

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des sciences Agronomiques et Vétérinaires

Département d'Agronomie

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Amélioration des productions végétales

ETUDE DU VIRUS DU COURT- NOUE DE LA VIGNE

[*GRAPEVINE FANLEAF VIRUS, NEPOVIRUS (GFLV)*] EN

**ALGERIE : Bio - et Séro – détection, efficacité de la transmission par
différents vecteurs inventoriés**

par

Aicha TABOUCHE

Devant le Jury Composé de :

Y. GUENAOUI	Professeur, U. DE MOSTAGANEM	Présidente
H. BELKAHLA	Maître de Conférences, U .DE BLIDA	Rapporteur
Z. HOUMANI	Maître de Conférences , U .DE BLIDA	Examinatrice
A. BENZAADA	Charge de Cours , U .DE BLIDA	Examineur

Blida , Décembre 2004

Résumé :

Le court noué (*Grapevine Fanleaf Nepovirus*, (*GFLV*), le virus le plus répandu dans le monde et l'un des plus dommageable sur vigne . Il est transmis par *Xiphinema index* et *X. italiae* . L'objectif de cette étude était la détection du virus de la vigne , la recherche des nématodes vecteurs et l'évaluation de l'efficacité de la transmission du *GFLV* par les nématodes présents dans les vignobles algériens. Des prospections ont été effectuées au niveau de 8 stations : station Chiffa , station Médea, station expérimentale d'agronomie de Blida , station de Hamr Ain (Tipasa) , station El Affroun et la station de Hoceinia (Ain Defla). Le contrôle par le test biologique (inoculation mécanique) et le test immuno-enzymatique a porté sur tous les échantillons prélevés de chaque station. Seulement 45.40 % des plantes testés ont répondu positif au *GFLV* en Double antibody sandwich Elisa (DAS- ELISA). Plusieurs espèces du genre *Xiphinema* a été identifié (*X. index* , *X. italiae*, *X. americanum* , *X. mediterraneanum* , *X. turicum* et *X. reversi*). Les résultats de la transmission du virus par le vecteur (*Xiphinema index* et *X. italiae*) sur les cinq variétés (Sultane, Dattier de Beyourth, Musat d' Hambourg, Cardinal et Golnoir) sont variables , le taux d'infection obtenu était de 36 %.

Mot clé : Vigne , *GFLV*, Nématodes, *Xiphinema index*, *X. italiae*, Transmission , DAS-ELISA, Test biologique, Algérie

Abstract :

Grapevine fanleaf (*GFLV*) is a *Nepovirus* that causes severe damage, it is transmitted by *Xiphinema index* et *X. italiae*. The object of this study is the detection of virus affected Grapevine Fanleaf virus (*GFLV*) , with mostly identify and characterize its vectors which are the nematodes and evaluation the efficacy of the transmission of *GFLV* by nematodes inventoried in grapevine algeriens. Prospecting were has been effected at 8 stations : station Chiffa , station Médea, station institut agronomic de Blida , station de Hamr Ain (Tipasa) , station d' El Affroun et station de Hoceinia (Ain Defla) .The control by test biological and Double antibody sandwich-Elisa (DAS-ELISA) effected on all samples taken in 8 stations . Only 45,40 % of samples tested were has been positives. Most species of *Xiphinema* have been identify (*X. index* , *X. italiae*, *X. americanum* , *X. mediterraneanum* , *X. turicum* et *X. reversi*). The transmission of virus by vectors (*Xiphinema index* et *X. italiae*) on five variety (Sultane, Dattier Beyrouth, Muscat d'hambourg, Cardinal et Golnoir) were infected , this is average of incidence 36 %.

Mot clé : Grapevine , *GFLV*, Nématodes, *Xiphinema index*, *X. italiae*, Transmission , DAS-ELISA, Test biological, Algérie

ملخص :

الفيروس مروحي العنب (*Grapevine Fanleaf virus (GFLV)*) ينتمي إلى صنف نيو فيروس وهو منتشر في كل أنحاء العالم ويتسبب في خسائر معتبرة ، وينتقل بواسطة النماتودات وهما نوعين : *Xiphinema index*, *X. italiae* . الهدف من هذه الدراسة هو التأكد من وجود هذا المرض مروحي العنب في الحقول وبحث عن النماتودات الناقلة له ، وتقويم قدرة هذه أخير على نقله. ولذلك أخذنا بعض العينات من 08 حقول عنب وهي كالتالي : الشفة، البليدة ، حمر العين، البرومي، العفرون، المدينة ، الموزاية و الحسينية. نتيجة التحاليل عن طريق المصل DAS-ELISA و التحاليل البيولوجية (نبات الخيار) نتائج ايجابية ، أظهرت أنها مصابة بهذا المرض مع نسبة الإصابة 45,54 % وأظهرت النتائج التجربة النقل الفيروس بواسطة النماتودات نتائج ايجابية بنسبة 36 %

الكلمات الدليلية : العنب ، مروحي العنب (*GFLV*) ، النماتودات، النقل، *Xiphinema* ، *X. italiae* ، *index* ، DAS-ELISA ، و التحاليل البيولوجية،

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à présenter mes vifs remerciements à madame Belkahla H. ma directrice de mémoire , pour sa patience, ses encouragements, ses conseils tout au long de cette étude.

Ma reconnaissance va également Madame le Professeur Guenaoui Y. de l'Université de Mostaganem à pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant la présidence de ce jury.

J'adresse tout mes remerciements à :

Madame Houmani N. Maître de Conférence à l'Université d'Agronomie de Blida d'avoir accepté de faire partie du jury.

Monsieur **Ben Saada A.** Charge de cours à l'Université d'Agronomie de Blida qui a bien voulu faire partie de mon jury.

Tout ce travail n'aurait pas été possible sans l'aide précieuse et permanente que m'a apportée mademoiselle Taiba C. (responsable de laboratoire de nématologie du CNCC) pour leur aide, encouragement , orientation, et ses conseils indispensables , sans oublier tous les autres personnels de l'équipe , en particulier M^{elle} **Wahiba** pour sa sympathie et ses conseils.

Monsieur Regad M. (Technicien à la subdivision de Chiffa) ainsi que M^{me} Djeghlef N. (Ingénieur à la subdivision de Chiffa) pour leurs aides .

Mademoiselle Hassiba (Responsable de laboratoire de nématologie de l'ITAF de Boufarik), et M^{elle} Youcefi **K.** (Ingénieur à l'annexe de l'ITAF de Ben Chicao) pour leurs aides, orientations et ses conseils précieux.

Monsieur Hammache M. (Chargé de cours à l'INA , El Harrach) pour leur aide et ses conseils précieux .

Monsieur Benkhadda F. (Responsable de l'unité de production des plants arboricoles et viticoles) pour leur aide.

Monsieur Taib (Ingénieur à TIMO de Mouzaia) pour leur aide.

Tous les personnels de la station expérimentale de notre institut.

