sup>VPg</sup> est liée de manière covalente à l'ARN virale [78]. La maturation des polyprotéines a été attribuée à la protéine 1D<sup>pro</sup> [80].

Le clivage de la polyprotéine P2 est réalisé en trans par la protéase 1D<sup>pro</sup>. Il conduit à la formation de 3 protéines mature : 2A<sup>HP</sup> (28k Da), 2B<sup>MP</sup> (38 kDa) et 2C<sup>CP</sup> (56 kDa) en allant de l'extrémité N- à C-terminale.

La protéine 2A est nécessaire à la réplication du RNA2. Elle pourrait avoir un rôle sur l'adressage du RNA2 ou P2 vers un site périnucléaire correspondant au site de réplication du virus [81]. La protéine 2B<sup>MP</sup> est la protéine de mouvement et un constituant des structures tubulaires qui partent de la paroi cellulaire et sont

observées dans des plasmodesmes modifiés de cellules infectées par le *GFLV*. La protéine 2C<sup>CP</sup> est la protéine de capsid [82];[77].

### 1.3.6. Symptomatologie

#### 1.3.6.1. Symptômes macroscopiques

##### A. Sur les sarments

Raccourcissement et déformation des entre-nœuds, double nœuds, fasciation (la fasciation consiste en une morphogénèse anormale des tiges qui perdent leur symétrie radiale et s'aplatissent en une bandelette symétrique par rapport à un plan). Les rameaux ont une croissance en zigzag [46].(fig 1.12)

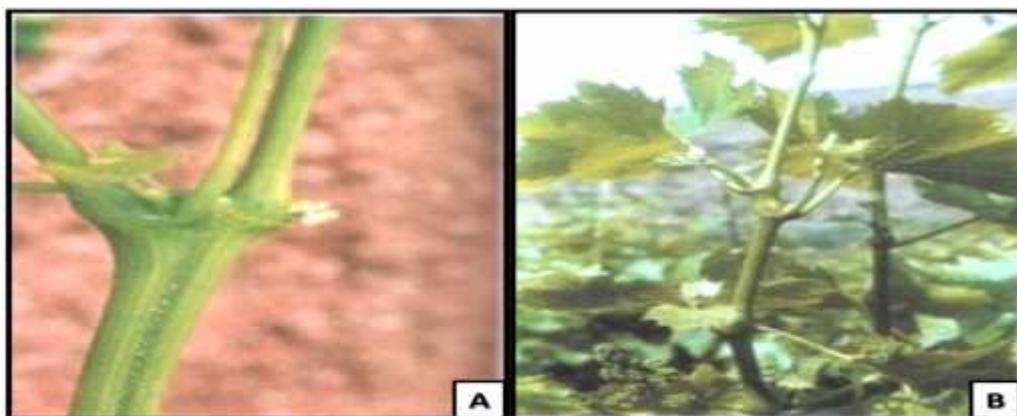


Figure 1.12: Symptômes de malformation sur sarments [59].

(A) *Fasciation, bifurcations et bois aplati.* (B) *entre-nœuds court.*

##### B. Sur les feuilles

#### ) **Réduction de la surface des feuilles et déformations :**

Le sinus pétiole s'élargit et les nervures principales se rapprochent en donnant à la feuille l'aspect d'un éventail. Cette comparaison a donné son nom au virus responsable de la maladie, « fan » ayant pour sens « éventail » en anglais. Le limbe est également atteint et devient asymétrique avec une exagération de la dentelure. La dentelure acérée des feuilles [46]. (fig. 1.13).



Figure 1.13: Sinus pétiolaire élargi et indentation plus prononcée [59].

) **Couleur des limbes modifiée :**

Ces anomalies ont pour origine un manque de chlorophylle dû aux altérations métaboliques entraînées par la virose. On regroupe ce type de modification de couleur sous le terme générique de chlorose ou hypochlorophyllose. Lorsque la chlorophylle est totalement absente, on obtient généralement une jaunisse due à la révélation de la couleur des carotènes et des xanthophylles. Les chloroses du court-noué présentent différents aspects : jaunissement total, panachure ou panachure réticulée, ou bien encore taches annulaires chlorotiques et mosaïque [46]. **(fig 1 .14)**



Figure 1.14: Panachure avec jaunissement des nervures [83].

) **Mosaïque :**

Ce terme désigne en phytopathologie l'alternance de zones de coloration verte et de zones jaunes ou chlorotique. Lorsque la séparation entre les zones de coloration différente est mal définie, diffuse, on parle de marbrure du feuillage. Si au contraire, les bords sont nettement définis il s'agit alors de panachure [46].



Figure 1.15: Mosaïque le long des nervures [59].

) **Jaunissement total :**

Dans le cas d'une infection par le court-noué le jaunissement total de la plante correspond a une couleur que l'on qualifie de jaune chrome. Cette couleur est assez spécifique de la virose [46]. (**fig. 1.16**).



Figure 1.16 : Jaunissement total de la plante [83].

) **Taches annulaires chlorotiques :**

Ces taches sont des jaunissements du limbe à bordures bien délimitées de forme arrondie [46].

) **Panachure réticulée :**

Il s'agit d'un jaunissement des nervures primaires et secondaires donnant l'aspect d'un quadrillage sur la feuille [46]. **(fig.1. 17).**

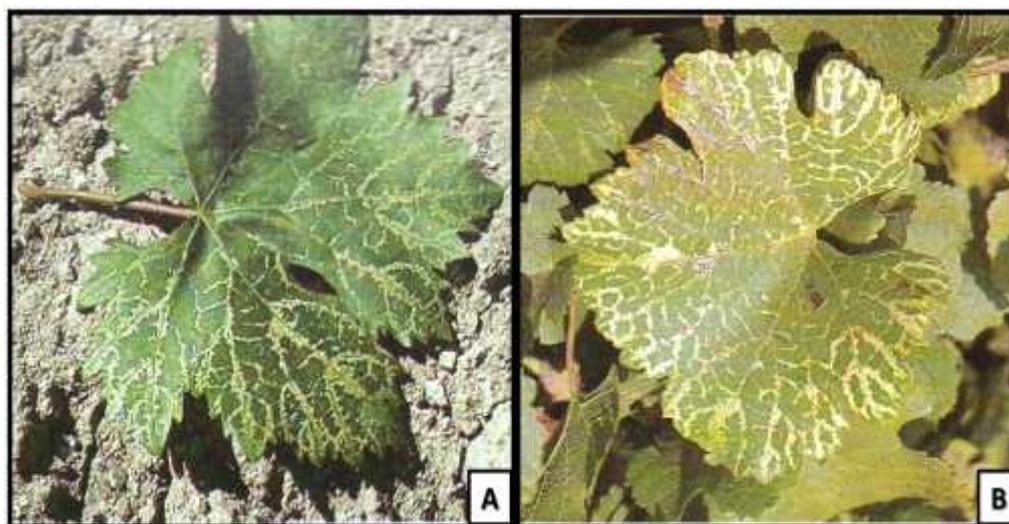


Figure 1.17: Symptômes de la panachure réticulée [52].

A) Panachure réticulée sur *Pedro ximens*. B) Panachure réticulée sur un cépage de *Vitis vinifera*.

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 [46]. (fig. 1. 18)

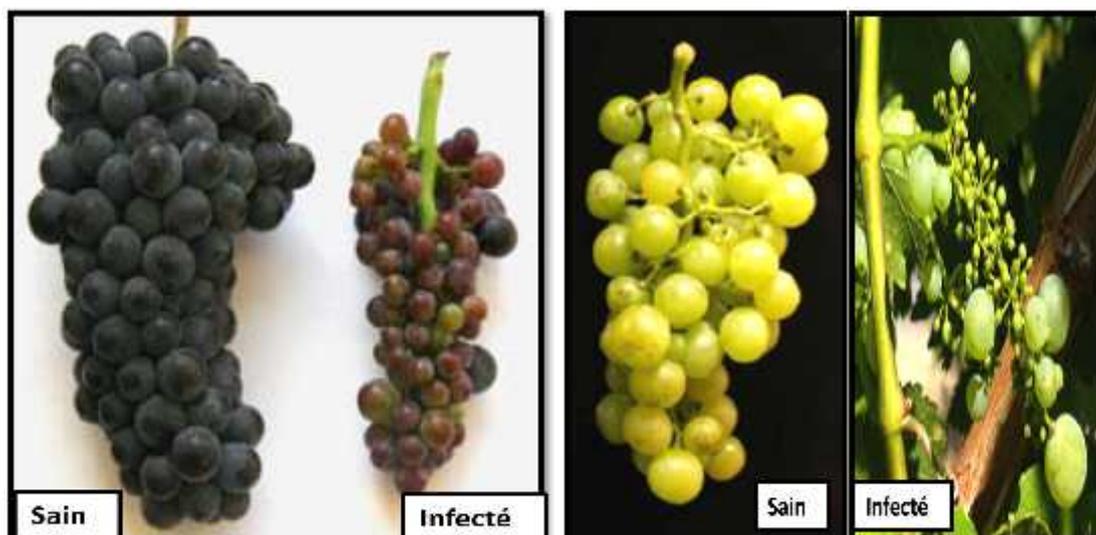


Figure 1.18: Symptômes sur les grappes [83].

#### 1.3.6.2. Symptômes microscopiques

L'infection virale entraîne des désordres au niveau intracellulaire. Elles ressemblent à des barreaux traversant la lumière des éléments vasculaires. Ces structures sont constituées d'un noyau protéique entouré d'une gaine de cellulose envahie de lignine, de subérine ou de cutine en fonction des tissus. Elles sont facilement visibles dans les rameaux lignifiés et les entre-nœuds basaux. Ce sont des symptômes internes d'infection très hautement caractéristique qui sont donc de très bons indicateurs de la présence du *GFLV* [46]. **(fig. 1.19).**

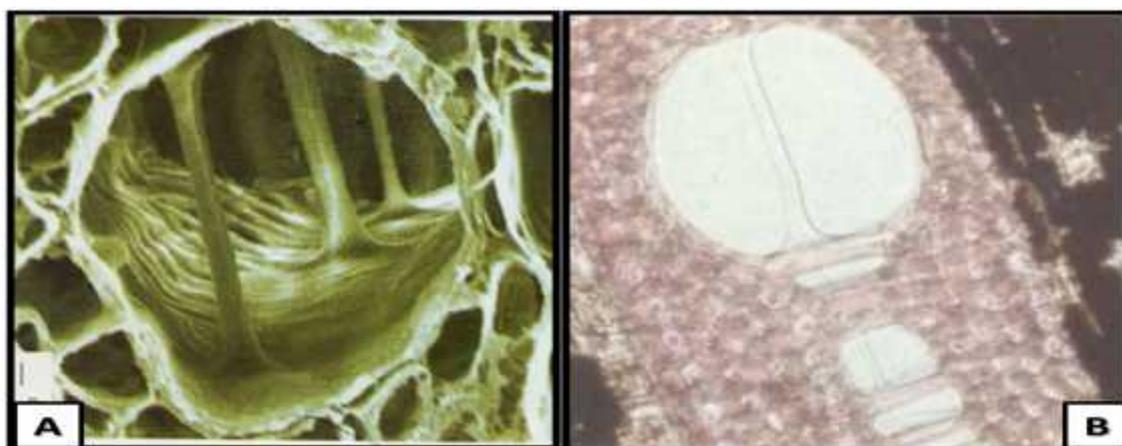


Figure 1.19: Symptômes microscopiques du cordon endocellulaires [84].

A) Symptômes microscopiques d'une cellule géante B) Symptômes microscopiques d'un cordon endocellulaire.

### 1.3.7. Epidémiologie du court noué

La maladie du court-noué est distribuée au vignoble sous forme de foyer de pieds de vigne malades. Cette répartition des plantes malades est caractéristique d'une transmission naturelle par un vecteur souterrain. L'extension de cette maladie est souvent lente mais inexorable. Cette extension progressive lente est liée au déplacement très faible des nématodes dans le sol qui est estimé à quelques centimètres par an [85].

La dissémination du nématode se fait de proche en proche par le transport de terre ou avec celle qui adhère aux instruments de travail du sol. La contamination des parcelles situées en aval d'un secteur contaminé est souvent due à l'érosion du sol et au ruissellement des eaux [86]. (fig.1.20).



Figure 1.20: Foyer de court-noué dans un vignoble en Bourgogne [87].

La vitesse de recontamination d'une nouvelle parcelle dépend de la densité en nématodes virulifères dans le sol. Celle-ci est liée au nombre de générations qui se sont succédées et qui ont permis l'installation du ou des nématodes virulifères dans la parcelle. Il est cependant important de noter que les effectifs communément retrouvés dans les parcelles atteintes sont faibles (en moyenne une dizaine d'individus par Kg de sol). En sol fortement contaminé, l'installation de jeunes plants est généralement compromise car la probabilité de rencontre entre nématodes et jeunes racines est très élevée. Dans ces conditions, les ceps de vigne peuvent être réinfectés dans l'année qui suit la plantation [87].

### 1.3.8. Voies de transmission

#### 1.3.8.1. Transmission par greffage

Comme tous les virus, le court-noué se transmet des greffons au porte-greffes et inversement. La multiplication végétative des rameaux ou des sarments sur les vignes malades est une des principales causes de l'extension et de la dissémination de la maladie [33].

#### 1.3.8.2. Transmission par semence

Le *GFV* se transmet facilement par la sève, mais non par les pépins [83]; la transmission sexuée de vigne n'est pas possible [33], par contre, elle est possible par graines de *Chenopodium amaranticolor* et le *Chenopodium quinoa* [88].

#### 1.3.8.3. Transmission par nématode

Les nématodes à stylet transmettent les virus selon un mode semi-persistant non circulant et non multipliant. Un point important dans la contamination c'est la spécificité élevée entre l'espèce de nématode et son virus associé [46].

Le nématode *X. italiae* a été proposé comme étant un vecteur du *GFLV* [89]. Cependant, cette association n'a jamais été confirmée par d'autres travaux [90] ; [91] ; [92]. Par conséquent, *X. index* est considéré comme étant le seul vecteur naturel du *GFLV* [90] ; [91] ; [58] ; [77] ; [93] ; [50] ; [92] ; [94].

### 1.4. Nématode-vecteur du court-noué

La transmission du court-noué par *Xiphinema index* (Fig. 21) a été la première fois mise en évidence en 1958 [95].

#### 1.4.1. Distribution géographique des vecteurs des *Nepovirus*

Les nématodes vecteurs des virus de la famille *Longidoridae* sont essentiellement endémiques en Europe et sur le continent nord-américain [90] ; [91] ; [96]. Il est fortement probable que les nématodes et leurs virus associés ont

été dispersés depuis l'Europe et le continent nord-américain vers l'Amérique du Sud, l'Afrique du Sud, la Chine, l'Asie, l'Australie et la Nouvelle-Zélande [96].

Certaines associations nématodes/virus ont une distribution géographique très large. Par exemple *X. index*/GFLV sont présents dans la quasi totalité des vignobles du monde [58]. 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 [91] ; [96] ; [58]. (fig.1.21).

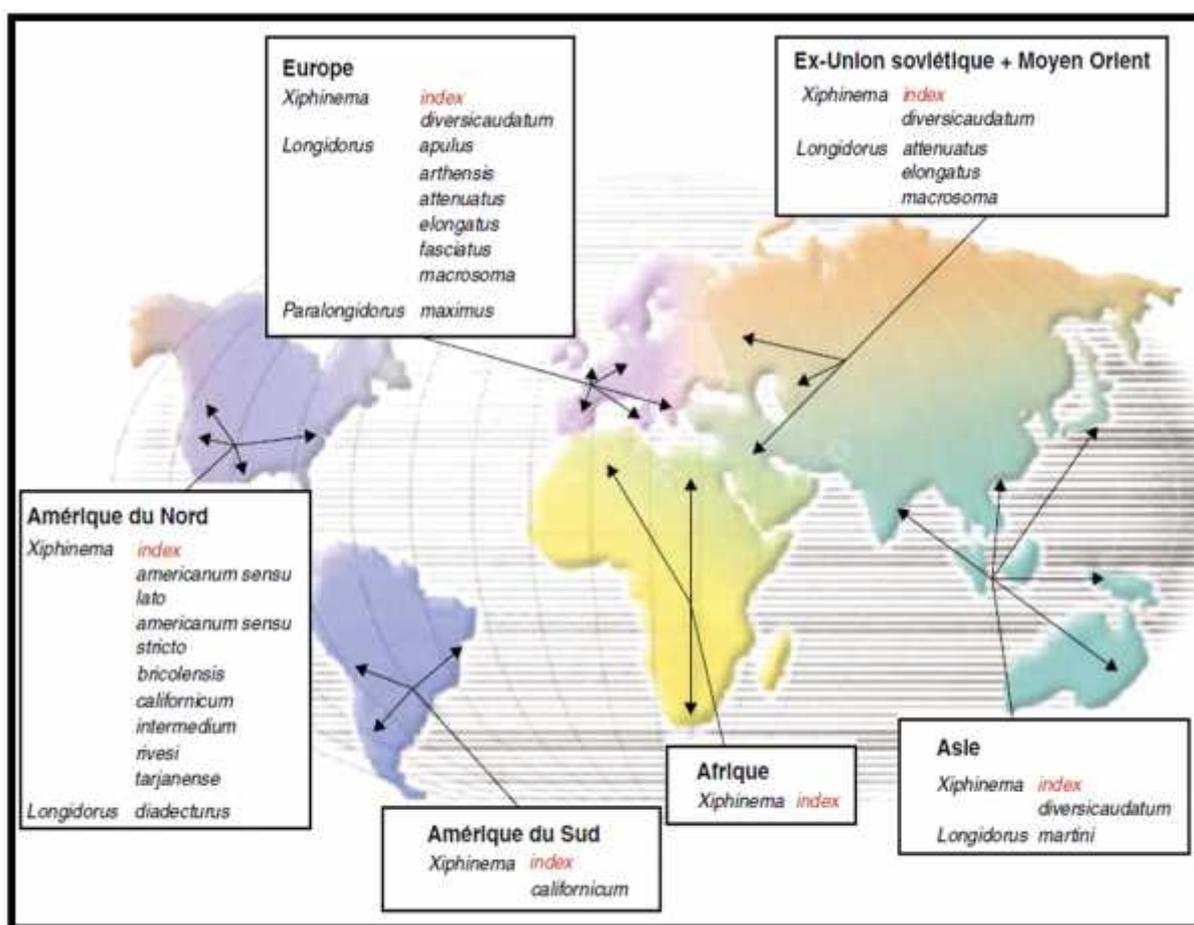


Figure 1. 21: Distribution mondiale des nématodes *Longidoridae*, *X.index* est indiqué en rouge [96].

#### 1.4.2. Morphologie

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. Ils ont un long stylet creux

de 60 à 250  $\mu\text{m}$  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'oesophage. Les larves en possèdent deux : le premier fonctionnel et le second situé plus bas dans la paroi de l'oesophage. Ce dernier devient fonctionnel lors de la mue, lorsque le nématode perd son odontostyle en même temps que sa cuticule (*Fig.1.32*). La partie postérieure du stylet est l'odontophore dont la partie basale est reliée aux muscles protracteurs qui permettent de faire sortir entièrement l'odontostyle [50].

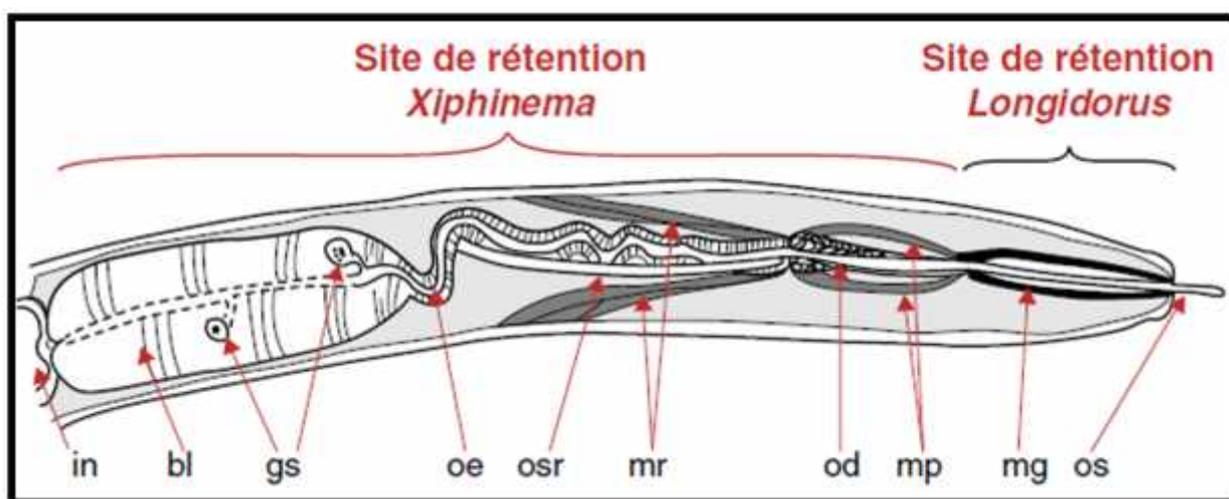


Figure 1.22: Partie antérieure des *Longidoridae* (stade larvaire). in : intestin ; bl : bulbe muscloglandulaire ; gs : glandes salivaires ; oe : oesophage ; osr : odontostyle de remplacement ; mr : muscle rétracteur ; od : odontophore ; mp : muscle protracteur ; mg : membrane guide ; Os : odontostyle [50].

#### 1.4.3. Mécanismes de 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 [50].

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 [50].

Ces sécrétions permettent de liquéfier le cytoplasme cellulaire de façon à permettre l'ingestion, les organites cellulaires ne pouvant pas être assimilés directement [97].

L'ingestion, 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 [98].

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 [98].

#### 1.2.4.6. Site de rétention des particules virales

Chez les *Xiphinema*, les particules virales se répartissent sur un segment de l'appareil alimentaire beaucoup plus long que chez les *Longidorus* (Fig.). Elles sont adsorbées en une monocouche tapissant la cuticule de l'odontophore, de l'oesophage et du bulbe oesophagien [99] ; [100] ; [91], mais surtout la partie antérieure de l'odontophore [90].

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 (*figure 1*). Les nématodes ne sont plus virulifères après la mue et doivent se réalimenter sur une plante virosée pour devenir à nouveau porteurs du virus [91].

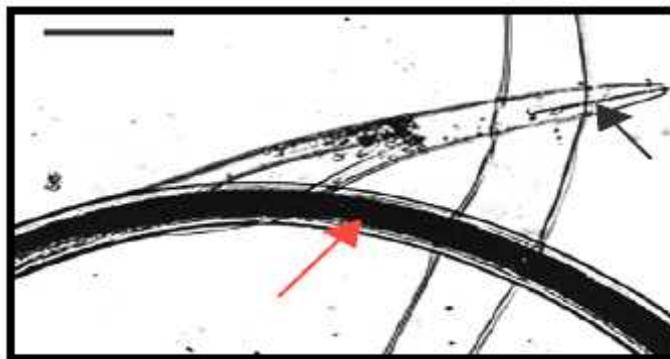


Figure 1.23: Larve de *Xiphinema* en train de muer. La flèche rouge indique la larve néonate et la flèche noire indique la cuticule de mue à laquelle l'odontostyle est resté accroché. La barre représente 0,1 mm [50].

#### 1.4.3.1. Interaction nématodes-virus

L'adsorption des virus est un phénomène sélectif et spécifique. L'incapacité des autres nématodes à transmettre des particules virales reflète probablement l'absence ou une nature différente des sites de rétention des particules virales [92].

##### 1.4.3.1.1. Spécificité d'association

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 *Nepovirus* sont associés à une espèce définie de nématode [50].

Pour qualifier la nature des associations entre virus et vecteur, Brown et Weischer (1998) [98] 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.

## CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

### 2.1. Sites prospectés

Les prospections sur terrain ont été effectuées sur plusieurs vignobles durant les deux campagnes viticoles 2014/2015 et 2015/2016 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° 01

La parcelle échantillonnée se localise dans la station expérimentale du département de biotechnologie végétale (ex Agronomie), université Blida 1, qui se trouve à 7 km de l'Est du chef lieu de la wilaya de Blida à 195 m d'altitude. Ce cépage a été créé depuis 15 ans, il occupe une superficie de 0,5 ha entre le *Cardinal* et *Gros noir*, planté en ligne, non irrigué et greffés sur le porte greffe 41B.



Figure 2.1: parcelle échantillonnée de l'exploitation de la station expérimentale de département de biotechnologie végétale, université Blida 1 (**Anonyme 1, 2015**).

### 2.1.2 Station n° 02

Ce cépage se situe dans la commune d'El Affroun à 20 Km à l'Ouest du chef lieu de la wilaya de Blida à 86 m d'altitude, composé de *Dattier de Beyrouth* et du Cardinal, greffés sur le porte greffe Richter 99 et plantée en ligne. Créée depuis 19 ans dans le cadre du développement de la Mitidja Ouest. Sa superficie totale est de 9 h et il n'est pas irrigué.



Figure 2.2 : parcelle échantillonnée de l'exploitation d'El Affroun (**Anonyme 2, 2015**).

### 2.1.3. Station N° 03

Cette exploitation se trouve dans la commune d'Ain Benian à 17 Km à l'Ouest du chef lieu de la wilaya d'Alger à 50 m d'altitude. Sa superficie est de 6 ha de *Cardinal* et de *Gros noir*, planté en ligne, greffés sur le porte greffe SO<sub>4</sub> et âgé de 24 ans. L'irrigation est basée sur le système traditionnel par rigole et le terrain présente une pente de 10%.



Figure 2.3: Vignoble de la station d'Ain Benian (**Anonyme, 2015**).

#### 2.1.4. Station N° 04

Ce vignoble est situé dans la commune de Tessala-El-Merdja à 25 km au Sud-Est de la wilaya d'Alger à 28 m d'altitude. Ce vignoble a 23 ans d'âge, sa superficie est de 1,5 ha, greffés sur le porte greffe 110 Richter, planté en ligne avec un système d'irrigation en rigole. La collecte des échantillons est réalisée de deux parcelles différentes :

1. Parcelle 1 : occupée par le *Dattier de Beyrouth* avec 21 rangés (P1).
2. Parcelle 2 : occupée par le *Cardinal* avec 19 rangés (P2).



Figure 2.4: Parcelles échantillonnées de la station de Tessala-El-Merdja  
(Anonyme 1, 2015).

#### 2.1.5. Station n° 05

Les vignobles se situent dans la station de l'ITAFV de Ben Chicao à 20 km au sud-ouest du chef lieu de la Wilaya de Médéa à 966 m d'altitude. Les 3 parcelles échantillonnées se présentent comme suit :

**Parcelle 1** : composée de *Dattier de Beyrouth*, sa superficie est 0,5 ha âgé de 32 ans. Greffée sur le porte greffe SO<sub>4</sub> et plantée en ligne.

**Parcelle 2** : mitoyenne à la première parcelle (P1), composée de *Muscat d'Alexandrie* avec une superficie de 0,5 ha et âgée de 21 ans. Greffé sur le porte greffe SO<sub>4</sub> et plantée en ligne (P2).

**Parcelle 3** : composée de *Muscat italia*, sa superficie est de 1ha greffés sur SO<sub>4</sub>. Planté en ligne et âgée de 21 ans (P3).

Pour les trois parcelles, nous avons noté : le terrain est accidenté avec 10% de pente et non irriguées.



Figure 2.5 : parcelles échantillonnées de l'exploitation de Ben Chicao (**Anonyme 1, 2015**).

## 2.2. Méthode d'échantillonnage

Pour la collecte des échantillons, nous nous sommes basé sur la recherche des symptômes typiques d'une possible infection du court-noué (raccourcissement des entre-nœuds, bifurcations, rameaux aplatis, réduction, déformation et changement de couleur du limbe).

Sur terrain, le suivi de la culture a eu lieu à partir du stade F qui correspond à l'apparition au sommet des pousses des grappes rudimentaires où quatre à six feuilles étalées sont visibles. L'échantillonnage a eu lieu à partir du stade H et le stade I qui correspondent respectivement à la séparation des boutons floraux et la floraison.

La collecte des échantillons au niveau des différents sites prospectés était raisonnée et ciblée. Les prélèvements ont porté sur 5 pieds avec symptômes du court-noué et 1 pied sans symptômes pour chaque parcelle.

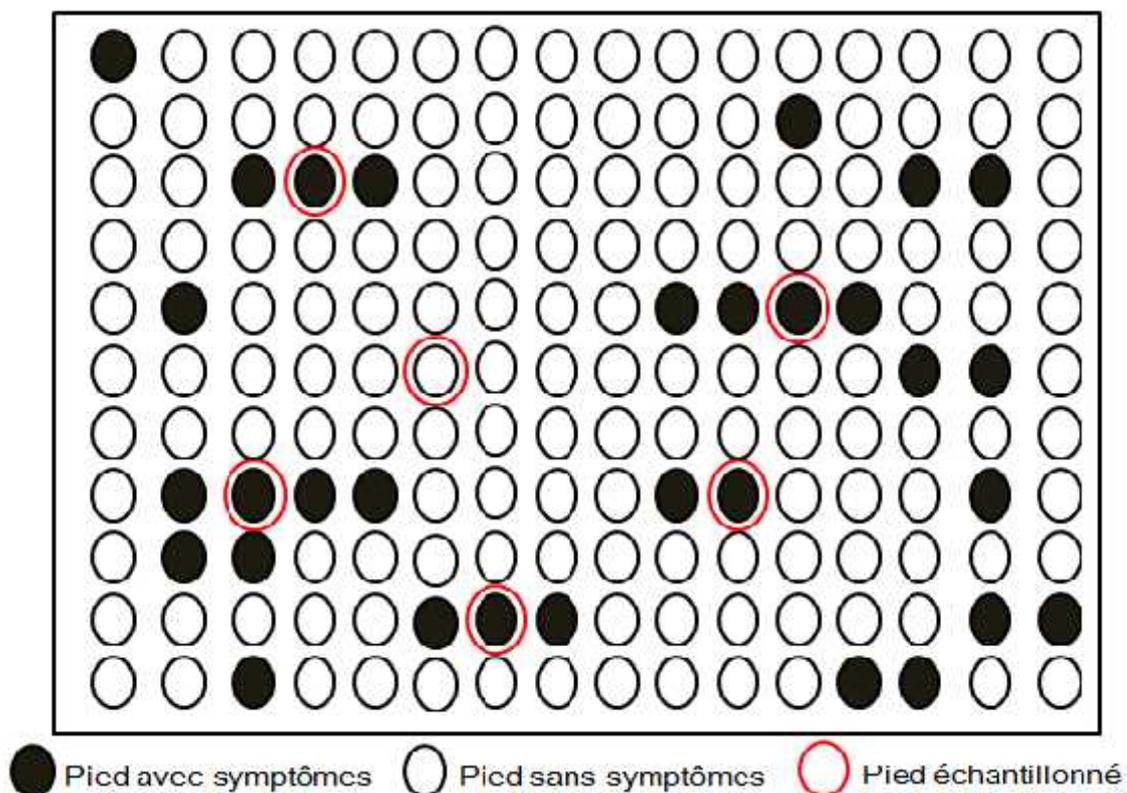


Figure 2.6: Exemple d'échantillonnage d'une parcelle.

### 2.2.3. Prélèvement et conditionnement des feuilles

Pour le prélèvement et le conditionnement des feuilles, on prélève les feuilles les plus jeunes qui présentent des symptômes typique du court-noué. On les met dans des sachets en papier et on ferme soigneusement les sachets afin d'éviter le séchage des feuilles. On note sur les sachets toutes les informations nécessaires.

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



Figure 2.7 : Conservation des feuilles dans un sachet en papier (photo personnelle)

#### 2.2.4. Prélèvement et conditionnement 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 [37].

Nous avons ensuite réalisé des prélèvements de sol selon les travaux de Coyne (2010) [37]. Pour chaque parcelle prospectée, 10 sous échantillons ont été prélevés au niveau de la rhizoplane 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.

### 2.3. Analyse nématologique du sol

#### 2.3.3. 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 (1966) [100], 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.

#### 2.3.4. Procédé d'extraction

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

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

### 2.3.5. 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 prépare des tamis en plastique avec des papiers filtres humidifiés. On fait passer le contenu du cristalliseur à travers les tamis dans des assiettes qui sont remplis d'eau jusqu'à l'affleurement de la surface du tamis. On laisse la diffusion des nématodes pendant 3 jours. Passé ce délai, le contenu de chaque assiette en plastique est laissé se décanter pendant 1 h. Puis on réajuste à 25 ml la solution obtenue dans un tube.



Figure 2.8: Procédé de purification actif des nématodes (photo personnelle)

### 2.3.6. Méthode de dénombrement des nématodes

Selon **Mery et Lus (1996)**, pour évaluer la densité totale des nématodes et celles des taxons dans une solution, on doit homogénéiser le contenu des tubes et on prélève 5 ml puis on les verse dans la boîte à Pétri quadrillée. On procède au dénombrement et l'identification morphologique en se basant sur l'observation sous la loupe binoculaire (grossissement x4) 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).

### 2.3.7. Méthode de pêche et de fixation des nématodes

Nous avons procédé au pêchage et à la fixation des nématodes en suivant le protocole de Coyne et al (2010) [37], qui comme suit :

- J Pêcher sous la loupe binoculaire les nématodes obtenus dans la solution d'eau.
- J Prélever les individus intéressants soit avec un cil ou un éclat de bambou à pointe très fine fixée sur une porte aiguille.
- J Transférer les nématodes dans les salières contenant de l'eau distillée.
- J Laisser décanter pendant une heure.
- J Pipeter l'excès de l'eau avec une pipette en laissant juste une goutte.
- J Prendre une quantité du fixateur de Grisse dans un tube à essai en verre.
- J Chauffer au bain-marie en ébullition.
- J Verser sur les nématodes dans la salière dès la formation des premières bulles dans le tube.
- J Fermer après refroidissement ou les nématodes resteront au moins 3 jours dans le fixateur avant d'entamer les étapes de déshydratation.
- J Enlever le fixateur après 3 jours.
- J Garder juste une goutte pour éviter le dessèchement des nématodes.
- J Remplir les salières jusqu'à ½ de son volume avec S<sub>1</sub>.
- J Remplacer sans couvercle dans un dessiccateur à l'alcool 95%.
- J Placer l'ensemble dans une étuve à une température comprise entre 30°C et 40° C pendant une nuit.
- J Enlever après 24h les 2/3 du volume de S<sub>1</sub>.
- J Remplacer par le même volume de S<sub>2</sub> de façon à avoir dans la salière (1) volume de S<sub>1</sub> et (2) volume de S<sub>2</sub>.
- J Remettre ces derniers dans l'étuve à 35°C à 40°C pendant 2 jours avec couvercle entre ouvert pour permettre une évaporation lente de l'alcool.
- J Placer les salières dans un dessiccateur à silicate gel pendant une journée au minimum avant le montage des nématodes entre lame et lamelle.