Enfin, mes remerciements vont pour tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce travail avec générosité , sans oublier docteur **Dib M.**

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCEMENTS	
LISTE DES ILLUSTRATIONS FIGURES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	09
CHAPITRE 1 : ETUDE DE LA PLANTE- HOTE DU COURT NOUE : VIGNE	
	11
1.1 - Situation de la viticulture algérienne.	11
1. 2 - Répartition de vignoble en Algérie	12
1. 3 - Diversité biologique des portes- greffes	12
CHAPITRE 2 : ETUDE DU VIRUS DU COURT- NOUE DE LA VIGNE (<i>GFLV</i>)	14
2.1 - Taxonomie des virus de la vigne	14
2.2 - Virus du court- noué de la vigne (<i>GFLV</i>)	17
2.2. 1. Historique	17
2.2.2. Distribution géographique	17
2.2 3. Propriétés biochimiques et moléculaires	18
2.2. 4. Modifications sérologiques	20
2.2. 5. Symptomatologie	20
2.2. 6. Gamme hôte	23
2.2. 7. Transmission du virus	24
CHAPITRE 3 : ETUDE DES VECTEURS DU COURT- NOUE	27
3.1 - Systématique	27
3. 2 - Morphologie	28
3. 3 - Biologie	29
3. 4 - Principaux vecteurs du court- noué	29
CHAPITRE 4 : BIO – ET SERO- DETECTION DU <i>GFLV</i>	33
4.1 . Stations prospectées	33
4.2 . Détection biologique du <i>GFLV</i>	34
4.3. Sero- détection	36
CHAPITRE 5 : EFFICACITE DE TRANSMISSION DU <i>GFLV</i> PAR LES NEMATODES VECTEURS	47
5.1. Stations prospectées	47
5.2. Recherche des nématodes vecteurs du virus.	47
5.3- Transmission du <i>GFLV</i> par les nématodes vecteurs	61
CONCLUSION	70
REFERENCES	70
ANNEXES	79

LISTE DES ILLUSTRATIONS FIGURES ET TABLEAUX

Figure 2.1: Diagramme de génome bipartite du <i>GLV</i> de l'isolat F13 français.....	19
Figure 2.2: Symptômes de malformations des feuilles Fanleaf	21
Figure 2.3: Symptômes du virus sur feuilles Fanleaf	22
Figure 2.4: Symptômes microscopiques de cordons endocellulaires	23
Figure 2.5: Localisation des sites de rétention du virus chez les nématodes vecteurs	26
Figure 3.1: Classification des nématodes vecteurs du court- noué	28
Figure 3.2: Morphologie de l'espèce <i>Xiphinema index</i>	31
Figure 3.3 : Morphologie de l'espèce <i>Xiphinema italiae</i>	32
Figure 4.1 : Symptômes observés sur terrain	40
Figure 5.1 : Extraction des nématodes à partir du sol	52
Figure 5.2: Montage des <i>Xiphinema</i>	53
Figure 5.3: Effectif moyen des populations de nématodes infestant les parcelles de vignes de la station de Chiffa	56
Figure 5.4 : Effectifs moyens des populations de nématodes infestant les parcelles de vignes de la station de Médéa.....	57
Figure 5.5 : Effectifs moyens des populations de nématodes infestant la parcelle de vignes de la station Blida	57
Figure 5.6 : Dénombrement des espèces de <i>Xiphinema</i> dans les différentes stations Prospectées.....	59

Tableau 1.1 : Caractéristiques des principaux porte greffes	13
Tableau 2.1 : Classification de virus de la vigne	15
Tableau 2.2 : Familles, genres , espèces attaquent la vigne et d'autre familles des plantes	16
Tableau 2.3 : Principales plantes –hôtes du court- noué	24
Tableau 4.1 : Caractéristiques des stations prospectées	33
Tableau 4.2 : : Expression des plants de concombre à l'inoculation	35
Tableau 4.3 : Gammes de symptômes observés	41
Tableau 4.4 : Taux d'infection dans les stations prospectées	42
Tableau 5.1 : Espèces des nématodes identifiés	54
Tableau 5.2 : Expression relative de différentes variétés de vigne à l'inoculation par nématodes vecteurs du <i>GFLV</i>	63
Tableau 5.3 : Valeurs en D.O. _{405 nm} du <i>GFLV</i> obtenues en DAS- ELISA	64

LISTE DES ABREVIATIONS

A. Virus :

<i>AMV</i> : Alfalfa mosaic virus.	Virus de la mosaïque de la luzerne
<i>ArMV</i> : Arabis mosaic virus.	Virus de la mosaïque de l'arabette
<i>BBWV</i> : Broad bean wilt virus.	Virus du flétrissement de la fève
<i>BMV</i> : Bratislava mosaic virus	Virus de la mosaïque de bratislava
<i>CMV</i> : Cucumber mosaic virus	Virus de la mosaïque du concombre
<i>GALV</i> : Grapevine algerian latent virus	Virus algérien latent de la vigne
<i>GBLV</i> : Grapevine bulgarian latent virus	Virus e bulgare latent de la vigne
<i>GFLV</i> : Grapevine fan leaf virus	Virus de court-noué de la vigne
<i>GLRV</i> : Grapevine leafroll associated viruses	Virus associés de l'enroulement foliaire
<i>GPLV</i> : Grapevine line pattern virus	
<i>GVA</i> : Grapevine virus A	Virus A de la vigne
<i>PVX</i> : Potato X virus	Virus de la mosaïque X de la pomme de terre
<i>TBRV</i> : Tomato black ring virus	Virus des anneaux noire de la tomate
<i>Tom BSV</i> : Tomato busky stunt virus	Virus des rabougrissement buissonneux de la tomate
<i>TMV</i> : Tomato mosaic virus	Virus de la mosaïque du tabac
<i>TNV</i> : Tobacco necrosis virus	Virus de la nécrose du tabac
<i>TobRSV</i> : Tobacco ringspot virus	Virus des taches annulaires du tabac
<i>TomRSV</i> : Tomato ringspot virus	Virus des taches annulaires de la tomate
<i>TSWV</i> : Tomato spotted wilt virus	Virus des taches bronzées de la tomate
<i>RRSV</i> : Raspberry ring spot virus	Virus des taches annulaires du framboisier

B. Vecteurs :

<i>X. index</i> : <i>Xiphinema index</i>
<i>X. italiae</i> : <i>Xiphinema italiae</i>
<i>X. americanum</i> : <i>Xiphinema americanum</i>
<i>X. mediteranum</i> : <i>Xiphinema mediteranum</i>
<i>X. turcicum</i> : <i>Xiphinema turcicum</i>
<i>L. elangatus</i> : <i>Longidorus elangatus</i>

C. Plants :

<i>V. riparia</i> : <i>Vitis riparia</i>
<i>V. berlandieri</i> : <i>Vitis berlandieri</i>
<i>C. amaranticolor</i> : <i>Chenopodium amaranticolor</i>
<i>C. quinoa</i> : <i>Chenopodium quinoa</i>
<i>N. clevelandii</i> : <i>Nictiana clevelandii</i>
<i>P. hybride</i> : <i>Phaseolus hybride</i>

E. Divers :

ADN : Acides désoxyribonucléique
ARN : Acide ribonucléique
ARN sat : ARN satellite
ARNsb : ARN simple brin
CP : Protéine capsid
Cyst : Cysteine
DAS-ELISA : Double antibody sandwich ELISA
DO : Densité optique
ELISA : Enzyme linked immunosorbent assay.
Gly :Glycine
Glu : Acide glutamique
PCR : Polymerase chain reaction (réaction en chaîne de polymérisation)
Poly (A) : Poly -adenosine
ORF : Open reading frame (Cadre ouvert du lecture)
VPg : Virion protein genome linked (protéine liée au génome viral).
TAS-ELISA : Triple antibody sandwich-enzyme linked immuno sorbent Assay.

INTRODUCTION

La vigne est connue depuis longtemps, c'est une vieille culture consommée par l'homme, son origine se confond avec l'histoire des végétaux . La viticulture est répartie dans le monde entier (Europe, Afrique, Asie, et en Amérique).