### 2.3.8. Méthode de montage des nématodes

Pour le montage des nématodes, nous avons suivi les étapes suivantes :

- ) Chauffer un tube en cuivre sur une plaque chauffante (**Fig. A**).
- ) Appliquer le tube en cuivre sur la paraffine (**Fig. B**).
- ) Appliquer un anneau de 1 cm de paraffine fondu sur lame à l'aide d'un tube en cuivre (**Fig. C**).
- ) Laisser refroidir la paraffine (**Fig. D**).
- ) Placer une goutte de glycérine dans l'anneau de paraffine (**Fig. E**).
- ) Déposer les nématodes fixés dans la goutte de paraffine et recouvre avec une lamelle (**Fig. F**).
- ) Chauffer légèrement la lame sur une plaque chauffante réglée à la température de fusion de la paraffine (**Fig. G**) et laisser refroidir (**Fig. H**).
- ) Référencier la lame (numéro de la lame, numéro de l'échantillon et nom du taxon) (**Fig. I**).

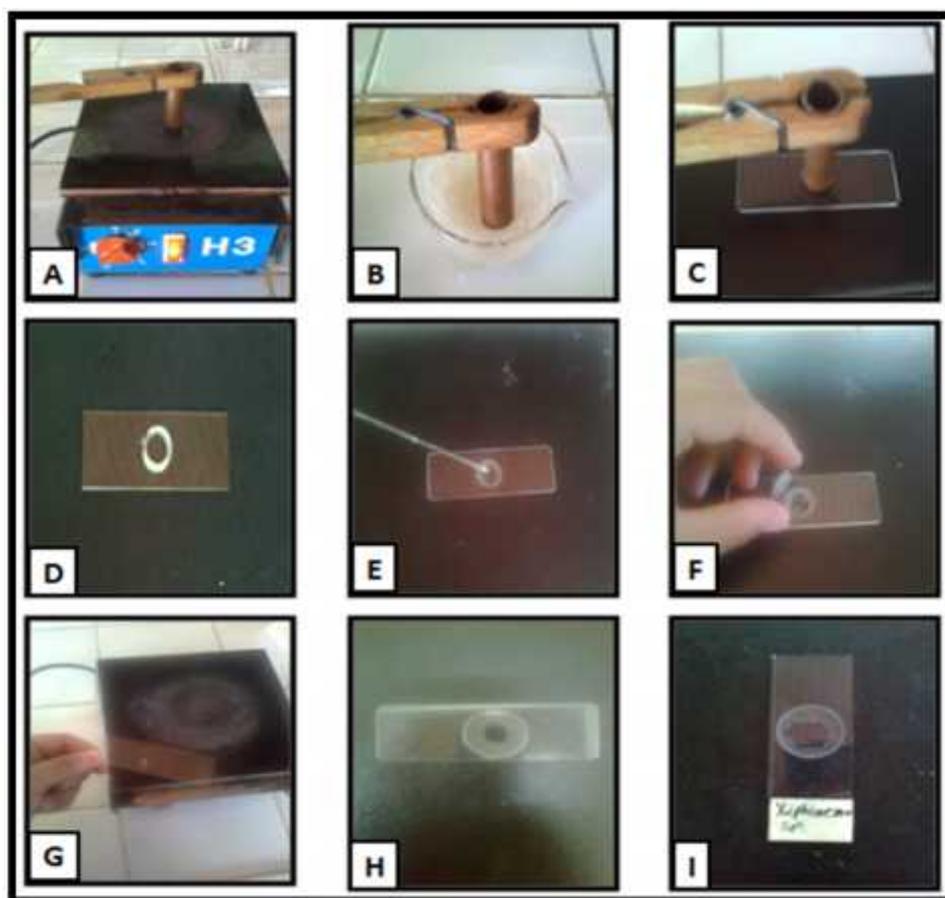


Figure 2.9: Etapes de montage des nématodes.

### 2.3.9. Identification des nématodes

L'identification des espèces est basée essentiellement sur la morphologie et la taille du corps, la position de la vulve, le stylet et la forme de la région caudale. Nous avons réalisé cette identification à l'aide de clé d'identification des espèces de *Xiphinema sp* de Taylor et Brown (1997) [89].

### 2.4. Inoculation mécanique sur une gamme de plantes hôtes

Le GFLV peut être transmis mécaniquement à de nombreuses espèces végétales en frottant les feuilles de celle-ci avec un extrait de feuilles jeunes de vigne infectées. L'extrait est obtenu en broyant les tissus de vigne dans un mortier, en présence d'un milieu contenant de la nicotine [46].

#### 2.4.1. Source du virus

La source du virus provient des feuilles de l'extrémité du rameau présentant des symptômes typiques du court-noué de trois vignobles différents : vignoble de Ben Chicao, vignoble de Tessala El Merdja et vignoble d'Ain Benian.

#### 2.4.2. Matériel végétal

Le virus du court-noué a une large gamme de plantes hôtes. Il se transmet facilement par la sève, mais pas par les pépins [43]. Dans les travaux de Galet (1977) [38] ont démontré que le virus attaque 28 familles de dicotylédones. Le tableau 2.1 ; présente les principales plantes hôtes du court-noué et les symptômes exprimés.

Pour l'inoculation mécanique du GFLV, nous avons utilisé une plante hôte herbacée : le concombre (*Cucumis sativus* L) variété Super Marketer.

Après avoir testé le pouvoir germinatif des semences des deux plantes, nous les avons semés directement dans des pots en plastique. Chaque pot est rempli d'un mélange de 1/3 de sable, 1/3 de terre et 1/3 tourbe préalablement stérilisé dans l'étuve à 120°C pendant 20 minutes. Nous avons préparé 30 pots pour chaque plante et de 3 pots témoins.

**Tableau 2.1** : Principales plantes hôtes herbacées du court-noué [38].

Famille	Espèce	Symptômes
Amaranthaceae	<i>Gomphrena globosa</i>	Lésions locales nécrotiques
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium amaranticolor</i> <i>Chenopodium quinoa</i>	Infection systémique
Cucurbitaceae	<i>Cocumis sativus</i>	Jaunissement et éclaircissement des nervures
Leguminosae	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Lésions locales nécrotiques et mosaïque
Solanaceae	<i>Nicotiana benthamiana</i> <i>Nicotiana clevelandii</i>	Lésions locales nécrotiques et infection systémique

## 2.5. Dépistage immunologique de la maladie

### 2.5.1. Principe du test ELISA

Le test ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) est une réaction sérologique entre antigène et anticorps « sérum » couplé à une enzyme phosphatase alcaline avec un substrat le pNPP (*para-nitrophénylphosphate*) par une réaction d'hydrolyse.

Il existe deux variantes de la méthode ELISA, la DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-ELISA) et la TAS-ELISA (Triple Antibody Sadwich). Dans notre travail la DAS-ELISA a été utilisée. L'anticorps spécifique est conjugué à une enzyme, la phosphate alcaline qui est en mesure de déclencher la réaction colorée du substrat, cette technique permet de détecter de très petite quantités de virus, elle est très sensible et rapide. Le sérum utilisé est un Kit BIOREBA AG®.



Figure 2.10 : Kit complet de DAS-ELISA de BIOREBA AG<sup>®</sup> (photo personnelle).

### 2.5.2. Technique DAS-ELISA direct

Le protocole ELISA qui est utilisé le plus souvent est appelé ELISA sandwich à 2 anticorps (DAS-ELISA). Dans ce cas de figure, l'antigène se trouve entre 2 anticorps spécifiques. L'utilisation de la DAS-ELISA nécessite de posséder 2 anticorps (monoclonaux) reconnaissant des épitopes différents sur l'antigène.

### 2.5.3. Extraction du virus

Les bourgeons de vignes, les racines, les feuilles et le bois peuvent servir pour les analyses. Les feuilles les mieux adaptées au dépistage viral sont de jeunes feuilles prélevées au printemps [41].

Tous les échantillons de feuilles prélevés du terrain sont pesés individuellement, 1g de feuilles fraîches sont broyées séparément à l'aide d'un broyeur dans 5ml de solution tampon d'extraction spécial « vigne » dans les sachets d'extraction (Fig 2.12).



Figure 2.11 : Broyage des feuilles à l'aide d'un broyeur (photo personnelle)

Les jus des échantillons sont conservés dans les sachets d'extraction à froid à une température 4°C.



Figure 2.12 : Sachet de broyage (photo personnelle)

#### 2.5.4. Protocole de DAS-ELISA

##### **La première étape « Coating » : Sensibilisation des microplaques avec un anticorps spécifiques**

On dilue au 1/1000 les anticorps de coating (IgG) dans le tampon de coating ; i.e. 20 µl IgG dans 20 ml de tampon. On ajoute 200 µl de la solution obtenue dans chaque puit de la microplaque.



Figure 2.13 : Dépôt de l'anticorps spécifique (photo personnelle)

On couvre les plaques et on les place dans l'étuve humide où elles sont incubées 4 h à 30 °C.

On effectue le premier lavage : on vide les plaques et on les lave au moins 3 fois avec le tampon de lavage. On élimine tout le liquide en tapant les plaques sur du papier absorbant. Le laveur de microplaque utilisé est BIOREBA « EASY WASH 2000 ».

##### **Deuxième étape « Echantillon » : incubation de l'extrait de plante (antigène)**

On dilue l'extrait végétal au 1/20 dans le tampon d'extraction (la nature du tampon d'extraction ainsi que le taux de dilution peut varier selon les échantillons ; on se reporte à la fiche « information produit » du réactif).

On ajoute 200  $\mu$ l par puit. On couvre les plaques et les place dans une étuve humide. On incube une nuit à + 4°C.

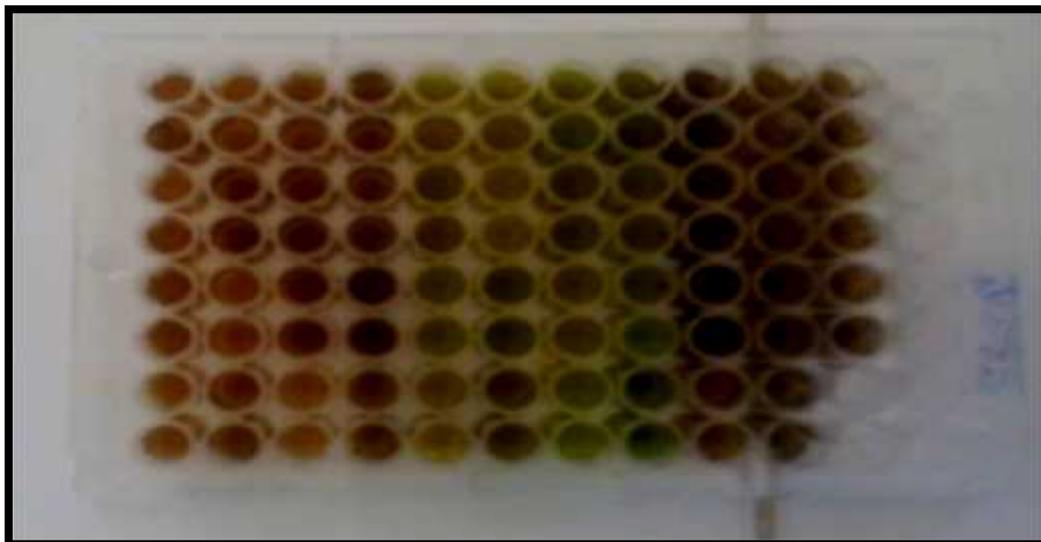


Figure 2.14 : Dépôt de l'extrait des feuilles « antigène » (photo personnelle)

On effectue un deuxième lavage comme le premier lavage.

**Troisième étape « Conjugué » : Incubation avec les anticorps conjugués à l'enzyme (conjugate)**

On dilue au 1/1000 les anticorps conjugués dans le tampon de conjugué. On ajoute 200  $\mu$ l de la solution obtenue par puit.



Figure 2.15 : Dépôt de l'anticorps conjugués à l'enzyme (photo personnelle)

On couvre les plaques et on les place dans une étuve humide. On incube 5 h à 30° C.

Puis, on effectue un troisième lavage.

**Quatrième étape « Substrat » : une réaction colorée indique la présence d'un échantillon infecté**

On dilue les pastilles de substrat pNPP à 1 mg/ml dans le tampon de substrat. On ajoute 200 µl de la solution obtenue par puit.



Figure 2.16 : Dépôt du substrat de l'enzyme (photo personnelle)

On incube à une température ambiante (20 et 25 °C) à l'obscurité.

On observe la réaction de l'hydrolyse du substrat et on note le développement de la coloration entre 30 et 120 minutes visuellement et en utilisant un spectrophotomètre à 405 nm.

**2.5.5. Lecture des résultats**

Après 120 minutes d'incubation, plusieurs lectures ont été faites pour suivre l'évolution de la réaction enzymatique approximativement, plus une lecture par le lecteur ELISA (Fig...) qui donne les densités optiques (DO) de chaque échantillon.



Figure 2.17 : Lecteur ELISA utilisé (photo personnelle)

Les échantillons qui présentent une DO supérieure à deux (2) fois la DO du témoin négatif sont considérés positifs (malades) et ceux qui présentent des DO inférieures à (2) fois la DO du témoin négatif sont considérés négatifs (sains).

Le taux d'infection (I) est exprimé par le pourcentage (%) des plants infectés ( $n_i$ ) par rapport au nombre total des plants testés (N). Pour calculer le taux d'infection nous avons utilisé la formule suivante :

$$I \% = ( n_i / N ) \times 100$$

## 2.6. Analyse statistique

Les résultats du dénombrement des nématodes, des symptômes observés et des tests sérologiques obtenus ont été traités sous forme de tableaux dans le logiciel *Excel 2007*, ensuite des tests statistiques sont réalisés avec le logiciel *IBM SPSS statistics* version 20.

Pour l'analyse des résultats de l'analyse nématofaune des échantillons du sol, nous avons utilisé le test de variance multivariée (ou MANOVA pour « Multivariate analysis of variance ») qui va réaliser des comparaisons par paire pour les variables dépendantes (Stations, cépages et nombre de nématodes).

Pour l'analyse des résultats de la DAS-ELISA, nous avons utilisé le test Khi-carré de Person afin de mesurer la liaison statistique entre les résultats obtenus dans des études précédentes et les résultats obtenus dans notre étude.

## CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 3.1. Analyse symptomatologique des échantillons

Lors des prospections effectuées au niveau des 5 stations pendant la période printanière (mars - juin), plusieurs symptômes foliaires et corticaux rappelant ceux du court-noué ont été observés. Après analyse symptomatologique des échantillons collectés, nous avons constaté deux syndromes distincts: 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

Sur les sarments, les symptômes observés sont : Raccourcissement et déformation des entre-nœuds, double nœuds, fasciation, bifurcation et croissance en zigzag. Par conséquent, les symptômes observés sur les feuilles sont : déformation de la forme et échancre du limbe.

##### ) Raccourcissement et déformation des entre-nœuds

Ce symptôme est plus exprimé dans la station de Ben Chicao sur les deux cépages : *Dattier de Bayrouth* et *Muscat d'Alexandrie* (Fig. 3.1).



Figure 3.1 : Raccourcissement et déformation des entre-nœuds sur *Muscat d'Alexandrie*, station Ben Chicao (photo personnelle).

) Double nœuds

Ce symptôme est plus abondant dans les deux stations : Ain benian et Tessala-El-Merdja.



Figure 3.2. Entre nœuds sur *Cardinal* dans la station d'Ain Benian (photo personnelle).

Figure 3.3. Entre noeds sur *Dattier de Bayrouth* dans la station de Tessala El Merdja (photo personnelle).

) Fasciation ou aplatissement du sarment

Ce symptôme a été fréquent dans la station expérimentale du département de biotechnologie végétale (ex agronomie) de l'université de Blida sur *Gros Noir*, la station d'Ain benian sur *Cardinal* et sur *Muscat d'Alexandrie* dans station de Ben Chicao.



Figure 3.4 : Aplatissement du sarment de *Muscat italia*, station Ben Chicao (photo personnelle).



Figure 3.5 : Fasciation du sarment de *Cardinal*, station Ain Benian (photo personnelle).



Figure 3.6 : Aplatissement du sarment du *Gros noir*, la station expérimentale du département de biotechnologie végétale (ex agronomie) université Blida 1 (photo personnelle).

## ) Bifurcation

Des bifurcations des sarments ont été observées dans toutes les stations prospectées à l'exception de la station d'El Affroun.



Figure 3.7 : Bifurcation sur *Muscat d'Alexandrie*, station Ben Chicao (photo personnelle).



Figure 3.8 : Bifurcation sur *Cardinal*, station Ain Benian (photo personnelle).



Figure 3.9 : Bifurcation sur *Cardinal*, station de Tessala El Merdja (photo personnelle).



Figure 3.10 : Bifurcation sur *Dattier de Bayrouth*, station de Tessala El Merdja (photo personnelle)

### ) Croissance en zigzag

Au niveau des stations d'Ain Benian et Ben Chicao sur les cépages de *Cardinal* et *Muscat d'Alexandrie*, le symptôme de zigzag est observé et il est accompagné par un raccourcissement des entre-nœuds.