En Algérie , elle occupe une place très importante ; non seulement sur le plan économique mais aussi sur le plan social. Elle a marqué une réduction du rendement et de superficie de manière graduelle et régulière depuis 1962 [1] , à cause des arrachages des vignes de cuves pour les substituer par des cultures stratégiques , l'âge de cépages, mauvais entretien , et surtout les maladies fongiques, bactériennes et virales . Les maladies à virus sont non négligeables , car elles sont en mesure de limiter le rendement et la longévité des vignobles qui sont parfois catastrophiques, et même lorsque l'infection est apparemment peu grave. Elle peut souvent diminuer la quantité et la qualité de la récolte .

Les viroses de la vigne tiennent leurs gravité de leur caractère chronique chez les plantes ayant été contaminées une première fois, le virus se généralise et se transmet à tous les descendants végétatifs (bouture, greffon , porte greffe). Elles sont répandues partout avec l'extension de cette culture à travers toutes les régions du monde à climat tempéré et méditerranéen et à la faveur des échanges commerciaux et scientifiques [2]

Certains d'eux elles se propagent par inoculation mécanique , voies végétatives (greffes , graines) , et d'autres se transmettent par vecteurs qui peuvent être des insectes , champignons, plantes parasites et par nématodes. Ces derniers sont les plus répandues dans le monde et causent des dégâts considérables [3].

Parmi les maladies transmises par nématodes , le court- noué est la virose la plus importante des maladies virales de la vigne; du fait de sa large répartition dans le monde , en agissant à la fois sur le rendement et sur la longévité des ceps ; son infection peut produire une destruction rapide des ceps atteints , ou un dépérissement lent s'étendant sur plusieurs années [4].

En Algérie, les travaux de recherche sur ce sujet sont restreints et peu d'études sur le terrain ont été conduites d'une manière rigoureuse , elles se sont limitées à des études de vérification de l'absence du *GFLV* dans les vignobles . Par conséquent , ce problème ne peut donc laisser indifférent les viticulteurs et toutes personnes qui s'intéressent au progrès de la viticulture.

L'objectif de cette recherche était :

- La bio- et la séro- détection du *GFLV* par la technique DAS-ELISA, des échantillons des feuilles et des rameaux provenant des différents prospections effectués dans les stations viticoles à savoir 2 parcelles dans la station de Chiffa , 2 parcelles de la station de Médea, une parcelle de la station expérimentale d'agronomie de Blida, une parcelle de la station d' El Affroun et une autre de la station Bouroumi, une parcelle dans la station Hamr El Ain et enfin une parcelle dans la station de Hoceinia.

- L'efficacité de la transmission du *GFLV* par *X index* et *X italiae* , des échantillons de sol provenant des différents prospections effectués dans les stations à savoir 2 parcelles dans la station de Chiffa , 2 parcelles de la station de Médea, une parcelle de la station expérimentale d'agronomie de Blida .

CHAPITRE 1

ETUDE DE LA PLANTE-HOTE VIGNE (*Vitis vinifera*)

L'homme cultive la vigne depuis fort longtemps (5000 ans J.C.) pour en consommer le raisin et les feuilles. Elle est née en orient, environ 7000 ans avant J.C. [5]. Elle possède un rôle économique et social déterminant. C'est une plante sarmenteuse, vivace, qui peut demeurer plusieurs dizaines d'années dans les conditions normales de culture. Elle doit assurer chaque année la formation de nouvelles feuilles ainsi que de nouveaux rameaux qui vont assurer le développement de la souche d'une part et la formation et le développement des inflorescences ainsi que la croissance des grappes des braies et des graines d'autre part . Elle se multiplie essentiellement par voie végétative [6 , 7]. La vigne comme toute culture est sujette aux attaques de différents agents phytopathogènes (champignons, bactéries, phytoplasmes, viroïdes et virus) qui causent d'importants dégâts en affectant non seulement la production, mais aussi la pérennité de la plante [8] .

1.1 - Situation de la viticulture algérienne:

L'évolution du vignoble pendant la période post-coloniale se confond avec un rétrécissement progressif de la surface plantée et une régression irréversible des rendements en raisin du cuve . En 1980, la superficie totale occupée par la vigne était de 180 000 hectares environ et en 1986, elle n'était plus que de 154 715 hectares. Toutefois les séries d'arrachage et de plantation ont permis de modifier quelques peu l'encépagement si bien que les variétés de table et de raisin sec ont fini par conquérir une superficie qu'elles n'ont jamais pu atteindre auparavant [9]. Les superficies de vigne de table étaient de 5000 hectares en 1962. Actuellement elles arrivent à couvrir 59.000 hectares de surface agricole utile [10]. Cependant, il y a lieu souligner que les rendements restent encore faibles d'une région viticole à une autre à l'intérieur du pays d'une part et par rapport aux pays producteurs méditerranéens, d'autre part. En Algérie le niveau de consommation est faible, n'excédant pas 5 kg par habitant; alors que la consommation moyenne enregistrée dans les pays méditerranéens, est de l'ordre de 15 kg par habitant [9].

1.2 - Répartition du vignoble en Algérie:

La carte géographique montre que l'Algérie présente deux caractéristiques essentielles qui sont , un décalage longitudinal vers le sud en partant de l'Est vers l'Ouest et des altitudes plus marquées au centre et à l'Est qu'à l'Ouest. On rencontre la culture de la vigne en Algérie dans différents niveaux géographiques permettant favorablement son adaptation. En effet à partir de la zone Maritime, la vigne se cultive dans les régions côtières, littorales et sublittorales. Les cépages précoces sont localisés le long de la bande côtière de l'Ouest et du centre du pays. Les cépages de table destinés à la consommation en frais sont placés au centre et à l'Est du pays. Ces cépages précoces sont le Muscat d'Alexandrie, le Dattier de Beyrouth, l'Italia, l'Alphonse la vallée et cardinal, alors que les cépages de table tardifs tel que Valensi, Dattier de Beyrouth, Ahmar Bou Amar et Guerbez sont plantés au niveau des pieds monts, des côteaux et des montagnes [9]. Plus de la moitié des superficies réservées au raisin de table (66%) est répartie sur six wilayas (Tlemcen, Médéa, Tipaza, Mostaganem, Boumerdes et Mascara). Le vignoble de cuve est localisé essentiellement à l'Ouest du pays avec une superficie de 20.000 ha, en 1995. Les quatre principales wilayas de l'Ouest sont Tlemcen, Ain Temouchent, Mostaganem et Sidi Belabbes. Elles détiennent ensemble près de 77 % de la superficie globale de cette espèce. Les espèces à raisin de séchage sont localisées seulement au niveau de cinq wilayas sur une superficie de 130 ha , Mascara vient en première position avec 38 % suivie de Chlef avec 37 % et Tlemcen avec 22 % . Actuellement, le vignoble de table se caractérise par un fort déséquilibre au niveau de la répartition qui est de 53 % au centre, 40 % à l'Ouest et 7 % à l'Est [11] .

1. 3- Diversité biologique des portes - greffes:

A la fin de XIX et au début du XX siècle, à la suite de l'invasion phylloxérique, puis des dégâts causés par le mildiou et d'autres maladies, des variétés issues d'hybridations interspécifiques étaient plantées pour la cuve [12]. En revanche, les variétés de porte- greffe sont presque exclusivement de croisement entre espèces de *Vitis* originaires des Etats-Unis. Il s'agit essentiellement de *V. riparia*, *V. rupestris*, *V. berlandieri*. Quelques porte-greffes cultivés en Europe sont des descendants du croisement entre *V. vinifera* et *V. berlandieri*. Le choix des porte-greffes est fonction de la nature et de la qualité du sol, ainsi que de la résistance à des parasites du sol. Il existe actuellement une multitude de porte-greffes francs ou hybrides (Tableau 1.1).

Tableau 1.1 : Caractéristiques des principaux porte-greffes [12]

Porte –greffe	RGM (+)	101-14 MGT	3309C	1103P	R110	140Rc	SO4	240A	5BB	161-49C	RSB-1	41B	fercal
Matériel génétique	<i>Vitis riparia</i>	<i>V.riparia</i> X <i>V. rupestris</i>		<i>V. rupestris</i> X <i>V. berlandieri</i>			<i>V.riparia</i> X <i>V. berlandieri</i>					<i>V. vinifera</i> X <i>V. berlandieri</i>	
Résistance aux nématodes (<i>Melodogyne</i>)	++	++	+	++	++	+	+++	++	+++	+	+	+	++
Résistance au calcaire	+	+	++	++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	++++	++++
Adaptation à la sécheresse	+	+	++	++++	++++	++++	+++	++	++	++	+++	+++	++
Adaptation à l'humidité	+++	+++	++	+++	+	+	+++	+	+++	+++	++	+	++
Premier développement	+++	+++	++	+++	++	++	+++	+	+++	+++	+++	+	++
Vigueur conférée	+	++	+++	++++	++++	+++++	+++	+	+++	++	++++	+++	+++
Précocité	++++	++++	+++	+	+	+	+	++	+	++	+	+	++

Légende :

- + : Faible
- ++ : Moyen
- +++ : Modéré
- ++++ : Fort
- +++++ : Très fort

CHAPITRE 2

ETUDE DE VIRUS DE LA VIGNE : COURT- NOUE (*GFLV*)

Les maladies à virus jouent un rôle important en viticulture, car elles sont en mesure de limiter le rendement et la longévité des vignobles dans des proportions qui sont parfois catastrophiques. Elles peuvent souvent diminuer suffisamment la qualité et la quantité de la récolte, peut aller jusqu'à 60 % [2]. Parmi les nombreuses viroses pouvant affecter la vigne, le court-noué est certainement le plus répandu et l'un des plus dommageables. Il est présent dans tous les vignobles du monde et est provoqué par le *GFLV* transmis au niveau des racines par des nématodes. Ce virus provoque la dégénérescence infectieuse, dans la plupart des vignobles européens, il peut être responsable du dépérissement dans les régions Nord en Amérique [13].

2.1- Taxonomie des virus de la vigne:

Les virus infectant la vigne appartiennent à deux groupes :

- Le première groupe est composé de virus appartenant à des genres se regroupant en cinq familles: *Bunyaviridae*, *Bromoviridae*, *Closteroviridae*, *Comoviridae* et *Tombusviridae*. Ces familles sont constituées d'un ARN simple brin, pour les quatre familles, de forme soit isométrique ou filamenteuse, et se caractérisent par un ARN simple brin non enveloppé. Les membres de la famille des *Bunyaviridae* ont des particules sous forme Parasphérique avec un ARN moncatenaire enveloppé [14]

- Le deuxième groupe se compose des virus appartenant à cinq genres non-assignés à des familles. Les particules virales sont soit isométriques, filamenteuses ou en bâtonnets, à génome bipartite constitué de deux ARN simples brin sans enveloppe (Tableau 2.1) [15].

Tableau 2.1 : Classification de virus de la vigne [14] .

Génome	Particule	Famille	Genre
ARNsb enveloppe	Parasphérique	<i>Bunyaviridae</i>	<i>Tospovirus</i>
ARNsb	Isométrique et monopatites	<i>Tombusviridae</i>	<i>Tombusvirus</i> , <i>Carmovirus</i> .
	Bipartites	<i>Comoviridae</i>	<i>Fabavirus</i> , <i>Nepovirus</i> , <i>Comovirus</i>
	Tripartites	<i>Bromoviridae</i>	<i>Alfavirus</i> , <i>Bromovirus</i> , <i>cucumvirus</i> , <i>Ilarvirus</i> .
	Filamenteuses	<i>Closteroviridae</i>	<i>Closterovirus</i> .
Genre non groupés en famille			
ARNsb	Isométriques		<i>Sobemovirus</i>
	Filamenteuses		<i>Potexvirus</i> , <i>Trichovirus</i> .
	Bâtonnets		<i>Tobavirus</i> ,
	Isométriques		<i>Furovirus</i> .

La plupart des virus de la vigne ne sont pas spécifiques à cette culture sauf: *GFLV*, *GRLV*, *GALV*, *GLPV*, *GVA* et *GLBV*. Ces virus appartiennent à des familles et des genres différents (Tableau 2.2).

Tableau 2.2 : Familles, genres, espèces attaquent la vigne et d'autres familles de plantes [16]

Familles	Genre	Espèce	
		Virus de la vigne	Virus appartenant à d'autres familles
<i>Bunyaviridae</i>	<i>Tospovirus</i>	+	Virus de tache bronzée de la tomate (<i>TSWV</i>)
<i>Bromoviridae</i>	<i>Alfavirus</i>	+	Virus de la mosaïque de luzerne (<i>AMV</i>)
	<i>Bromovirus</i>	+	Virus de la mosaïque de bratislava (<i>BMV</i>)
	<i>Cucumovirus</i>	+	Virus de la mosaïque de concombre (<i>CMV</i>)
	<i>Ilarvirus</i>	Grapevine line pattern virus (<i>GLPV</i>)	-
<i>Closteroviridae</i>	<i>Closterovirus</i>	Virus de l'enroulement de vigne (<i>GLRV</i>)	-
<i>Comoviridae</i>	<i>Comovirus</i>	-	-
	<i>Fabavirus</i>	+	Virus de la flétrissement de la fève (<i>BBWV</i>)
	<i>Nepovirus</i>	+	Virus de tache annulaires noires de tomate (<i>TBSV</i>)
		+	Virus de tache annulaire de la tomate (<i>TBRV</i>)
		+	Virus de la mosaïque de l'arabette (<i>ARMV</i>)
<i>Tombusviridae</i>	<i>Tombusvirus</i>	Court- noué (<i>GFLV</i>)	-
	<i>Carmovirus</i>	Virus latent algérien de la vigne (<i>GALV</i>)	-
		+	Virus de la nécrose du tabac (<i>TNV</i>)
Genre non groupés en famille			
	<i>Furovirus</i>	Virus labile en bâtonnet de la vigne (<i>GLBV</i>)	-
	<i>Sobemovirus</i>	+	Virus de la mosaïque de chénopode (<i>SMV</i>)
	<i>Potexvirus</i>	+	Virus X de la pomme de terre (<i>PVX</i>)
	<i>Tobamovirus</i>	+	Virus de la Mosaïque du tabac (<i>TMV</i>)
	<i>Trichovirus</i>	Virus A de vigne(<i>GVA</i>)	-

(+) Spécifique (-) Non spécifique

2.2- Virus du Court-noué de la vigne : *GFLV*

Le *GFLV* appartient au genre des *Nepovirus* qui sont les plus répandus dans le monde. Ils revêtent une importance économique considérable. Sur vigne, les *Nepovirus* provoquent différents types de symptômes: déformation et réduction de la taille des feuilles, panachure, irrégularité et raccourcissent des entre-nœuds. Ces virus provoquent des troubles qui se traduisent par une réduction de la longévité, le dépérissement progressif, et une perte de récolte pouvant aller jusqu'à 90% [13]. Les *Nepovirus* se transmettent par voie mécanique (greffage, inoculation mécanique), ils ont été transmis expérimentalement à 30 espèces différentes appartenant à des familles botaniques, comme (les Chénopodes, les Amaranthacées et *Cucurbitaceae*) [8]. En effet, les nématodes servent de vecteurs et transmettent le virus d'un pied à un autre. Deux espèces du genre *Xiphinema* sont connues comme vectrices du virus du court-noué *X. index* Thorne et Allen (1950) et *X. italiae* Meyl [13].