Figure 3.11 : Croissance en zigzag du sarment de *Cardinal*, station d'Ain Benian (photo personnelle).



Figure 3.12 : Croissance en zigzag du sarment de *Muscat d'Alexandrie*, station Ben Chicao (photo personnelle).

### ) Déformations et modification de l'aspect du limbe

L'aspect du limbe est modifié sur *Dattier de Beyrouth* de Ben Chicao et Tessala-El-Merdja, *Muscat d'Alexandrie* de Ben Chicao et sur *Cardinal* d'Ain benian.



Figure 3.13 : déformation du limbe du *Cardinal*, station Ain Benian (photo personnelle).



Figure 3.14 : modification du limbe du *Dattier de Bayrouth*, station Ben Chicao (photo personnelle).



Figure 3.15 : Modification de l'aspect du limbe du *Dattier de Bayrouth*, station de Tessala el Merdja (photo personnelle).



Figure 3.16 : Déformation du limbe du *Muscat d'Alexandrie*, station Ben Chicao (photo personnelle).

### ) Echancrure du limbe

Ce symptôme a été observé uniquement sur le cépage *Dattier de Beyrouth* dans l'exploitation de Tessala El Merdja.



Figure 3.17 : Feuille de *Dattier de Beyrouth* présentant une indentation plus prononcée, station de Tessala El Merdja (photo personnelle).

) Malformation des grappes

Des anomalies observées pratiquement sur tous les cépages des vignobles prospectés, la réduction du nombre des baies et de la taille des grappes, coulure partielle ou totale des grappes.



Figure 3. 18 : Réduction de la taille de la grappe et le nombre des baies du *Cardinal*, station de Tessala El Merdja (photo personnelle).



Figure 3.19 : Coulure partielle de la grappe du *Dattier de Bayrouth*, station Tessala El Merdja (photo personnelle).



Figure 3. 20 : Coulure de la grappe du *Cardinal*, station d'Ain Benian (photo personnelle).

### 3.1. 2. Changement de la pigmentation des feuilles

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

#### ) Jaunissement des feuilles

Le symptôme de jaunissement total a été observé dans toutes les stations et cépages prospectés.



Figure 3. 21 : jaunissement total des feuilles du *Dattier de Bayrouth*, station Tessala El Merdja (photo personnelle).

Figure 3. 22 : jaunissement partiel des feuilles de *Muscat d'Alexandrie*, station Ben Chicao (photo personnelle).

### ) Mosaïque

Ce symptôme a été observé dans la station de Tessala El Merdja sur le cépage *Dattier de Bayrouth*, la station d'Ain Beniane sur le cépage *Cardinal* et sur la station de Ben Chicao sur le cépage *Muscat d'Alexandrie* où il est plus prononcé par rapport aux autres stations.

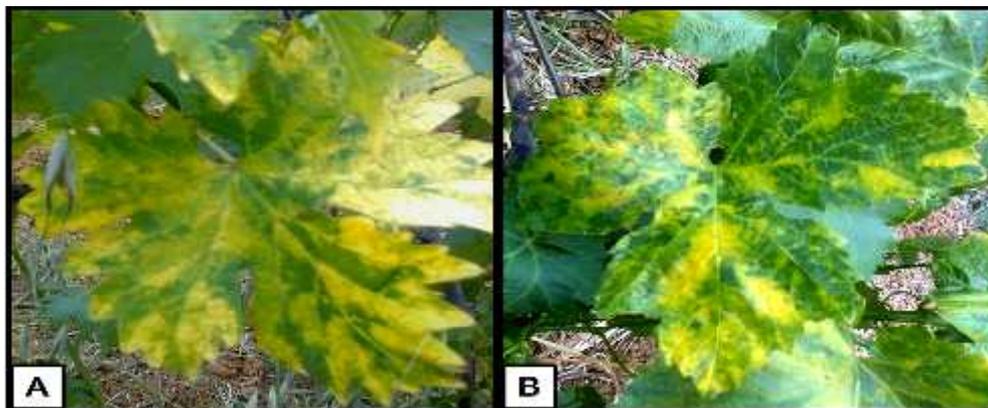


Figure 3. 23 : (A & B) mosaïque sur les feuilles de la *Muscat d'Alexandrie*, station Ben Chicao (photo personnelle)

### ) Taches annulaires chlorotiques

Ce symptôme à été observé uniquement dans la station de Tessala-El-Mardja sur *Dattier de Beyrouth*, la station expérimentale du département de biotechnologie végétale sur *Gros Noir* et dans la station de Ben Chicao sur *Muscat italia*.



Figure 3. 24 : taches annulaires chlorotiques sur *Dattier de Bayrouth*, station Tessala El Merdja (photo personnelle).

### ) Panachure des feuilles

La panachure des feuilles (panachure réticulée et panachure ordinaire) est le symptôme le plus fréquent sur le cépage *Dattier de Beyrouth* de la station d'El Affroun, sur *Cardinal* de la station d'Ain Benian et *Muscat* de la station Ben Chicao.



Figure 3. 25 : Panachure réticulée sur *Dattier de Bayrouth*, station d'El Affroun (photo personnelle).



Figure 3. 26 : Panachure ordinaire sur *Dattier de Bayrouth*, station d'El Affroun (photo personnelle).



Figure 3. 27 : Panachure ordinaire sur le *Cardinal*, station d'Ain Benian (photo personnelle).



Figure 3. 28 : Feuille à moitié panachée de *Muscat d'Alexandrie*, station Ben Chicao (photo personnelle).

Les symptômes observés selon les stations et les cépages sont récapitulés dans le tableau (3.2).

Des ceps ont été observés dans les parcelles touchées et notés selon une grille allant de 1 (expression d'un seul symptôme) à 5 (présence des 5 et plus de symptômes caractéristiques).

Tableau 3.1: Notation de l'expression des symptômes pour l'ensemble des ceps observés malades.

0	1	2	3	4	5 et plus
Référence	0 %	8.73%	37,86 %	8,73 %	45,63 %

Selon le tableau, nous constatons que plus de la moitié des ceps expriment au moins 4 symptômes caractéristiques de la maladie du court-noué (54.36%). Par conséquent, 37.86 % des ceps ont exprimé 3 symptômes caractéristiques et 8.73 % des ceps ont exprimé 2 symptômes caractéristiques. Le nombre des ceps qui ont exprimé 1 symptôme typique du court-noué est nul.

Selon le tableau 3.2, la parcelle 2 de la station de Tessala El Merdja, la parcelle (1) de la station de Ben Chicao et la station d'Ain Benian, qui sont occupées respectivement par les cépages : Dattier de Bayrouth, Muscat et le cardinal, ont exprimées 7 symptômes caractéristiques du court-noué.

Par conséquent, les symptômes les plus exprimés sont la bifurcation des sarments et le raccourcissement des entre-nœuds. Et le symptôme le plus sévère observé est l'aplatissement des sarments au niveau de la station d'Ain Benian sur le cépage Cardinal.

Tableau 3.2 : Symptômes observés dans les différentes stations et cépages prospectés.

Stations	Cépages	Symptômes observés
Station expérimentale du département de biotechnologie végétale Blida	<i>Gros Noir</i>	Rameau aplati Jaunissement Taches chlorotique annulaire Bifurcation
	<i>Cardinal</i>	Rameau aplati Jaunissement Bifurcation
El Affroun	<i>Dattier de Bayrouth</i>	Panachure réticulée Panachure ordinaire Jaunissement
Tessala el Merdja	(P 1) <i>Cardinal</i>	Bifurcation Jaunissement
	(P 2) <i>Dattier de Bayrouth</i>	Double nœuds Bifurcation Modification du limbe Taches chlorotiques annulaires Mosaïque Indentation plus prononcée
Ain Benian	<i>Cardinal</i>	Double nœuds Sarment en zigzag Sarment aplati Bifurcation Déformation foliaire Mosaïque Panachure ordinaire
Ben Chicao	(P 1) <i>Muscat d'Alexandrie</i>	Raccourcissement d'entre nœuds Fasciation Sarment en zigzag Déformation des feuilles Panachure ordinaire Jaunissement Bifurcation
	(P 2) <i>Dattier de Bayrouth</i>	Modification du limbe Raccourcissement d'entre nœuds Bifurcation
	(P 3) <i>Muscat italia</i>	Sarment aplati/ bifurcation Jaunissement Taches chlorotiques annulaires

### Discussion des résultats

L'ensemble des symptômes foliaires observé sur les cépages lors de nos prospections réalisées pendant la période d'avril à juin, période favorable à la détection symptomatologique du *GFLV* était des bifurcations, aplatissement des sarments, croissance en zigzag, raccourcissements des entre-nœuds, double nœuds aux niveaux des sarments, déformation et modification de limbe, mosaïque, panachure, des taches annulaires chlorotiques sur les feuilles. Ces symptômes ont été observés par Melouk (2002) [101], Tabouche (2005) [102] et par Ben freha (1983) [103] à l'ouest de Mascara sur le cépage *Ahmer bou amer* et dans la région de Ben chicao par Hadji (1991) [104] et Morsli (1995) [105].

Martelli (1985) [106] a signalé des cas très graves du *GFLV* sur plusieurs variétés de vigne à l'ouest du pays (Mascara), au centre (Mitidja, Tipaza et Médéa) dans son rapport de mission réalisée suite aux observations faites par l'Institut National de Protection des Végétaux (INPV) en collaboration avec l'Institut de la Vigne et de Vin (IVV) et en complément des indexages et des tests ELISA réalisé par l'INPV.

L'expression des symptômes du court-noué varie en fonction de l'isolat viral, du cépage et des conditions pédoclimatiques [112]. D'après Naraghi-Arani et *al.*, (2001) [114], la variabilité des symptômes pourrait avoir une origine génétique. Les symptômes ne touchent pas forcément la plante entière et peuvent s'exprimer uniquement sur un ou deux sarments, bien que la plante entière soit infectée.

Sur feuilles, les symptômes primaires correspondent à des décolorations (jaunissement, panachures réticulées, taches annulaires) ou des déformations du limbe [112]. Les sinus pétiolaires sont élargis et les nervures primaires sont rapprochées. On peut également observer une déformation des bords de la feuille leur donnant une forme en éventail [113].

Sur les sarments, on remarque fréquemment un raccourcissement des entre nœuds [38] ; [113] ; [112], d'où le nom de la maladie du court-noué, des doubles nœuds et des symptômes de fasciations. Les vignes infectées peuvent subir après plusieurs années une réduction significative de la végétation.

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 possible entre ce dernier et autre maladies relatives aux autres pathogènes divers champignons (des myxomycètes, des mycorhizes...etc.) ou facteurs abiotiques (humidité du sol, terres compactes, insuffisance de la pression osmotique...etc.) [81].

### 3.2. Analyse nématologique des prélèvements du sol

L'analyse nématologique faite au laboratoire des différents prélèvements du sol, a révélé la présence de diverses espèces du genre *Xiphinema* et autres espèces phytophages et non phytophages. Ces espèces sont présentes dans toutes les stations prospectées à l'exception de la station expérimentale du département de biotechnologie végétale de l'université de Blida 1.

L'utilisation de la clé d'identification des espèces du genre *Xiphinema* de Taylor et Brown (1997) [89], nous a permis d'identifier trois espèces : *X. index*, *X. italiae* et *X. americanum*.



Figure 3.29 : Morphologie du *X. index* vu au microscope optique (Gr x 10)  
(Photo personnelle).

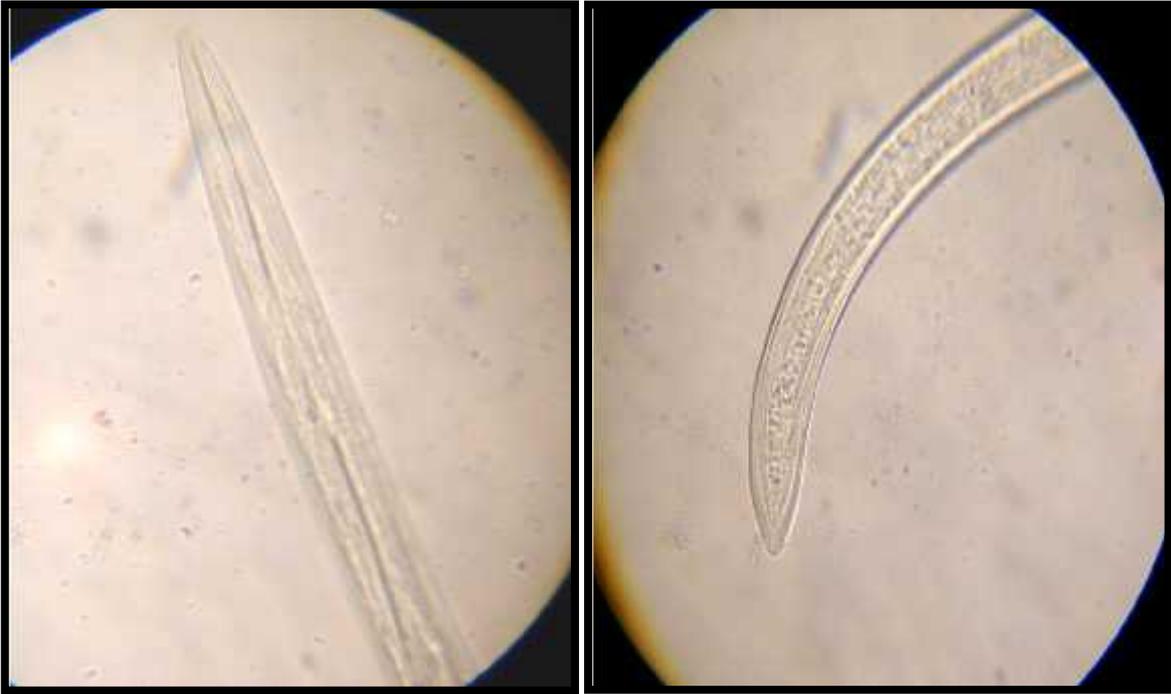


Figure 3. 30 : Forme de la tête de *X. index* vu au microscope optique (Gr x 40) (photo personnelle).

Figure 3. 31 : Forme de la queue de *X. index* vu au microscope optique (Gr x 40) (photo personnelle).

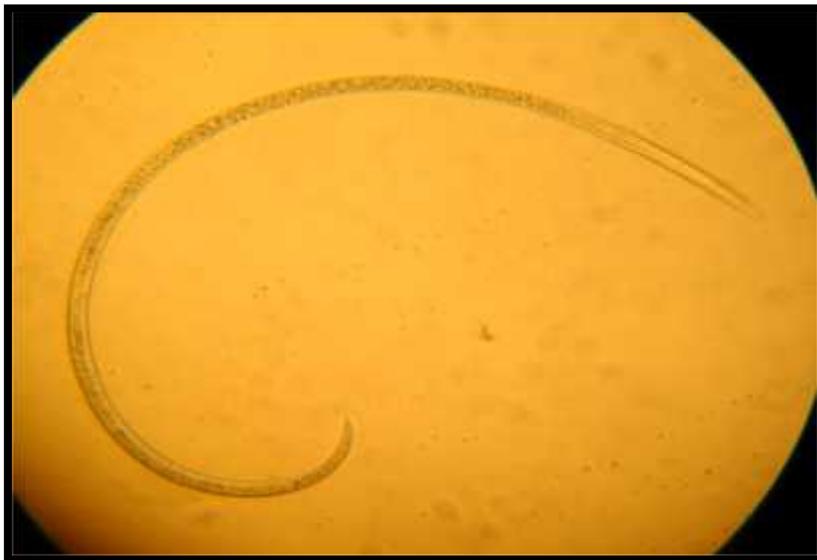


Figure 3. 32 : Morphologie du *X. italiae* vu au microscope optique (Gr x 1s0) (photo personnelle).

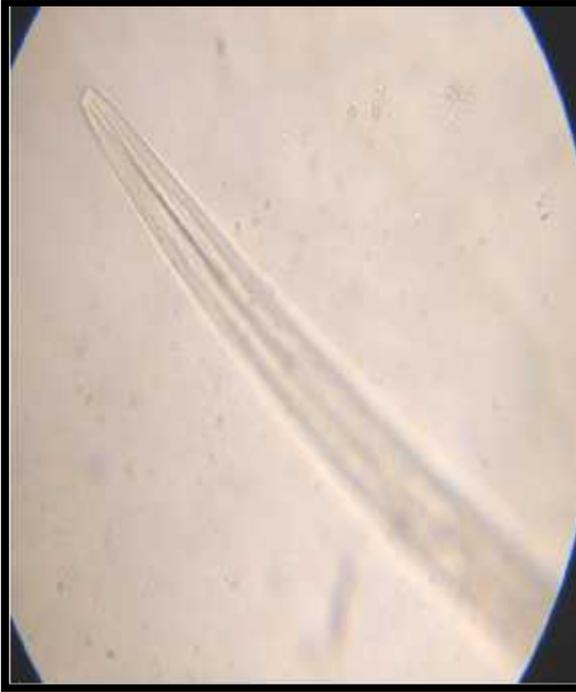


Figure 3. 33 : Forme de la tête de *X. italiae* vu au microscope optique (Gr x 400) (photo personnelle).