2.2.1- Historique:

Le court-noué est la maladie à virus de la vigne la plus connue et sans aucun doute celle dont on admet l'existence depuis fort longtemps. Hewit [17] pense que le virus du court-noué a une origine dans l'ancienne Perse. Dès le 19^{ème} siècle, le court-noué était décrit sous le nom de «*Ronct*» et ainsi que sous plusieurs noms:

Grapevine Gable virus

Grapevine roncet virus [18].

Grapevine court-noué virus

Grapevine arricciamiento virus [19].

Grapevine degenerazione infettiva virus [20].

Grapevine urticado virus [21].

2.2.2- Distribution géographique:

Le court-noué est une maladie à répartition mondiale [2]. En dehors des pays d'Europe du bassin méditerranéen, le court-noué a été signalé en Afghanistan, Algérie, Malte, Tunisie et en Turquie [13].

2.2.3- Propriétés biochimiques et moléculaires:

Le *GFLV* est un parasite intracellulaire, la structure des particules est isométrique de 30 nm diamètre [16]. L'acide nucléique est un ARN simple brin, linéaire, en sens positif. Le génome viral est bipartite. Il est constitué de deux molécules fonctionnelles d'ARN monocaténaire positif, un ARN-1 long et un ARN-2 court. Le poids moléculaire de l'ARN-1 et ARN-2 sont de 2.4×10^6 et 1.4×10^6 respectivement [22, 23]. Il a été démontré que les caractères des *Nepovirus* sont déterminés par l'ARN-1 et d'autres par l'ARN-2 [24]. Il a été montré la présence d'une protéine liée au génome [Virion protein genome linked (VPg)] composée de 24 nucléotides de poids moléculaire de 2.9 kDa liée de façon covalente à l'extrémité 5' terminal de l'ARN-1 et l'ARN-2 [23], et une queue polyadénosine [poly (A)] liée à l'extrémité 3' terminal (Fig. 2.1) [25, 26]. Le génome de l'isolat français F13 a été complètement séquencé [25, 26], ainsi qu'une partie de l'ARN-2 de l'isolat australien et californien [27, 28].

ARN-1 : Cet ARN possède une longueur de 7342 nucléotides et contient un seul cadre ouvert de lecture [Open reading frame (ORF)] de 6855 nucléotides allant de 243 à 7097 nucléotides. La polyprotéine codée par cet ORF contient 2284 acides aminés d'un poids moléculaire de 253000 Da. La structure primaire de la polyprotéine, de la région 3' à 5' terminal, se compose une protéine de type ARN dépendant ARN polymérase (1E) ayant un poids moléculaire de 92000 Da [29], suivie d'une protéase cystéine (1D) de 25000 Da [29, 30]. Les activités différentielles protéolytiques des précurseurs et des formes matures de la région 1D protéinase aux sites de clivages Arg /Gly, Cyst /Ala et Gly/ Glu ont été identifiés [31]. La protéine VPg (1C) avec un poids moléculaire de 29000 Da [30] est suivie d'une protéine 1B de 88000 Da contenant une chaîne de nucléotides attachée et une protéinase cofactoriel [26]. 1A est une protéine de 46000 Da située à la partie N- terminal [31].

ARN-2 : La longueur totale est de 3774 nucléotides, codant un seul produit d'un poids moléculaire 131000 Da (3330 nucléotides). Cette polyprotéine possède trois produits finaux [33]. A partir de C- vers le N-terminal, la structure primaire de cette polyprotéine inclue: Une protéine capsid (CP) 2C produite dans le site de clivage protéolytique Alg/ Gly entre le nucléotide 680 et 681, et contient 504 acides aminés d'un poids moléculaire de 56019) [25].

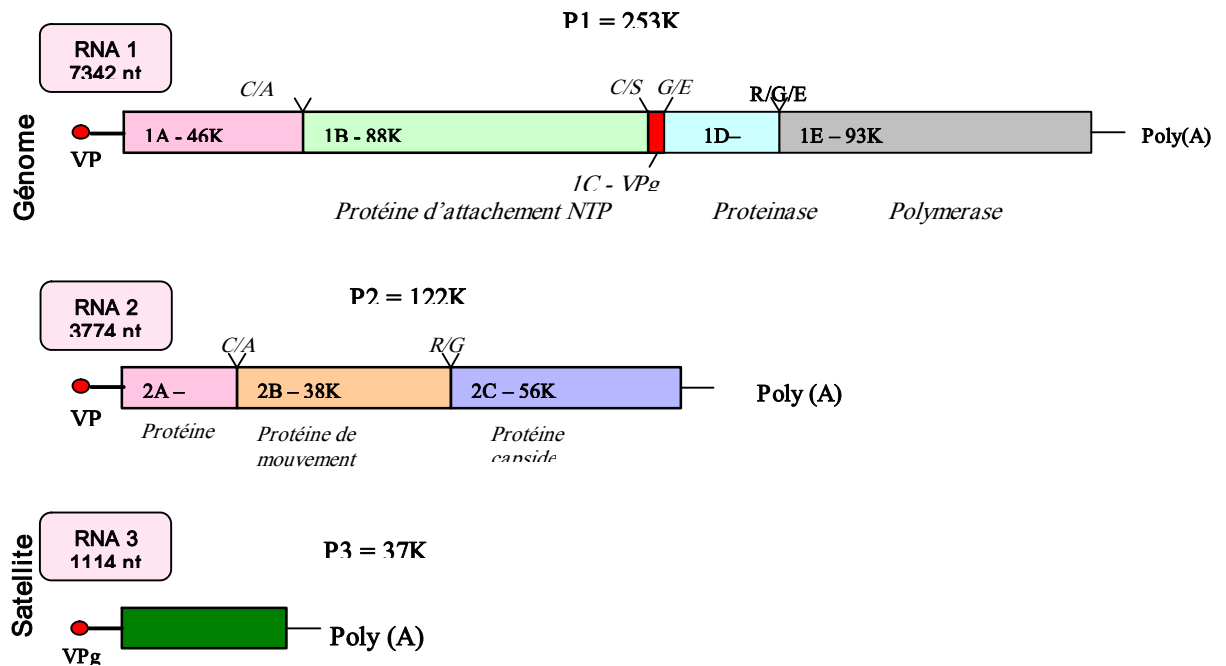


Figure 2.1 : Diagramme de génome bipartite de *GFLV* de l'isolat F 13 français [32].

En amont de la protéine capsid (CP), se situe la protéine 2B d'un poids moléculaire de 38000, ayant une formation nommée P38, correspondant à une protéine de mouvement qui s'accumule à une forte concentration dans le cytosol des cellules infectées [33], et se retrouve aussi en association avec les parois des cellules [34]. Les neuf acides aminés de la partie C-terminal de cette protéine sont responsables de la diffusion systémique du virus [35]. Le troisième produit de la maturation est la protéine 2A à la partie N-terminal d'un poids moléculaire de 28000 Da est impliquée dans la réplication de ARN-2 [36].

L'expression biologique du *GFLV* n'est possible que lorsque l'ARN-1 et ARN-2 sont inoculés ensemble à des *Chenopodes quinoa*. Dans ce cas ils sont capables de se répliquer, de se généraliser dans les plantes et extériorisent des symptômes. Cependant, l'ARN-1 ayant pu se répliquer dans le protoplasme, mais s'il est inoculé seul à des plantes hôtes, il ne sera pas détecté dans celles-ci [37]. Pour l'expression de gènes, le *GFLV* utilise la stratégie de «polyprotéine» pour la traduction des 2 ARNs. La polyprotéine synthétisée sera hydrolysée par une protéinase présente dans l'ARN-1 en protéines [30].

Les satellites : L'isolat français F13 du *GFLV* comporte un ARN satellite linéaire (satRNA) [23]. Le satRNA est constitué de 1114 nucléotides codant un grand polypeptide hydrophile d'un poids moléculaire de 37275 Da. Il présente une structure terminale à ses extrémités 5 ' et 3 ' identique à celle des 2 ARNs génomiques (même taille de VPg et de poly (A) (Fig. 5). La séquence codée est précédée de 14 nucléotides contenant la séquence consensus UG/ UGAAAAU /AU /AU /A identique à celle décrite dans les ARNs du génome du virus assistant et dans plusieurs autres *Nepovirus*. Cette séquence est suivie de la région 3 ' terminal non codante constituée de 74 nucléotides. Cette séquence ne présente aucune homologie avec les ARNs génomiques de cette espèce [38]. Le satRNA est incapable de se répliquer. Il est totalement dépendant des 2 RNAs du virus assistant pour sa répllication et de son encapsidation [23, 39]. Sa présence modère l'expression des symptômes dans *C. quinoa* [40]. Le satRNA a été détecté par hybridation moléculaire dans 5 sur 34 virus isolés dans différents emplacements géographiques [41].

2.2.4- Modifications sérologiques:

Le virus est un immunogène modéré avec un anticorps polyclonal donnant un titre jusqu'à 1/1024. Quinze anticorps monoclonaux ont été produits [42]. Les déchets corticaux de cannes mûres rassemblées au printemps sont de bonnes sources de l'antigène pour les essais sérologiques [43, 44, 45]. Ils peuvent être utilisés après conservation au froid, sans risque de perte apparente du virus pour plusieurs mois [46, 44]. La détection du virus dans des extraits de vigne, se fait régulièrement par le test DAS-ELISA qui utilise un anticorps polyclonal [47, 44], ou TAS-ELISA à l'aide d'un anticorps monoclonal [43]. Par ailleurs le test ELISA a été utilisé pour détecter le virus dans les extraits des individus de *X index* [48, 49].

2.2.5- Symptomatologie:

2.2.5.1 -Symptômes macroscopiques:

En fait, le terme de court-noué: Fanleaf est utilisé pour désigner la feuille en éventail. Cette désignation se compose de trois groupes de symptômes

Groupe 1 : Malformations : Le virus provoque une grande gamme de symptômes sur la vigne : raccourcissement des entre-nœuds; rameaux en zigzag présentant une fasciation et des bifurcations anormales; asymétrie des limbes foliaires donnant à la feuille une allure d'éventail; de déformation et la décoloration des feuilles; nervation irrégulière (Fig. 2.2 et 2.3) [50, 13].

Groupe 2 : Panachure ordinaire : Cette appellation désigne un aspect jaune d'or du limbe qui apparaît à la fin du printemps. Sa répartition sur les feuilles est indépendante du réseau nerveux. Elles se couvrent de tache de couleur jaune à jaune blanchâtre et de forme très variable, parfois petites et dispersées sur le limbe (Fig. 2.3). Sur certains céps, les feuilles sont vertes, puis jaunissent progressivement au fur et à mesure de leur croissance. Seules, les parties ombragées restent vertes, ce qui donne parfois un aspect particulier de relief au limbe [51]. Les symptômes sont surtout visibles au printemps et s'estompent durant l'été.

Groupe 3 : une autre forme de symptôme qui est rattaché à la panachure est celle de la **panachure réticulée** "*Vein banding*". Elle se distingue de la panachure ordinaire par le fait que le jaunissement se produit le long des nervures principales et secondaires, mais n'affecte pas les sarments et les grappes. Les symptômes sont plus nets en été et en automne (Fig. 2.3) [53, 54].

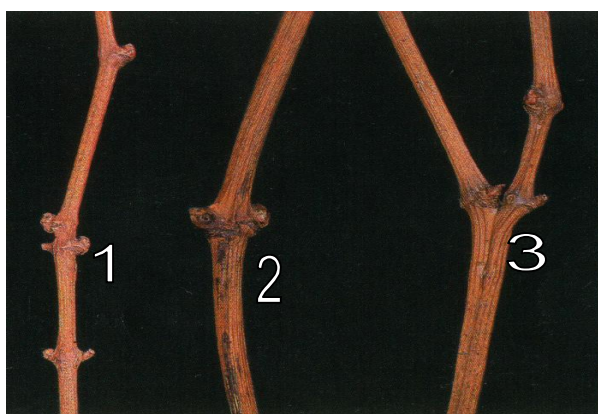


Figure 2.2 : Symptômes de malformations des rameaux fanleaf [52]
 1- Raccourcissement des entre- nœuds 2- Double nœuds
 3 - Fasciations du rameau

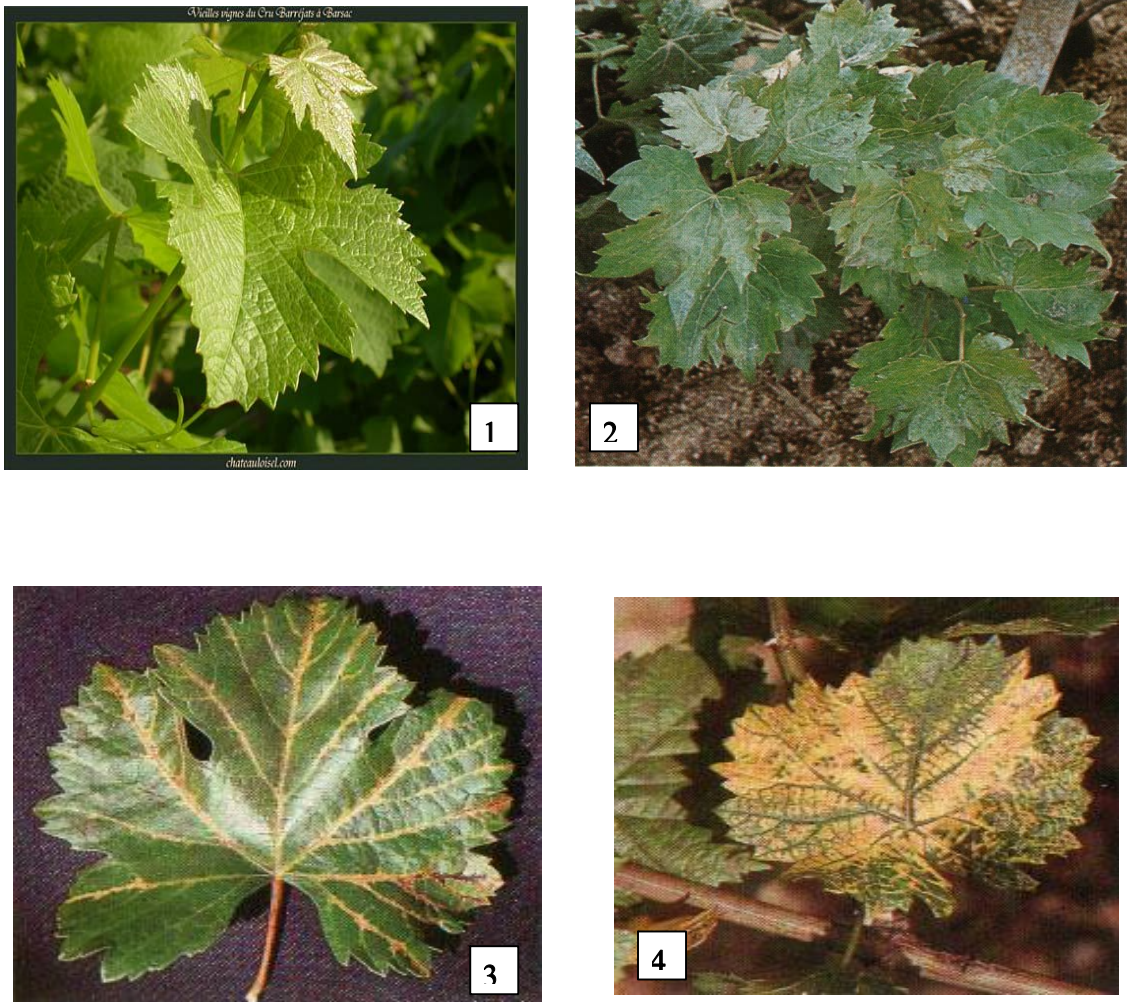


Figure 2.3 : Symptômes du virus sur les feuilles [52].