Figure 3. 34 : Forme de la queue de *X. italiae* vu au microscope optique (Gr x 40) (photo personnelle)

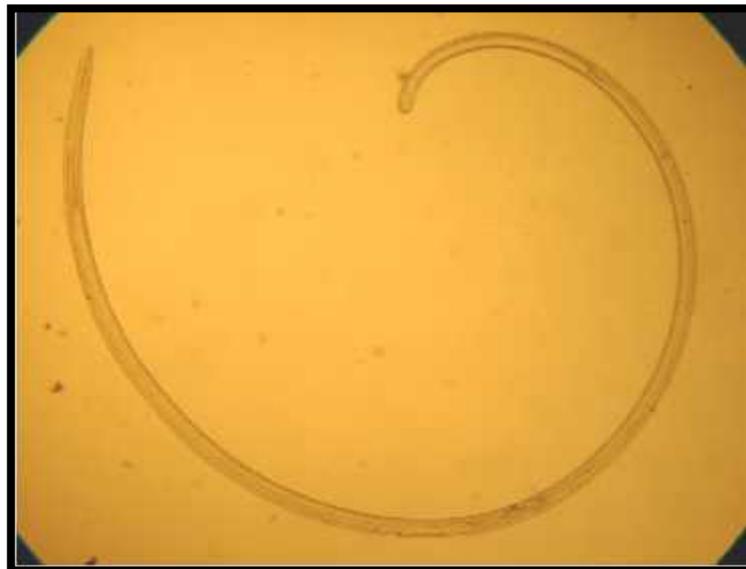


Figure 3. 35 : Morphologie du *X. americanum* vu au microscope optique (Gr x 10) (photo personnelle)



Figure 3. 36 : Forme de la tête du *X. americanum* vu au microscope optique (Gr x 40) (photo personnelle).

Figure 3. 37 : Forme de la queue du *X. americanum* vu au microscope optique (Gr x 40) (photo personnelle).

### 3.2.1. Répartition des nématodes *Xiphinema sp* en espèces

Après comptage des nématodes dans l'ensemble des stations prospectées, nous avons enregistré un effectif moyen de 1653 nématodes. L'identification des nématodes nous a permis d'avoir 3 différentes espèces appartenant au genre *Xiphinema sp* : *X. index*, *X. italiae* et *X. americanum* et qui sont représentés dans la figure 3.38.

Selon la figure 3.38, l'espèce *X. index* est la plus présente dans les stations prospectées avec un taux de 44 %, suivit par l'espèce *X. americanum* avec un taux de 37 % et l'espèce *X. italiae* est moins présente avec un taux de 19%.

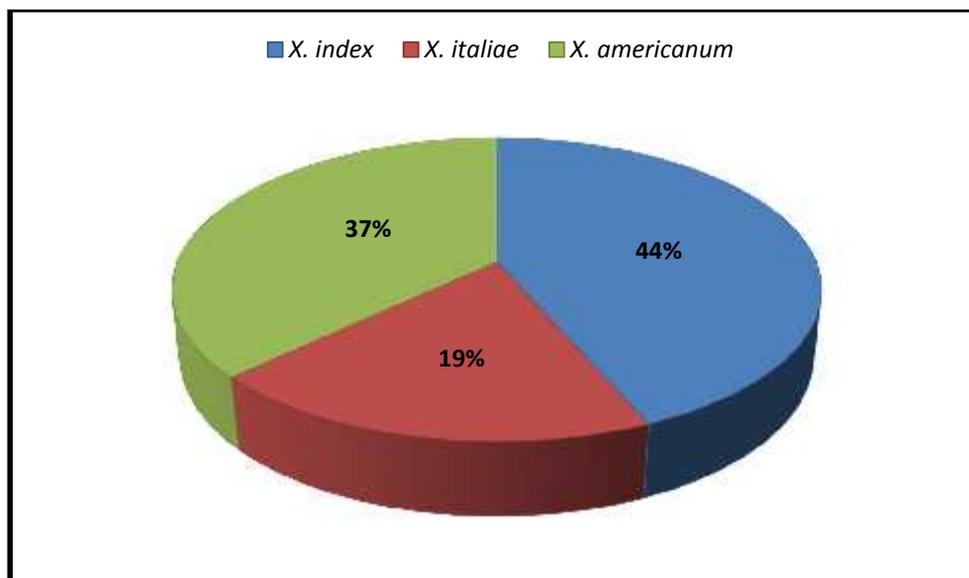


Figure 3.38 : Répartition des espèces de *Xiphinema sp* pour la totalité des stations.

### 3.3.2. Distribution des nématodes *Xiphinema sp* dans les différentes stations

Les résultats obtenus après le dénombrement des nématodes présents dans les différents échantillons de sol des différentes stations, en se basant sur la technique de **Mery et Lus (1996)**, sont illustrés dans la figure 3.38.

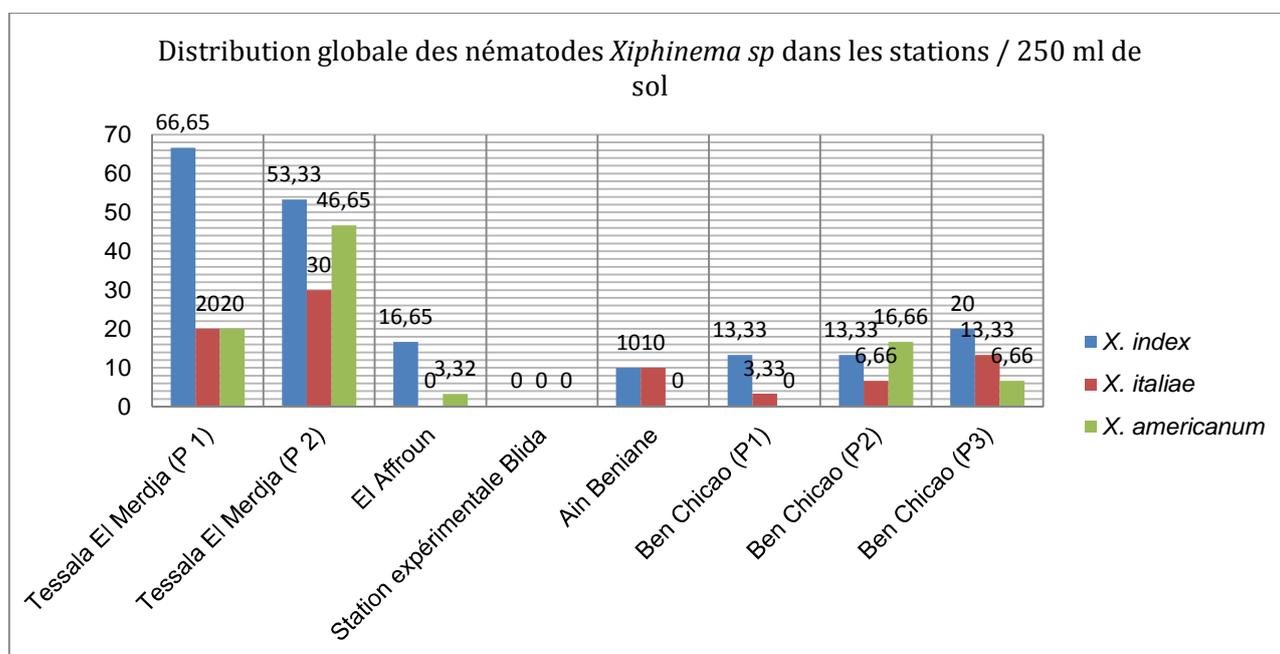


Figure 3.39 : Effectifs des nématodes *Xiphinema sp* dans les différentes stations pour 250 ml de sol prélevé.

Les effectifs de *Xiphinema sp* présents sont très variables d'une station à une autre. Ils sont élevés dans la parcelle 2 avec une moyenne de 129.98 nématodes et la parcelle 1 avec une moyenne de 106.65 nématodes de la station de Tessala El Merdja et nuls dans la station expérimentale du département de biotechnologie végétale de l'université de Blida, bien que cette dernière présente des symptômes provoqués par le *GFLV*.

Nous constatons, d'après la figure 3.38, que la station la plus infectée par les nématodes du genre *Xiphinema* est la station de Tessala El Merdja avec une moyenne de 129.98 nématodes pour la parcelle 2 et 106.65 nématodes pour la parcelle 1. Les parcelles 3 et 2 de la station Ben Chicao sont moyennement infectées avec respectivement une moyenne de 40 et 36.65 nématodes. La station d'El Affroun et la station d'Ain Benian sont infectées par le même effectif de nématodes avec une moyenne de 40 nématodes. La parcelle 1 de la station Ben Chicao est infectée avec une moyenne de 16,65 nématodes.

Nous notons aussi que l'effectif des nématodes appartenant à l'espèce *X. index* est plus élevé par rapport aux autres espèces *X. italiae* et *X. americanum* pour toute les stations à l'exception de la parcelle 2 de la station Ben Chicao où l'effectif de l'espèce *X. americanum* est plus élevé. Pour la parcelle 1 de la station de Tessala El Merdja nous avons une moyenne de 66,65 nématodes appartenant à l'espèce *X. index* contre une moyenne de 20 nématodes des espèces *X. italiae* et *X. americanum*. Puis la parcelle 2 de la même station avec une moyenne de 53,53 nématodes de l'espèce *X. index* contre une moyenne de 30 et 46,65 nématodes appartenant respectivement à l'espèce *X. italiae* et *X. americanum*. La parcelle 3 de la station de Ben Chicao est infectée par une moyenne de 20 nématodes de l'espèce *X.index* contre une moyenne de 13,33 et 6,66 nématodes appartenant respectivement aux espèces *X. italiae* et *X. americanum*.

Pour la station d'El Affroun, l'effectif moyen de l'espèce *X. index* est de 16,65 contre une moyenne de 3,32 nématodes appartenant à l'espèce *X. americanum*. Les parcelles 1 et 2 de la station de Ben Chicao ont la même moyenne des nématodes appartenant à l'espèce *X. index* et l'effectif moyen de l'espèce *X. italiae* est de 6.66 nématodes pour la parcelle 1 et 3.33 nématodes pour la parcelle 2. Pour l'espèce *X. americanum*, nous constatons sont absence dans la

parcelle 1 et présente avec un effectif moyen de 16,66 nématodes dans la parcelle 2. Enfin, la station d'Ain Benian est infectée avec le même effectif moyen (10 nématodes) des espèces *X. index* et *X. italiae* et l'effectif de l'espèce *X. americanum* est nul.

### 3.2.4. Distribution des nématodes *Xiphinema sp* selon les cépages

La distribution des nématodes selon les différents cépages prospectés est représentée dans la figure 3.40.

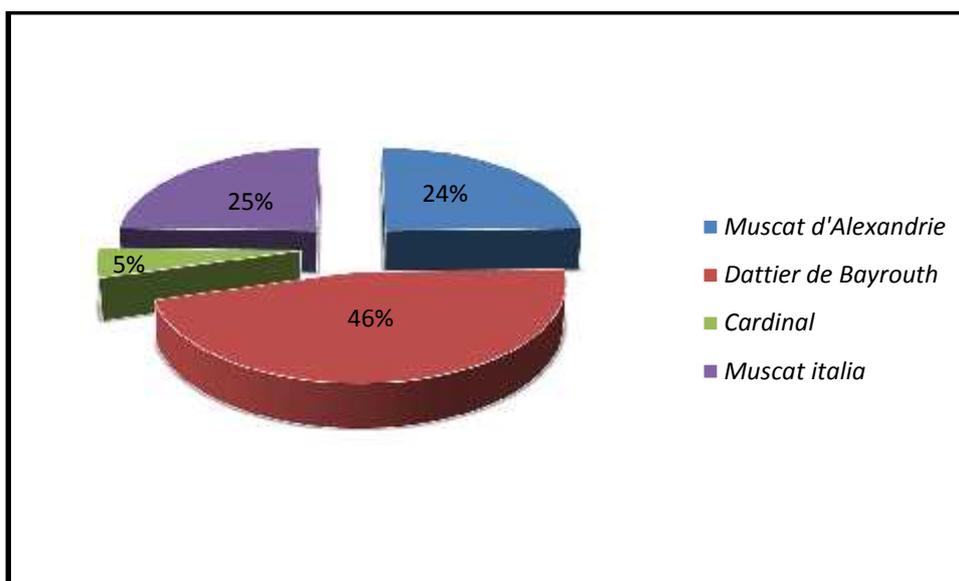


Figure 3.40 : Répartition des nématodes *Xiphinema sp* selon les cépages.

Selon la figure 3.40, le cépage *Dattier de Bayrouth* est le plus infesté par les nématodes *Xiphinema sp* avec un taux de 46%. Les deux cépages *Muscat d'Alexandrie* et *Muscat italia* sont moyennement infestés avec des taux de 24 % et 25 % respectivement. Le *Cardinal* est le moins infesté avec un taux de 5 %.

D'après la figure 3. 41, les effectifs de *Xiphinema sp* sont très variables d'un cépage à un autre. Ils sont élevés dans le cépage *Dattier de Bayrouth* avec une moyenne de 746,5 nématodes. Puis en seconde lieu, le cépage *Muscat d'Alexandrie* où l'effectif moyen est de 426,6 nématodes. Le cépage *Muscat italia* est infestée par un effectif moyen de 400 nématodes et l'effectif moyen dans le cépage *Cardinal* est de 80 nématodes. Enfin, l'effectif moyen des nématodes dans le cépage *Gros Noir* est nul.

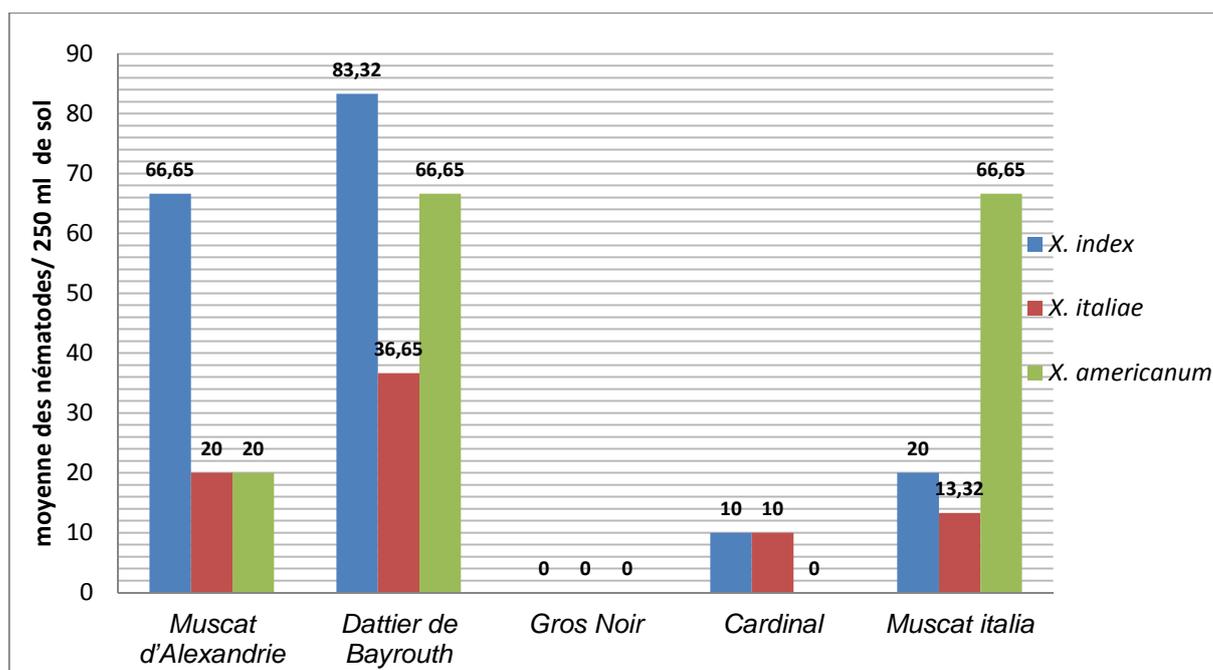


Figure 3. 41 : Effectif moyen des nématodes *Xiphinema sp* en fonction des cépages pour 250 ml de sol.

Nous constatons aussi une présence élevée de l'espèce *X. index* dans tous les cépages par rapport aux deux espèces *X. italiae* et *X. americanum*. Le cépage *Dattier de Baryrouth* est le plus infestée par l'espèce *X. index* avec un effectif moyen de 83.32 espèces contre un effectif moyen de 66.65 et 36.65 espèces appartenant respectivement à *X. americanum* et *X. italiae*. L'espèce *X. index* est d'un effectif moyen de 66,65 espèces contre un le même effectif moyen de 20 espèces de *X. italiae* et *X. americanum* dans le cépage *Muscat d'Alexandrie*. Puis, le cépage *Muscat italia* est infesté par un effectif moyen de 20 espèces de *X. index*, 13.32 espèces de *X. italiae* et 66,65 espèces de *X. americanum*. Enfin, le cépage *Cardinal* est infesté par un même effectif moyen de 10 espèces de *X.index* et *X. italiae*.

Le test statistique « MANOVA », effectué pour analyser les différents résultats, révèle que la distribution de l'espèce *X.index* a une différence significative avec un  $P = 0.035$  sur le cépage *Dattier de Beyrouth* entre la station de Tessala El Merdja et la station de Ben Chicao (annexe 1)

Le même test statistique indique que la distribution de l'espèce *X. italiae* a une différence très significative, avec un  $P = 0.002$ , dans le cépage *Dattier de*

*Beyrouth* entre la station de Tessala El Merdja et la station d'El Affroun. Aussi entre la station de Ben Chicao et la station de Tessala El Merdja (annexe...)