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1 : aucun symptomes | 2 : Malformation des feuilles |
| 3 : Panachure ordinaire | 4 : Panachure réticulaire |

2.2. 5. 2- Symptômes microscopiques :

Les cordons endocellulaires sont les caractéristiques les plus symptomatiques de la vigne infectée par le court-noué [3]. Ces cordons sont constitués d'un noyau pectique entouré par une gaine de cellulose incrustée avec la lignine, la subérine ou la cutine en rapport avec le type de tissu infecté. Dans les pousses lignifiées, ces structures sont facilement visibles en particulier dans les entres-nœuds de la partie basale (Fig. 2.4) [55].



Figure 2.4 : Symptômes microscopique du cordon endocellulaire. Bar 4 μ [52].

Le virus a été observé dans les cellules des racines de vigne où les particules sont rares et alignées dans des paquets courts [56, 57]. Dans les tissus des hôtes herbacées, expérimentalement infectés (*C. quinoa*, *C. amaranticolor*, *N. clevelandii*, *P. hybrida*), les particules virales sont beaucoup plus abondantes, et souvent rangées dans des lignes longues et parallèles, ressemblant à des tubules superposés, bien que les particules ne paraissent pas être enveloppées [56, 58, 59, 60]. Les vrais tubules membraneux qui contiennent les particules en lignes sont connectés aux plasmodesmes, où ils sont présents dans les sorties des parois cellulaires. Les particules virales peuvent être présentes, ou à l'intérieur des inclusions. Le virus se réplique dans les corps des inclusions cytoplasmiques dont les vésicules membraneuses sont les sites de réplication des ARNs et de la synthèse de la polyprotéine virale [61]. Certaines vésicules membraneuses contiennent des fibrilles fines, les lignes de particules vides sont parfois localisées dans le nucléoplasme [58, 60].

2.2. 6- Gamme d'hôte:

Le *GFLV* a une large gamme de plantes hôtes. Ce virus se transmet facilement par la sève, mais non par le pépins. Le *GFLV* a été identifié sur plusieurs espèces de *Vitis* telles que *Vitis vinifera* et *Vitis ruspestris* [62]. Des travaux récents ont montré que ce virus peut attaquer 28 familles de dicotylédones [63] (Tableau 2.3).

Tableau 2.3 : Principales plantes- hôtes du court- noué [3].

Famille	Espèce	Symptômes
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Gomphrena globosa</i>	L.L.N.
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Chenopodium amaranticolor</i> <i>C. quinoa</i>	Infection est systémique
<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Cucumis sativus</i>	Jaunissement Eclaircissement de nervures
<i>Leguminosae</i> – <i>papilionoideae</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	L.L. ; M.o.
<i>Solanaceae</i>	<i>Nicotiana benthamiana</i> ; <i>N. clevelandii</i>	- LLC, Infection systémique

Légende : L.L.N : lésions locales nécrotiques ; M.o: Mosaïque ; L.LC: Lésions locales chlorotiques.

2.2.7- Transmission du virus :

La première étude a été réalisée par Ravez (1960). Cet auteur a décrit la transmission du *GFLV* par la greffe. Par la suite, d'autres chercheurs ont réalisé la transmission, il s'agit de Pétri et Pantenalli, qui ont étudié la maladie sous son nom italien «d'*arriciamento*». Ils l'ont attribuée à un virus et ils ont montré que la maladie se transmettait par le sol. En fait, Hewit [64], ont élucidé la question en démontrant que le virus de *GFLV* était transmis par un nématode du sol (*X index*) [53]. Les nématodes servent de vecteurs et transmettent le virus d'un pied à un autre. Les vecteurs de viroses végétales actuellement connus appartiennent à 3 genres : *Longidorus*, *Xiphinema* et *Trichodorus*. Les deux premiers genres transmettent les *Nepovirus*, alors que les *Trichodorus* transmettent le virus *Tobravirus* [65].

2.2.7.1- Persistance des *Nepovirus*:

En général, les virus transmis par *Xiphinema* sont retenus pendant une longue période par rapport à ceux transmis par *Longidorus*. Malgré que *Longidorus* vit plusieurs mois et peut survivre un an, mais ne retient le virus que pour une période courte. Par exemple, le virus de mosaïque de l'arabette (*ArMV*) persiste pendant 122 jours dans le corps *X diversicaudatum* sur la culture de framboise. Chez *L. elangatus*, le virus des taches annulaires du framboisier (*RRSV*) persiste 2 semaines en cas de plant immun. Les

mécanisme de survie des *Nepovirus* est complexe vu que celui-ci se fonde sur une série de facteurs interagissant constitués par : les vecteurs ou ,même en absence de la culture l'inoculum persiste longtemps [66].

2.2.7.2 - Mode de transmission du *GFLV*

Les nématodes du genre *Xiphinema* retiennent les particules virales pendant une longue période [65]. Le virus est acquis par le nématode - vecteur aussi bien au stade larvaire qu'au stade adulte au cours des activités trophiques sur les racines des vignes infectées. De même les particules virales sont transmises de vignes infectées à des vignes saines par le même procédé [50]. L'acquisition du virus est 5-15 minutes [67, 68] et persiste pendant 8 à 11 mois dans le nématode en l'absence de la plante hôte et pendant plus de trois mois si le nématode se nourrit sur des hôtes immuns au virus [69,70].

2.2.7.3 - Site du rétention du virus:

Le site de rétention des particules virales est le revêtement antérieure de l'odontophore à la fin du bulbe basal, mais aucune association avec l'odontostylet n'a été relevée [24, 71]. Les particules virales s'associent spécifiquement avec de la cuticulaire l'odontophore, où une concentration maximale des particules virales occupent ce site [72]. Les particules virales ne sont pas transmises par les œufs, les larves peuvent les transmettre de même que les adultes, mais elles perdent leur infectiosité à chaque mue [73]. Dans *Xiphinema*, le revêtement intérieur de l'oesophage subit des changements dans sa structure et les particules virales passent dans l'intestin [65]. Aucune répllication du virus n'a été observée bien que certains virus peuvent également y résider de nombreuses semaines [74].

2.2. 7.4 - Mécanisme d'association avec le vecteur :

Il existe une reconnaissance spécifique entre les particules virales et le nématode-vecteur, ceci implique une interaction vecteur virus et interaction plante-hôte vecteur virus. Chez les *Xiphinema*, nématode vecteur du court-noué, un dépôt des couches d'hydrates de carbone enveloppe la surface de l'odontophore et l'oesophage [65]. Des travaux ont montré que les particules virales sont retenues par *Xiphinema*. Cette rétention est due à une interaction entre les hydrates de carbone de la membrane du canal alimentaire du nématode et la lecitine, constituant de la capsid du *GFLV* [24].