Concernant la distribution de l'espèce *X. americanum*, le test révèle qu'il y est une différence hautement significative entre les deux stations d'El Affroun et Tessala El Merdja avec un  $P = 0.002$  dans le cépage Dattier de Beyrouth. Et aussi entre les deux stations Ben Chicao et Tessala El Merdja dans le même cépage avec un  $P = 0.01$  (annexe 1).

### Discussion des résultats

L'analyse nématologique du sol des différentes stations a montré la présence de *X. index* vecteur exclusif du *GFLV* dans la majorité des stations Alger, Blida et Médéa sur les cépages *Cardinal*, *Gros Noir*, *Muscat*, *Muscat italia* et *Dattier de Beyrouth*, confirmant ainsi par les résultats des prospections symptomatologiques et la détection biologique. D'autres espèces de genre de *Xiphinema* ont été identifiées *X. americanum* et *X. italiae*. Le genre de *Xiphinema* a été identifié dans tous les vignobles prospectés, il est adapté aux différents sols et aux différents étages bioclimatique Algérien qui semble être particulièrement favorables.

La présence du nématode *X. americanum* dans les parcelles prospectées est un danger pour les cultures maraichères vu que ce nématode est classé dans la liste A2 des organismes de quarantaine par OEPP. Ce nématode est un vecteur de plusieurs virus comme : *Tomato Ringspot Virus (ToRSV)* et *Tobacco Ringspot Virus (TRSV)*. Donc, une campagne de sensibilisation et de vulgarisation est indispensable pour les agriculteurs vu que le nématode en question est un organisme à signalisation obligatoire.

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 Tessala El Merdja probablement liée à la texture, la structure du sol et l'âge des vignoble convient bien le développement de ce genre. Dans la station d'El Affroun les cépages malades ne sont pas dispersés par rapport aux autres vignobles, cette situation peut être liée aux traitements nématicides appliqués et

dans le vignoble d'Ain Banian elle peut être liée aux profondeurs d'échantillonnage ou à la sensibilité des espèces vectrices de la maladie aux manipulations d'analyse nématologique.

Il faut souligner que le genre identifié (*Xiphinema*) a été déjà signalé à l'occasion d'analyses faites ultérieurement par plusieurs auteurs en Algérie. Dalmasso et Cuarry (1969) [107] ont mentionné la présence de *X. italiae* dans les vignobles algériens. Kaddad et Benchiha (1979) [108], lors de leur étude relative aux espèces vectrices du virus responsables de la dégénérescence infectieuse de la vigne dans la région de Mostaganem. Bousalem (1981) [109] a révélé la présence de *X. index*, *X. mediterraneum* de *X. turcium*, *X. italiae*, et *X. sahlense*, lors de son étude faite sur l'importance de la transmission par le sol de la dégénérescence infectieuse en Algérie. Mekhukh (1989) [110] a rapporté la présence de *X. mediterraneum* dans le Mitidja.

En Tunisie dans la région de Rafrat (Trabelssi, 1999) [111], a rencontrée 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 ordre permis aux 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 et les travaux cultureux.

Selon les travaux de Barbier et al., (2010) [115], les nématodes phytoparasites ainsi que les champignons pathogènes sont généralement trouvés en communautés, ces deux groupes de bioagresseurs sont proposés comme modèle d'étude pour mieux comprendre les déterminants de la co-existence des espèces et les conséquences pathologiques pour les cultures.

### 3.4. Détection biologique

Après 14 jours de l'inoculation mécanique des différentes souches virales provenant des trois stations (Ain Benian, Tessala El Merdja et Ben Chicao) sur les plantes hôtes herbacées, des symptômes sont de type systémique caractéristique pour la famille des *Cucurbitaceae* ont été observés. Les symptômes qui s'expriment sur l'espèce *Cucumis sativus* sont des éclaircissements des nervures et jaunissement [81] et lésions locales chlorotiques [46]. Les plantules de concombre inoculées ont manifesté des symptômes pour les trois souches virales utilisées (Fig. 3. 40, 3. 41).

Pour la souche en provenance du vignoble d'Ain Banian, 7 plants sur 10 plants (soit 70%) ont extériorisé le symptôme d'éclaircissement de nervures. Par conséquent, la souche en prévenance du vignoble de Ben Chicao, 6 plants (soit 60%) ont extériorisé le symptôme d'éclaircissement de nervures suivi d'un jaunissement des feuilles après 14 jours d'inoculation. Enfin, pour la souche en provenance du vignoble de Tessala El Mardja, 8 plants (soit 80%) ont extériorisé des symptômes de type éclaircissement de nervures avec lésions locales chlorotiques.

Tableau 3. 3: Résultat de la transmission mécanique sur le concombre (*Cucumis sativus*) par des souches virales en provenance de différentes stations.

Station	Nombre d'échantillons testés	Symptômes observés
<b>Ain Benian</b>	7*/10**	Eclaircissement des nervures
<b>Ben Chicao</b>	6/10	Eclaircissement des nervures Jaunissement
<b>Tessala El Merdja</b>	8/10	Eclaircissement des nervures Lésions locales chlorotique
<b>Témoin</b>	0 /10	Absence

Légende : \* : Numérateur = Nombre de plants positifs ; \*\* : Dénominateur = Nombre de plants inoculés.

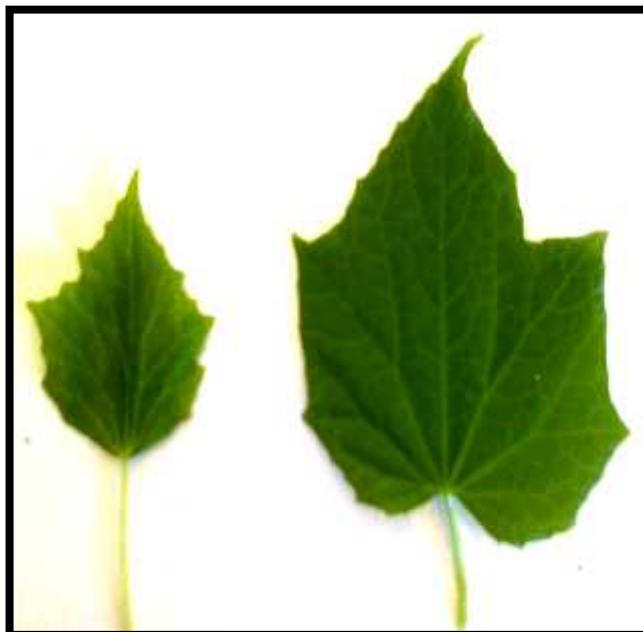


Figure 3.42: Eclaircissement des nervures et jaunissement de feuille (à gauche), feuille saine (à droite) (photo personnelle).

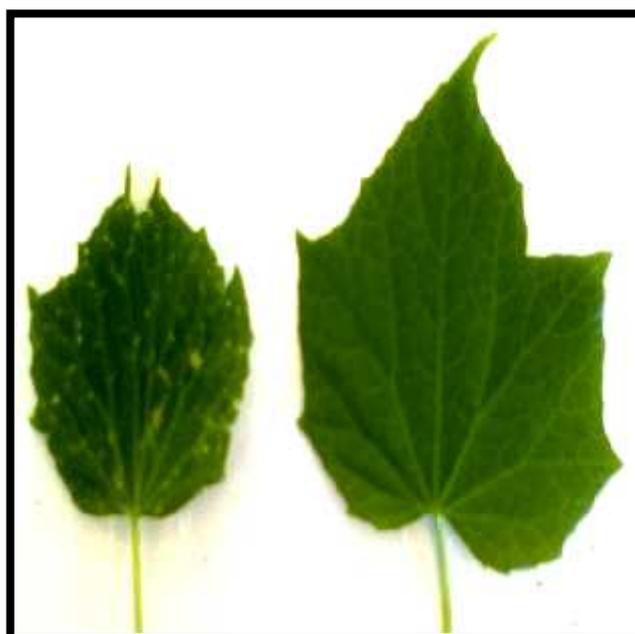


Figure 3.43: Lésions locales chlorotiques de feuille (à gauche), feuille saine (à droite) (photo personnelle).

### Discussion des résultats

Dans tous les vignobles, le test biologique a révélé des réponses positives, les symptômes observés vérifient bien la présence du virus. La plante utilisée pour la détection biologique du virus de court-noué est le concombre, celle-ci se caractérise par une forte sensibilité même à une faible concentration du virus au niveau d'inoculum [41]. Les symptômes extériorisaient par le concombre sont l'éclaircissement des nervures et le jaunissement des feuilles [81], et des taches nécrotiques [46].

Le nombre de plants infectés est de 20 plants sur 30 plants inoculés. Dans le vignoble de Médéa, les résultats obtenus de ce test sont positifs, confirment la présence du virus, cette présence a été déjà signalée par Boussalem (1981) [109] et Hadji (1991) [104].

#### 3.5. Détection immunologique du GFLV

Concernant les résultats du test sérologique DAS-ELISA, sur 94 échantillons prélevés de différentes stations (Ain Benian, Tessala el Mardja, El Affroun, Blida et Ben Chicao) et différents cépages (*Cardinal*, *Gros Noir*, *Muscat d'Alexandrie*, *Muscat italia* et *Dattier de Beyrouth*) uniquement 11 ont répondu positifs au test DAS-ELISA ce qui correspond à un taux d'infection de 11.70 % (Fig 3.44).

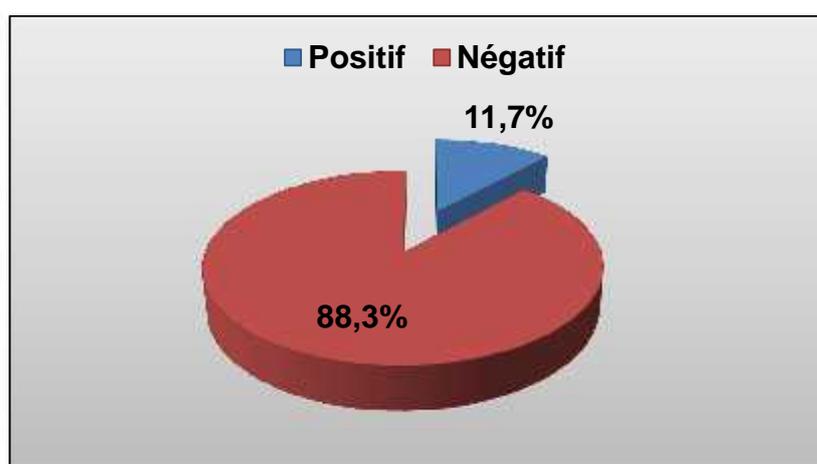


Figure 3.44 : Taux d'infection révélé par le test DAS-ELISA.

Les résultats du test sérologique DAS-ELISA selon les stations et les cépages sont récapitulés dans le tableau 3.3.

Tableau 3.4 : Résultats du test DAS-ELISA selon les stations et les cépages

Station	Cépage	Positifs	Négatifs
Blida	<i>Gros Noir</i>	0	7
Blida	<i>Cardinal</i>	0	9
El Affroun	<i>Dattier Beyrouth</i>	0	16
Tessala El Merdja	<i>Cardinal</i>	0	7
Tessala El Merdja	<i>Dattier Beyrouth</i>	1	8
Ain Beniane	<i>Cardinal</i>	0	14
Ben Chicao	<i>Muscat d'Alexandrie</i>	5	9
Ben Chicao	<i>Dattier Beyrouth</i>	4	7
Ben Chicao	<i>Muscat italia</i>	1	8
	Total	11	83

Selon le tableau 3.3, les échantillons ayant réagit positivement au test DAS-ELISA appartiennent à la station de Ben Chicao. Sur les 10 échantillons positifs, 5 échantillons appartiennent au cépage *Muscat d'Alexandrie*, 4 échantillons au cépage *Dattier de Beyrouth* et 1 seul échantillon au cépage *Muscat italia*. Dans la station de Tessala El Merdja, un seul échantillon a donné une réponse positive.

#### Discussion des résultats sérologiques par la technique DAS-ELISA

Le taux d'infection obtenu dans notre test, est moins important que celui obtenu dans les différents travaux menés durant les campagnes viticoles 2003-2004, 2004-2005 et 2013-2014 qui étaient comme suit :

) Dans les travaux de Tabouche (2004) [102], 870 échantillons testés provenant des stations (Chiffa, Blida, Mouzaia, El Affroun, Hamr El Ain, Bourroumi et Hoceinia) et différents cépages (*Muscat*, *Dattier de Bayrouth*, *Gros noir*), 395 échantillons ont eu des réponses positives au test sérologique ce qui correspond à un taux d'infection de 45.40%.

) Pour les résultats rapportés par Lecheb (2005) [101], les échantillons testés proviennent de différentes stations (Tessala El Mardja et Bourkika) et cépages (*Alphonse la vallée, Muscat d'Alexandrie, Muscat de Hambourg, King's Ruby, Centenial, Cardinal, Dattier de Beyrouth, Merlot, Pinot noir*) où le nombre total était de 150 échantillons. Uniquement 79 échantillons ont répondu positivement au test DAS-ELISA ce qui correspond à un taux de 52.66%.

) Khenchelaoui et Guenane (2014) [116] ont testé 90 échantillons provenant de trois différentes stations (Boumerdes, Alger, Médéa) et différents cépages (*Gros noir, Cardinal, Dattier de Beyrouth, Muscat, Sabel, Red-Globe*), 62 échantillons ont une réaction positive ce qui représente un taux d'infection de 68.88 %.

) Mougou et *al.*, (2006) [117], ont testé 100 échantillons provenant de la région viticole de Rafrat, située au nord de la Tunisie, 80 échantillons ont une réaction positive ce qui correspond un taux d'infection de 80 %.

L'étude réalisée par Mrabet (2012) [118], portant sur 178 échantillons analysés, montre que le *GFLV* était présent avec un taux d'infection de 36 % au nord de la Tunisie. Dans la région de Cap Bon, il présente un taux d'infection de 57 %, suivi de la région de Rafrat avec 45 % de taux d'infection. Ces taux ont été enregistrés lors d'une infection mixte dû aux deux virus *GFLV* et *ArMV*. Le taux d'infection simple par le *GFLV* uniquement ne dépasse pas 6 % dans ces deux régions. Ce taux est moins important à celui obtenu dans notre étude.

Par conséquent, nos résultats sont proches de ceux obtenus par Chabin (2009) du site expérimental situé à Rully en Bourgogne. Sur 6 vignobles, 37 échantillons ont été testés par la technique DAS-ELISA, uniquement 7 échantillons étaient positifs ce qui représente un taux d'infection de 18.91 %. Dans les mêmes travaux, 8 autres vignobles ont été prospectés où 100 échantillons ont été testés. 12 échantillons avaient une réaction positive ce qui correspond à un taux d'infection de 12 %.

Lipça et *al.*, (2012) [92] ont mené une étude sur des cultivars de la vigne de la collection ampélographique de l'University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine (USAMV) Iași en Roumanie qui ont exprimés les symptômes caractéristiques du *GFLV* entre 2009 et 2011. Le test DAS-ELISA a révélé

uniquement 17.1 % des réponses positives sur 168 échantillons de feuilles. Et d'autres régions, 76.2 % des échantillons de feuilles ont une réponse positive au test DAS-ELISA sur 336 échantillons testés. Cepin et *al.*, (2010) ont rapporté que sur 117 échantillons prélevés des vignobles en Slovénie, uniquement 12.66 % des échantillons ont réagi positivement au test sérologique DAS-ELISA.

Dans une autre étude menée par Esmenjaud et *al.*, (2013), le taux d'infection obtenu sur 33 vignobles Alsaciens testés, exprimant les symptômes typiques du court-noué, été de 18.18 %.

Bien que plusieurs stations viticoles ont été visitées où plusieurs échantillons extériorisant des symptômes typiques du GFLV sur plusieurs cépages, le taux d'infection obtenu est relativement faible. Ce résultat peut être expliqué par la faible concentration du virus dans la plante ce qui a probablement empêché sa détection par le test DAS-ELISA. Selon les travaux de Walter et *al.*, (2000) [41], la variation de la réponse DAS-ELISA pour le dépistage du GFLV dans la vigne est en fonction de la date du prélèvement des échantillons des feuilles, des conditions climatiques et des dilutions à préparer.

D'après le même auteur, les feuilles les mieux adaptées au dépistage viral, sont les plus jeunes prélevées en printemps. Durant les périodes chaudes de l'été, le virus GFLV est difficilement détectable. Andert-Link et *al.*, (2004) [57] mentionnent que le virus du GFLV est facilement détectable par le test DAS-ELISA dans les prélèvements de jeunes feuilles et pétioles en printemps où les températures sont entre 18 et 25° C.

Les résultats de la DAS-ELISA obtenus dans les travaux Martelli (1992) et Digiaro (1997), confirment que les symptômes relevés sur vignes des différentes stations (Ain benian, Bentalha, Ain Skhoua, Baghlia, Naciria et Ben Chicao, Tessala el Mardja, Bourkika, Bourroumi, Blida, El Affroun, Mouzaia, Hamr el Ain) et cépage (*Cardinal, Gros noir, Sabel, Red-Globe, Dattier de Beyrouth et Muscat*) sont produits par le GFLV.

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Le court-noué ou dégénérescence infectieuse apparait comme une maladie la plus dommageable pour la vigne et entraîne d'importantes pertes de rendement et une mortalité précoce des ceps atteints. De plus que les viticulteurs n'ont pas pris conscience de l'importance de la gravité de cette maladie qui semble affecter le patrimoine viticole et qui peut engendrer des pertes quantitatives et qualitatives allant jusqu'à 60%.

Les prospections effectuées dans différentes régions viticoles (Blida, Alger et Médea) et cépages (*Gros Noir*, *Cardinal*, *Dattier de Beyrouth*, *Muscat d'Alexandrie*, *Muscat italia*) durant les mois de mai et juin, ont révélé la présence de diverses catégories de symptômes typiques du *GFLV* tel que la déformation foliaire, raccourcissement des entre-nœuds, double nœuds, aplatissement des rameaux, croissance en zig-zig, bifurcation anormale et le changement de la pigmentation des feuilles. 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* sp où trois espèces ont été identifiées : *X. index*, *X. italiae* et *X. americanum*. Le nématode vecteur du *GFLV* *X. index* était présent dans toutes les stations prospectées à l'exception de la station expérimentale de Blida avec un taux d'infestation de 44 % par rapport aux autres espèces identifiées. La station de Tessala El Merdja était la plus infestée avec une moyenne de 66.65 nématodes / 250 ml de sol. Pour le cépage *Dattier de Beyrouth*, il a été enregistré un taux d'infestation de 46 %, ce qui représente une moyenne de 180 nématodes / 250 ml de sol.

Le résultat du test DAS-ELISA confirme la présence du *GFLV* dans les cépages de la station de Ben Chicao. Le taux d'infection obtenu était moins important (11.70 %) par rapport aux campagnes viticoles précédentes et cela malgré l'observation sur terrain des symptômes typiques du *GFLV* d'une part et la présence du nématode-vecteur d'autre part. Ceci est probablement à la diminution de la charge virale dans les échantillons prélevés.

A la lumière de nos résultats, il est souhaitable d'approfondir les études concernant la sensibilité du cépage *Dattier de Beyrouth* au nématode-vecteur de la maladie du court-noué. La station de Tessala el Mardja était la plus infestée par les nématodes-vecteurs. Cette situation suggère la mise en place d'une stratégie de lutte préventive afin d'éviter la dissémination du *GFLV* à d'autres stations saines.

La présence du nématode *X. americanum* dans les parcelles prospectées est un danger pour les cultures maraichères vu que ce nématode est classé dans la liste A2 des organismes de quarantaine par OEPP. Ce nématode est un vecteur de plusieurs virus comme : *Tomato Ringspot Virus (To RSV)* et *Tobacco Ringspot Virus (TRSV)*. Donc, une campagne de sensibilisation et de vulgarisation est indispensable pour les viticulteurs vu que le nématode en question est un organisme à signalisation obligatoire.

Toutefois, l'identification des espèces de nématode du genre *Xiphinema sp* a été réalisée à l'aide des clefs d'identification qui se base uniquement sur les critères morphométriques. Il est important de confirmer cette identification avec des études moléculaires plus poussées.

Vu le manque de fiabilité du test DAS-ELISA pour détecter la présence du *GFLV* avec des basses charges virales, il est important de réaliser un diagnostic moléculaire afin de valider la présence ou l'absence du virus du court noué dans les vignobles. D'autre part, il est nécessaire d'identifier les souches du *GFLV* présentes dans ces derniers et de faire une étude comparative avec d'autres souches existantes dans le bassin méditerranéen.

La présence de la maladie dans les vignobles algériens nous laisse suggérer un lancement en urgence d'enquêtes épidémiologiques afin de mieux éclairer la situation sanitaire des vignobles et de modéliser la maladie en cas d'une épidémie !!!

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. This, P., Lacombe, T., Thomas M.R., " Historical origins and genetic diversity of wine grapes. ", Trends in Genetics, V. 22, n° 9, 2006, 511-519.
2. Lenoir R., Manuel: base scientifique et techniques de la viticulture. Ed. Lavoisier. Londres, Paris, New York, 2015, 334 Pp.
3. Johnson, H., " Une histoire mondiale du vin de l'antiquité à nos jours. ", Editions Hachette, 1990.
4. Levadoux, L., Benabderrabou, A et Douaouri, B., " Ampélographie algérienne : cépages de table et de cuve cultivés en Algérie ", Société nationale d'édition et de diffusion, 1971, 118 p.
5. Boubals, D., " Viticulture méditerranéenne face aux conditions techniques, économiques et sociale de l'avenir ", In.la vigne et le vin : CIHEAM, 1972, 12-13-17 pp.
6. Mullins, M.G., Bouquet, A., Williams, L.E., " Biology of grapevine ", Cambridge University Press, 1992.
7. Scotti, E., " Petite histoire du vignoble en Algérie (1830-1962) ", L'Algérieniste, n°38, 1987, pp 1-9.
8. Diemer, A., " Institution et institutionnalisation du courant néolibéral français : Le vignoble Algérien des années coloniales ", Greqam, Aix-Marseille, (2011), 26p.
9. Larbi, D., " Influence du choix de bourgeon sur la réussite au greffage et le développement des plants viticoles en pépinière ", Thèses d'ingénieur INES, 1983, 87p.
10. Martin, P.A., Voisin, G., " Rapport d'information d'une assemblée nationale N°3435, sur la situation de la viticulture en France ", (2006), pp.1-26.
11. Anonyme, 2013. Statistique agricole. Ed. Institut Technique de L'Arboriculture Fruitière et de la Vigne (ITAFV), 105Pp.
12. Anonyme, 2015. Le catalogue des vignes cultivées en France, en ligne sur: <http://www.plantgrape.plantnet-project.org>.
13. Anonyme, 2015. Le catalogue des vignes cultivées en France, en ligne sur: <http://www.plantgrape.plantnet-project.org>.
14. Gaffiot, F., " Dictionnaire latin français ", *Hachette Livre*, 1934.

15. Peros, JP., Berger, G., Portemont, A., Boursiquot, JM., Lacombe, T., " Genetic variation and biogeography of the disjunct vitis subg. *Vitis* (vitaceae) ", *Journal of Biogeography*, V 3, n° 38: 2010, p 471-486.
16. Galet, P., " Précis de viticulture ", Editions Galet, 1993.
17. Bouquet, A., " Origine et évolution de l'encépagement français à travers les siècles ", *Progrès agricole et viticole*, V3, n° 5, 1982, p 110-121.
18. Galet, P., *Cépages et vignobles de France*, Editions Galet, 1988.
19. Garciaz Cortazar Atauri, I., " Adaptation du modèle STICS à la vigne (*Vitis vinifera*) ", Thèse Doctorat, Ecole nationale supérieure agronomique, Montpellier, 2006, 349p.
20. Chauvet, M., et REYNIER, A., " Manuel de viticulture Coll. d'enseignement" agricole. Ed. Paris Bailliére, 1979, 351 p.
21. Chauvet, M., et REYNIER, A., " Manuel de viticulture Coll. d'enseignement" agricole. Ed. Paris Bailliére, 1979, 351 p.
22. Legros JP. " Le phylloxéra, une histoire sans fin. ", *Association française pour l'avancement des sciences*, 1997(1), 32- 39.
23. Baggiolini M., « Les stades repères dans le développement annuel de la vigne et leur utilisation pratique ». *Revue romande d'Agriculture et d'Arboriculture* 8 (1), 4–6. 1952.
24. Lorenz, K.H.; Schneider, B.; Ahrens, U.; Seemüller, E., « Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and non-ribosomal DNA ». *Phytopathology* 85, 771-776. 1995.
25. Anonyme, 2009. Liste des maladies et de leurs vecteurs et ravageurs de la vigne. <http://ephytia.inra.fr/fr/C/7056/Vigne-Ecologie-epidemiologie>
26. Galet, P. « Dictionnaire encyclopédique des cépages », *Hachette book*, (2000).
27. Simon J.L., "Bases scientifiques et technologiques de la viticulture." 3e édition. Payot. Lausanne. 1992. 223p.
28. Briche E., "Apports de la modélisation à méso -échelle en climatologie appliquée. Changement climatique et vignoble de Champagne". Journée scientifique de l'OSU Pythéas. 2011.
29. Huglin P., « Biologie et écologie de la vigne ». Ed. Payot. Lausanne., (1986), 371 p.
30. Walali L, Skiredj A et Elattir H. « Transfert de technologie en agriculture » .Ed. Bahmouh A, 2003, 4 Pp.

31. Marcantoni G. « Points clés de la conversion d'un vignoble à la viticulture biologique ». Rosé.com n°16. 2010.
32. Vaudour E., Morlat R., van Leeuwen C., Dolédec A.F., « Terroirs viticoles et sols. In : *Sols et environnement*. » Girard M.C., Walter C., Rémy J-C., Berthelin J. et Morel J-L. Édts., Dunod, Paris. 2005. 816 p.
33. Galet P., « Les maladies dues à des végétaux (Champignons, bactéries, viroses, et Phanérogames) ». Imprimerie de payon du Midi, Montpellier. 1982,1876p.
34. Girard G., « Manuel: base scientifique et techniques de la viticulture. », Ed. Lavoisier. Londres, Paris, New York, 2001, 334 Pp.
35. Galet P., « Précis de pathogènes viticoles ». Ed, Tech et Doc. Paris, 1991, 264 Pp.
36. Blouin J., « Les parasites de la vigne. Stratégie de protection raisonnée. », Traduit de l'espagnol sous la direction de Daniel Gouadec par Gaulou-Brain. J et Amos-Sanchez. A., 2005, 430Pp.
37. Coyne D.L., Nicol J.M. et Claudius-Cole B., « Les nématodes des plantes: Un guide pratique des techniques de terrain et de laboratoire. » Traduit par Patrick Quénéhervé. 2010. 93 Pp.
38. Galet P., « 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, 1977, 872 Pp.
39. Reynier A., « Manuel de viticulture. », Edition TEC & DOC. Paris. 10<sup>ième</sup> Ed. 2007, 527Pp.
40. Odile C., Réjean B. et Jacques L., « Gestion raisonnée des principales maladies de la vigne au Québec », 2009, 47 Pp.
41. Walter B., Elisabeth B.P. et Ride M., « Maladies à virus, bactéries et phytoplasmes de la vigne ». Ed. Ferret. 2000.191Pp.
42. Martinson T., Fuchs M., Loeb G., Hoch H., « Grapevine Leafroll – an increasing problem in the finger Lakes, the US and the world. », Rapport du New York State Agricultural Experiment Station. Cornell University. 2008.
43. Martelli G.P. et Boudon-Padieu E, “ Directory of infectious diseases of grapevines and virus and virus–like disease of the grapevine: bibliographic report 1998-2004”. *Options méditerranéennes*, série B: 55. (CIHEAM), Bari, Italie. 2006.
44. Le Maguet, J., Herrbach, E., Hommay, G., Beuve, M., Boudon-Padieu, E., and Lemaire, O. « Monitoring of grapevine leafroll-associated virus 1 (GLRaV-1)

- dispersion by the mealybug *Phenacoccus aceris*. » 16th Meeting of ICVG. 2009.
45. Habili N. et Monis J., « Highlights of ICVG 2006 meeting. Advances in research : grapevine viruses ». Practical winery and vineyard. (December/November 2006).
  46. Halgand F., « Le court noué : état actuel des connaissances. », Thèse de Doctorat. Faculté de pharmacie. Université de Nantes, 2009, Pp 275.
  47. Martelli G. P., « Grapevine degeneration – fanleaf. Martelli GP. (ed). graft transmissible diseases of grapevines. Handbook for detection and diagnosis. ». Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome, Italy. 1993. pp. 9-18
  48. Anonyme, 2006, ICVG extended abstracts 15<sup>th</sup> Meeting ICVG, Stellenbosch, South Africa, 3-7 April 2006.
  49. Martelli C.P., Fanleaf degeneration/decline disease of grapevines, Department of Plant Pathology and Plant-Microbe Biology, Cornell University, NYSAES, Geneva, NY, 2008, En ligne sur:  
[www.nysipm.cornell.edu/factsheets/grapes/diseases/fanleaf.pdf](http://www.nysipm.cornell.edu/factsheets/grapes/diseases/fanleaf.pdf).
  50. Demangeat G., Transmission des *Nepovirus* par les nématodes *Longidoridae*. Virologie 11 (4), (2007), 309-330.
  51. Raski D.J., « La protection phytosanitaire en viticulture ». Rev.Sui.Vit.Arbo.Hortic, N°1, (2000), 16-20p.
  52. Bovey R., Gartel W., Hewitt B., Martelli G.p., Vuittenez A., « Soil-borne viruses transmitted by nematodes. Virus and virus-like diseases of grapevines », pp 46-50. Editions Payot, Lausanne, Suisse. (1990).
  53. Martelli G.P., Savino V. « Fanleaf degeneration. Pp 48-49 in Compendium of grape Diseases (R. C. Pearson and A. C. Gohenn, Eds). American Phytopathological Society Press, St Paul, Minnesota. (1988). 93p.
  54. Winterhagen P., Brendel G., Krczal G., Reustel G.M ., « Development of an in vitro dual culture system for grapevine and *Xiphinema* index as a tool for virus transmission. Dans : South Africa Journal of Enology and Viticulture, (28), n° 1. (2007).
  55. Vigne E., Bergdol M., Guyader S. et Fuchs M., « population structure and genetic variability within isolates of Grapevine Fanleaf Virus from a naturally infected vineyard in France : evidence for mixed infection and recombination. Journal of general Virology (85), 2004 : 2435-2445.

56. Maghuly F., Transmission des *Nepovirus* par les nématodes *Longidoridae*. *Virologie* 11, 2006, 309-321.
57. Andret-Link P., Laporte C., Valat L., Laval V., Ritzenthaler C., Demangeat G., Vigne E., Pfeiffer P., Stussi-Garaud C., Fuchs M. « Grapevine fanleaf virus: Still a major threat to the grapevine industry. », *J. Plant Pathol*, 2004, 86:183-195.
58. Gouadec, D., « Translation as a profession », Amsterdam/Philadelphia: John Benjamins Publishing Company. 2007.
59. Cazalis-Allut C., « De la dégénération des vignes. », *Œuvres Agricole*, (1865), Pp : 57-61.
60. Rathay E., « Die gable roder Zwiewipflereben », *Österreiches Botanische Zeitschrift* 32, (1882), Pp : 316-320.
61. Cholin J.J., « Beobachtungen über die Reisingkrankheit der reben an ahr. Mitteilung uber Weinbau und Kellerwirtschaft 8, (1896), Pp : 63-64.
62. Beijerinck (1898)
63. Baccarini P., « viticulture moderne 8 », Ed Roncet ; (1902), 241-248.
64. Pantalelli E., « influence du terrain sur la transmission du court-noué de la vigne. », *Rendicouti Regia Accademia dei Lincei*, (1912) ; Pp : 395-401.
65. Petri L., « Sulle cause dell aricciamet della vite. », *Bolleatina della regia statione di patologia végétale*, Roma, (1929). 101-130.
66. Branas j., Bernon G., Levadoux L., « Sur les circonstances qui favorisent le développement du court-noué. » *Progrès agricole et viticole* 58 ; (1937). Pp : 161-165.
67. Vuittenez A., Legin R., Kuszala J., « les viroses de la vigne et les maladies des plantes », *Acta des journées française d'étude et d'information*. Paris. (1969). Pp : 57-577.
68. Cadman C.H., Dias H.F., Harrison B.D., « Sap transmissible vroses associated with diseases of grape in Europe and north america. *Revue : Nature* n° 187. Pp : 577-579.
69. Hewitt W.B., Goheen A.C., Raski D.J., « nematode vector of soil born fanleaf virus of grapevine in California. ». *Revue : Vitis* n° 3 ; (1958). Pp : 57-83.
70. Boubals D., « Viticulture méditerranéenne face aux conditions techniques, économiques et sociale de l'avenir ». *Institut de la vigne et du vin : CIHEAM ;* (2001). Pp : 12, 13-17 pp.

71. Lapierre O., « Viroses and virus diseases of Poaceae », Edition INRA ; (2005). Pp : 342-346.
72. Le Gall O., Iwanami T., Karasev AV., et al. Family Comoviridae,. Dans : FAUQUET CM., MAYOT MA., MANILOFF J., DESSELBERGER U., BALLS LA., eds Virus taxonomy : classification and nomenclature of viruses. 8<sup>th</sup> Report of the International Committee on Taxonomy Of Viruses (2005).
73. Fuchs M, Pinck M, Serghini M.A, Ravelonandro P, Walter B, et Pinck L., "The nucleotide sequence of satellite RNA in grapevine fanleaf virus strain F13". J.Gen. Virology, N°70, (1989), Pp : 155-161p.
74. Bashir N.S., Nikkah S., « variation in movement protein gene of grapevine fanleaf virus isolates from Iran ». Abstracts 15 th Meeting ICVG, Stellenbosh, South Africa, 33-7 April 2006, Pp : 43-44.
75. Andret-link P., « Identification des déterminants viraux responsables de la spécificité de transmission du *Grapevine Fanleaf virus* par son nématode vecteur *Xiphinema index*. » Th. Doc. Univ. Louis Pasteur Strasbourg I, en biologie moléculaire et cellulaire. UMR 1131 ULP/INRA santé de la vigne et Qualité des vins, Colmar. (2005).
76. Pinck L, Fuchs M, Pinck M, Ravelonandro M, Walter B., "Satellite RNA in grapevine fanleaf virus Strain F13". J. Gen. Virology, 69, (1988), 233- 239.
77. Ritzenthaler C, Pinck M, et Pinck L., "Grapevine fanleaf Nepovirus P38 putative movement protein is not transiently expressed and is a stable final maturation product in vitro". J.Gen Virology, N°76, (1995), 907-915p.
78. Demangeat G., Esmenjaud D., Voisin R., Bidault J.M., Grenan S., Claverie M., « Le court-noué de la vigne. I- Etat des connaissances sur cette maladie lors de la journée « Alternative » du 28 avril 2005. Phytoma - La Défense des Végétaux 587 », (2006) :38-42.
79. Gaire P, Schmitt A.C, Stussi-garaud C, Pinck L, et Ritzenthaler C., 1999."PROTEIN A2 of grapevine fanleaf Nepovirus implicated in replication and collocation with the replication" Virology, N°264. 25-36p.
80. Fuchs M., Gonsalves D., « Safety of virus-resistant transgenic plants two decades after their introduction. Revue phytopathol, (2007), Pp : 173-202.
81. Galet P., « Précis de pathologie viticole », 3<sup>ième</sup> ed, Lavoisier (Tec et Doc). (1999) 246Pp.

82. Martelli G.P., « Classification systématique des virus de la vigne ». patho, vege de l'université de Bari. Ed. Centre international des hautes études agronomiques méditerranéen. (1997), Pp : 17Pp.
83. Lamberti F., Prota V., Bleve-Zacheo T. et Garou R., « Studies on the life cycle of *Xiphinema index*.” *Nematol. Medi.* 5: 299-303. (1977).
84. Villate L., Esmenjaud D., van Helden M., Stoeckel S., Plantard O., 2010. Genetic signature of amphimixis allows for the detection and fine scale localization of sexual reproduction events in a mainly parthenogenetic nematode. *Mol. Ecol.* 19, 856–873.
85. Schellenberger P., « caractérisation structurale et fonctionnelle de déterminants de la capsid du GFLV impliqués dans la transmission par *Xiphinema index*. Thèse Doctorat. Faculté SNV Strasbourg. (2010). Pp : 224.
86. Martelli G. P., “Virus and virus like diseases of grapevine in Algeria.” Rapport to the government of Algeria, F.A.O., Rome, (1985). 553Pp.
87. Cohn E., Tanne E., Nitzani F.E., « *Xiphinema italiae*, a new vector of *Grapevine Fanleaf virus*.”, *Phytopathology*; 60: (1977), Pp : 181- 182.
88. Martelli G.P., Savino V., « Fanleaf degeneration. Dans : Pearson R.C and Goheen A. compendium of grape diseases 1990. APS Press St Paul, MN, USA, (1990). Pp : 48-49.
89. Taylor C.E, ET Brown D.J.F., “Nematode Vectors of plant Viruses”. CAB International, Wallingford, (1997). 286p.
90. Demangeat G., Komar V., Van-Ghelder C., Voisin R., Lemaire O., Esmenjaud D., Fuchs M., 2010. Transmission competency of single-female *Xiphinema index* lines for Grapevine fanleaf virus. *Phytopathology* 100, 384-389.
91. Demangeat g., Esmenjaud d., Voisin r., Bidault j.m., Grenan s., Claverie m., Le court-noué de la vigne. I- Etat des connaissances sur cette maladie lors de la journée « Alternative » du 28 avril 2005. *Phytoma - La Défense des Végétaux* 587 :38-42.
92. Lip a F.D., Ulea E., Irimia N., Serological detection of grapevine fanleaf virus (GFLV) in ampelographie collection from Usamv Iasi (Romanie). (2012).
93. Hewitt W.B., Raski D.J., Goheen A.C., « Nematode vector of soil borne fanleaf Virus of grapevines. », revue : *phytopathology* N° 48, (1958), Pp : 586-595.
94. Brown DJF, MacFarlane SA. Worms that transmit viruses. *Biologist* 2001 ; 48 : 35-40.

95. Wyss U. *Xiphinema index*, maintenance, and feeding in monoxenic cultures. In : Maramorosch K, Mahmood F, eds. *Maintenance of human, animal and plant pathogen vectors*. Enfield, USA : Science Publishers Inc, 2000.
96. Brown DJF, Weischer B. Specificity, exclusivity and complementarity in the transmission of plant viruses by plant parasitic nematodes : an annotated terminology. *Fundam Appl Nematol* 1998 ; 21 : 1-11.
97. Taylor CE, Robertson WM. Sites of virus retention in the alimentary tract of the nematode vectors, *Xiphinema diversicaudatum* (Nicol.) and *X. index* (Thorne and Allen). *Ann Appl Biol* 1970 ; 66 : 375-80.
98. Roberts IM, Brown DJF. Detection of six nepoviruses in their nematode vectors by immunosorbent electron microscopy. *Ann Appl Biol* 1980 ; 96 : 187-92.
99. Anonyme 2015, [www.googleearth.com](http://www.googleearth.com)
100. Dalmasso A., Etude anatomiques et taxonomiques des genres *Xiphinema* (*Nematoda, Dorylamida*). *Ann. App. Zool.*, 64, 1968, Pp : 33-82.
101. Melouk S., Inventaire des vecteurs de virus de la vigne. Mém. Ing. Agro. Blida. 2002. 55Pp.
102. Tabouche A., Etude de virus de court-noué de la vigne (Grapevine Fanleaf Virus, Nepovirus, GFLV) en Algérie : Diagnostique séro et bio-détection. Efficacité de la transmission par différents vecteurs inventoriés. Mem. Mag. Agro. Blida. 2005. 145Pp.
103. Benfreha Zemouli F., 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, 1983. 37Pp.
104. Hadji Z., Identification biologique et sérologique du virus de court-noué de la vigne dans la région de ben chicao (Médéa). Mem. Ing. Agro. Blida, 1991. 28Pp.
105. Morsli D., Evaluation sanitaire du vignoble et identification par voie biologique et sérologique d'un isolat du court-noué à partir d'une variété autochtone. Mem. Ing. Agro. INA, El Harrach, 1995, 87Pp.
106. Martelli G. P., Virus and virus like diseases of grapevine in Algeria. Rapport to the government of Algeria, F.A.O., Rome, 1985, 553Pp.
107. Dalmasso A. et Cuany, Importance de la transmission par le sol de la dégénérescence infectieuse de la vigne dans l'Algérois. Bull. Phytosanitaire de la F.A.O. (17), 1969. 3Pp.

108. Kaddad Benchiha A., Contribution à l'étude des nématodes de genre *Xiphinema* cob 197, vecteur des viroses dans la région de Mostaganem. Mem. Ing. Agro. INA, El Harrah, 1979. 67Pp.
109. Bousalem M., « Contribution à l'étude du court-noué dans les pépinières de l'Algérois ». Mem. Ing. Agro. INA, El Harrach, 1981, 85Pp.
110. Mekhoukh A., « Contribution à l'étude d'un inventaire des nématodes phytophage des cultures ornementales et florales ». Mem. Ing. Agro. Blida, 1989, 7Pp.
111. Trabelssi M., Les principaux nématodes associés à la vigne. Mem. Ing. Agro. Tunisie. 1999. 75Pp.
112. Demangeat G, Voisin R, Minot JC, Bosselut N, Fuchs M, Esmenjaud D, "Survival of *Xiphinema index* in vineyard soil and retention of grapevine fanleaf virus over extended time in the absence of host plants". *Phytopathology* 95: 2005. 1151-6.
113. Gugerli P, Brugger JJ, Basler P,. "Dégénérescence infectieuse ou court-noué de la vigne". Département EVD, fiche technique des maladies des vignobles. N° 033. 1990. <http://www.agroscope.admin.ch/data>.
114. Naraghi-Arani P, Daubert S, Rowhani A,. "Quasispecies nature of the genome of Grapevine fanleaf virus". *Journal of General Virology* 82. 2001. 1791-5.
115. Barbier S., V. Edel-Hermann, G. Granereau, C.Héraud, D. Jimenez, B. Martiny, T. Mateille ; « Rapport de prospection nématologique « écosystèmes résiduels » landais 20-21 juillet 2010 ». Centre de biologie pour la gestion des populations. Montpellier. 2010. Pp 9.
116. Khenchlaoui K. Guennane S. « étude du court noué dans les vignobles algériens ». Thèse d'Ingénieur d'Etat. Deaptement de biotechnologie. Faculté SNV Université Blida 1. 2014. Pp 102.
117. Mougou A, Mahmoud S, Chiboub T, Boubaker A,. « Étude de la situation phytosanitaire de trois régions viticoles de la Tunisie : cas des virus du court-noué et de l'enroulement foliaire ». Actes 13<sup>e</sup> Journées scientifiques sur les acquis de la recherche agricole; 2006.
118. Mrabet B, 2012. Étiologie de la maladie du courtnoué dans les principales régions viticoles de la Tunisie. Mémoire du Diplôme de Mastère « lutte biologique et intégrée en agriculture ». Tunis (Tunisie): Institut national agronomique de Tunisie. 80 pp.

119. Chabin J., « Suivi d'une parcelle touchée par la maladie dans le site expérimental de Rully en Bourgogne ». Rapport de stage pour licence. Institut Universitaire de la Vigne et du Vin. Bourgogne. 2009.
120. Ćepin U., Gutierrez-Aguirre I., Balažić L., Pompe-Novak P., Gruden K., Ravnikar M., « A one-step reverse transcription real-time PCR assay for the detection and quantitation of Grapevine fanleaf virus ». Journal of virology methods. Revue scienceDirect. 2010. Pp 10.
121. Esmenjaud D, Bouquet A,. Selection and application of resistant germplasm for grapevine nematodes management. In: Ciancio A, Mukerji KG, eds. Integrated management of fruit crops and forest nematodes. Springer Science and Business Media B.V. 2013. 195-214.

## ANNEXE 1 : RESULTATS DE LA LECTURE DES PLAQUES

### Plaque n° 01

	A	B	C	D	E	F	G	H
<b>1</b>	-0.057	-0.053	-0.061	-0.068	-0.054	-0.084	-0.083	-0.078
<b>2</b>	-0.083	-0.098	-0.096	-0.086	-0.075	-0.092	-0.091	-0.085
<b>3</b>	-0.081	-0.085	-0.082	-0.082	-0.061	-0.086	-0.080	-0.083
<b>4</b>	-0.063	-0.049	-0.042	-0.044	-0.032	-0.043	-0.048	-0.052
<b>5</b>	-0.053	-0.043	-0.037	-0.044	-0.034	-0.042	-0.049	-0.051
<b>6</b>	-0.045	-0.035	-0.030	-0.036	-0.023	-0.036	-0.044	-0.045
<b>7</b>	-0.041	-0.036	-0.031	-0.035	-0.024	-0.039	-0.040	-0.048
<b>8</b>	-0.040	-0.033	-0.033	-0.036	-0.026	-0.035	-0.041	-0.049
<b>9</b>	-0.040	-0.035	-0.030	-0.033	-0.022	-0.033	-0.035	-0.042
<b>10</b>	-0.022	-0.024	-0.033	-0.033	-0.025	-0.029	-0.037	-0.045
<b>11</b>	-0.038	-0.034	-0.029	-0.033	-0.021	-0.031	-0.036	-0.040
<b>12</b>	-0.035	-0.030	-0.025	-0.028	-0.027	-0.025	0.963	1.205

### Plaque n° 02

	A	B	C	D	E	F	G	H
<b>1</b>	-0.125	-0.125	-0.125	-0.125	-0.125	-0.125	-0.125	-0.125
<b>2</b>	-0.113	-0.125	-0.125	-0.125	-0.125	-0.125	-0.125	-0.097
<b>3</b>	-0.059	-0.064	-0.049	-0.039	-0.036	-0.070	-0.090	-0.089
<b>4</b>	-0.043	-0.031	0.134	0.161	0.433	0.375	0.088	0.137
<b>5</b>	-0.045	-0.077	-0.056	-0.053	0.447	0.377	-0.044	-0.015
<b>6</b>	-0.042	-0.077	-0.056	-0.062	-0.031	-0.072	-0.103	-0.086
<b>7</b>	-0.025	-0.024	0.060	0.071	-0.041	-0.087	-0.100	-0.085
<b>8</b>	0.110	0.111	-0.027	-0.028	0.010	-0.029	-0.051	-0.038
<b>9</b>	-0.022	-0.046	-0.088	-0.087	0.323	0.239	0.183	0.231
<b>10</b>	0.359	0.416	-0.047	-0.038	-0.028	-0.059	-0.076	-0.074
<b>11</b>	-0.026	0.108	-0.035	-0.041	-0.037	-0.044	-0.069	-0.057
<b>12</b>	-0.002	-0.020	-0.015	-0.027	-0.022	-0.032	0.897	0.920

<b>N° échantillon</b>	<b>D. O</b>	<b>D.O</b>	<b>Moyenne</b>	<b>poucentage de négativité</b>
1	-0,057	-0,053	-0,055	211
2	-0,061	-0,068	-0,0645	248
3	-0,054	-0,084	-0,069	265
4	-0,083	-0,078	-0,0805	309
5	-0,083	-0,098	-0,0905	350
6	-0,096	-0,086	-0,091	350
7	-0,075	-0,092	-0,0835	321
8	-0,091	-0,085	-0,088	338
9	-0,081	-0,085	-0,083	319
10	-0,082	-0,082	-0,082	319
11	-0,061	-0,086	-0,0735	282
12	-0,08	-0,083	-0,0815	313
13	-0,063	-0,049	-0,056	215
14	-0,042	-0,044	-0,043	165
15	-0,032	-0,043	-0,0375	144
16	-0,048	-0,052	-0,05	192
17	-0,053	-0,043	-0,048	184
18	-0,037	-0,044	-0,0405	155
19	-0,034	-0,042	-0,038	146
20	-0,049	-0,051	-0,05	192
21	-0,045	-0,035	-0,04	155
22	-0,03	-0,036	-0,033	126
23	-0,023	-0,036	-0,0295	113
24	-0,044	-0,045	-0,0445	171
25	-0,041	-0,036	-0,0385	148
26	-0,031	-0,035	-0,033	126
27	-0,024	-0,039	-0,0315	121
28	-0,04	-0,048	-0,044	169
29	-0,04	-0,033	-0,0365	140
30	-0,033	-0,036	-0,0345	132
31	-0,026	-0,035	-0,0305	117
32	-0,041	-0,049	-0,045	173
33	-0,04	-0,035	-0,0375	144
34	-0,03	-0,033	-0,0315	121
35	-0,022	-0,033	-0,0275	105
36	-0,035	-0,042	-0,0385	148
37	-0,022	-0,024	-0,023	88
38	-0,033	-0,033	-0,033	126
39	-0,025	-0,029	-0,027	103
40	-0,037	-0,045	-0,041	160

41	-0,038	-0,034	-0,036	140
42	-0,029	-0,033	-0,031	118
43	-0,021	-0,031	-0,026	100
44	-0,036	-0,04	-0,038	148
45	-0,035	-0,03	-0,0325	126
46	-0,025	-0,028	-0,0265	101
47	-0,027	-0,025	-0,026	Témoin négatif
48	0,963	1,205	1,084	Témoin positif
49	-0,125	-0,0125	-0,125	480
50	-0,125	-0,125	-0,125	480
51	-0,125	-0,0125	-0,125	480
52	-0,125	-0,125	-0,125	480
53	-0,113	-0,125	-0,119	457
54	-0,125	-0,125	-0,125	480
55	-0,125	-0,125	-0,125	480
56	-0,125	-0,097	-0,111	426
57	-0,059	-0,064	-0,0615	234
58	-0,049	-0,039	-0,044	169
59	-0,036	-0,07	-0,053	203
60	-0,09	-0,089	-0,0895	342
61	-0,043	-0,031	-0,037	142
62	0,134	0,161	0,1475	positif
63	0,433	0,375	0,404	positif
64	0,089	0,137	0,113	positif
65	-0,045	-0,077	-0,061	234
66	-0,056	-0,053	-0,0545	207
67	0,447	0,377	0,412	positif
68	-0,044	-0,015	-0,0295	113
69	-0,042	-0,077	-0,0595	226
70	-0,056	-0,062	-0,059	226
71	-0,031	-0,072	-0,0515	196
72	-0,103	-0,086	-0,0945	363
73	-0,025	-0,024	-0,0245	94
74	0,06	0,071	0,0655	positif
75	-0,041	-0,087	-0,064	246
76	-0,1	-0,085	-0,0925	355
77	0,11	0,111	0,1105	positif
78	-0,027	-0,028	-0,0275	105
79	0,01	-0,029	-0,0095	36
80	-0,051	-0,038	-0,0445	169
81	-0,022	-0,046	-0,034	130
82	-0,088	-0,087	-0,0875	334
83	0,323	0,239	0,281	positif
84	0,183	0,231	0,207	positif

85	0,359	0,416	0,3875	positif
86	-0,047	-0,038	-0,0425	161
87	-0,028	-0,059	-0,0435	165
88	-0,076	-0,074	-0,075	288
89	-0,026	0,108	0,041	positif
90	-0,035	-0,041	-0,038	146
91	-0,037	-0,044	-0,0405	155
92	-0,069	-0,057	-0,063	242
93	-0,002	-0,02	-0,011	42
94	-0,015	-0,027	-0,021	80
95	-0,022	-0,032	-0,027	Témoin négatif
96	0,897	0,92	0,9085	Témoin positif