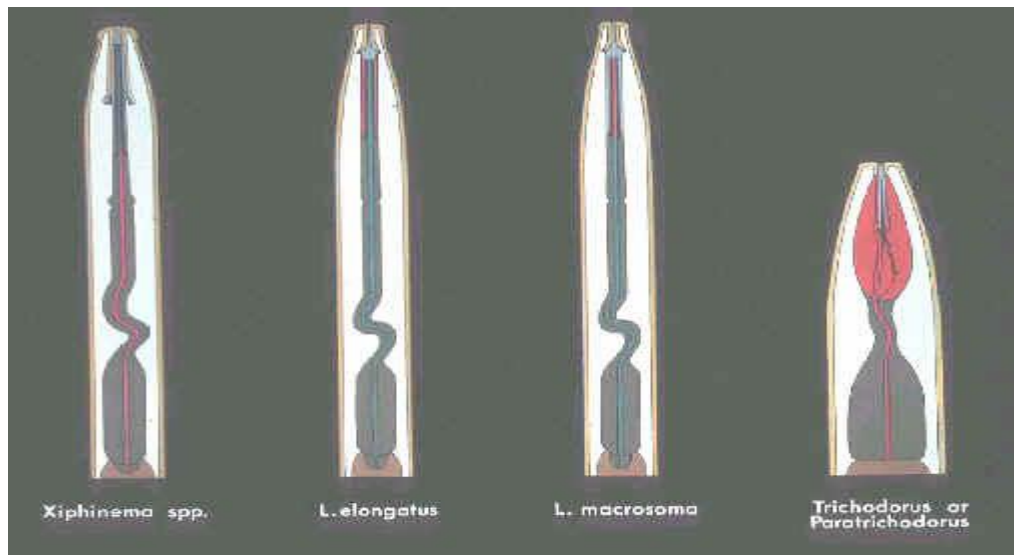


Figure 2.5 : Localisation des sites de rétention du virus chez les nématodes vecteurs (*Xiphinema*) [65].

CHAPITRE 3

ETUDE DU VECTEUR

On sait depuis longtemps que beaucoup de virus des plantes sont propagés dans la nature par des arthropodes, principalement par des insectes piqueurs suceurs au cours de leurs déplacements alimentaires d'une plante à l'autre. Le rôle des nématodes a été mis en évidence seulement au cours de travaux réalisés de 1956 à 1958 aux Etats- Unis, que Hewitt, Raski et Goheen ont établi pour la première fois que le nématode *Xiphinema index* (Thorne et Allen) était le vecteur souterrain de la maladie du « *Fanleaf*», produite par un des virus de la dégénérescence infectieuse de la vigne.

3.1- Systématique:

L'identification et la classification des nématodes est délicate: vu leur simplicité anatomique et l'existence de peu d'ornementation ou de structure particulière susceptible de faciliter leur identification. La morpho-taxonomie reste largement utilisée par les nématologues , en conséquence, il a été identifié presque 1/4 de familles et 1/3 de genres décrit par Maggenti (1983). Les nématodes vecteurs des virus sont classés dans l'ordre des *Dorylaimidae*, les caractères distinctifs sont généralement représentés par un développement de labia, la région céphalique, une région amphidiale de la tête, stoma armé avec une dent murale, et œsophage mince à la portion antérieure et élongation de la partie postérieure contenant des glandes sécrétrices [24, 75]. Les vecteurs de *Nepovirus* (*Xiphinema*, *Longidorus*, *Paralongidorus*) sont classés dans le Sub-ordre *Dorylaiminae*, qui se distingue par un creux dans la partie de la tête qui se compose d'une partie antérieure (odontostyle) et une partie postérieure (odontophage), un œsophage qui est étroitement lié à la partie antérieure et développe une grande musculature à la partie postérieure [24].

Sur la base de la description morphologique de cette famille, il a été reconnu 93 espèces de *Longidorus*, 205 espèces de *Xiphinema* et 49 espèces de *Paralongidorus* [76]. Seulement onze espèces de *Xiphinema* transmettent 13 *Nepovirus* et 11 espèces de *Longidorus* transmettent 10 *Nepovirus* (Fig.3.1) [65]. Actuellement, d'autres caractères nouveaux plus précis ont été mis en évidence par les techniques de biologie moléculaire.

Celles-ci se basent sur l'amplification des séquences d'ADN. Parmi les méthodes d'étude utilisées pour la taxonomie des nématodes, la plus utilisée est la technique de réaction en chaîne de polymérase (P.C.R.) Cette méthode permet d'obtenir de l'ADN à partir d'un seul individu (mâle, femelle ou larve). La PCR a été utilisée pour l'identification des groupes de nématodes phytophages économiquement importants comme *Xiphinema spp* [77], *Meloidogyne* [78] et *Globodera* [79].

Figure 3.1 : Classification des nématodes vecteurs du virus court-noué [80, 81].

Ordre : *Dorylaimida*
 Sub ordre : *Dorylaiminae*
 Super famille : *Dorylaimoidae*
 Famille : *Longidoridae*
 Sub Famille : *Xiphinematinae*
 Genre : *Xiphinema*
 Espèce : *Xiphinema index*,
Xiphinema italiae

3.2-Morphologie :

Les nématodes appartenant au genre *Xiphinema* sont vermiformes à tous les stades de leur développement et il n'existe pas de différences majeures entre les adultes et chaque stade larvaire [75]. Les espèces de ce genre se caractérisent par un corps typiquement allongé, mince et sans anneaux, atteignant une longueur variant de 3 à 5 mm, à l'état de fixation d'habitus prend la forme d'un « C » [24]. Le stylet est long et mince avec un « anneau de guidage » situé au milieu ou après la base du stylet [75], tandis qu'on note l'absence de bulbe média [82]. Selon les espèces les femelles présentent un ou deux ovaires, la vulve se situe à 30 % de la longueur du corps. La queue est plus ou moins arrondie [24]. Les larves possèdent un odontostyle supplémentaire logé plus postérieurement dans la paroi de l'œsophage, qui vient remplacer le premier rejet lors de la mue. La longueur de l'odontostyle varie selon le stade du nématode et selon l'espèce à laquelle il appartient [73]. Le dimorphisme sexuel est réduit à quelques caractères somatiques primaires ou accessoires, ainsi l'habitus du mâle est légèrement différent de celui de la femelle, mais ces variations liées au sexe restent très limitées [75].

3.3 - Biologie:

Les espèces de *Xiphinema* sont des nématodes migrants vivant en ectophyte sur les racines. Ils puisent leur nourriture dans les racines vivantes, le long des radicelles et surtout de leur extrémités [8]. Les déplacements des nématodes dans le sol sont plus limités dans le sens horizontal , entre 30 à 50 cm / an que dans le sens verticale jusqu'à 2 m / an dans le sol sableux. Le développement des *Xiphinema* est en moyenne très lent dans les conditions naturelles [83], il passe par cinq stades larvaires avant d'aboutir au stade adulte ; ces stades coexistent tout au long de l'année. Coiro et Agostinelli [84], ont montré que les nématodes de ce genre complètent leur cycle de développement en 10 semaines . Les œufs éclosent après deux à trois semaines , tous les œufs s'éclosent à de larves de deuxième stade (L2) après deux à trois semaines ; ces dernières se développent à des larves de troisième stade (L3) après deux semaines, ou obtient des larves de quatrième stades (L4) après trois à quatre semaines. Après la dernière mue , les larves de quatrième stades (L4) se transforment en mâles ou en femelles adultes après quatre à cinq semaines . Les femelles pondueuses pondent les œufs après deux à trois semaines.

Les espèces de *Xiphinema* se reproduisent par le phénomène de parthénogenèse, mais ce processus est très lent car ces nématodes s'éloignent peu des racines. Les mâles sont rares et les femelles pondent les œufs la plupart du temps en avril -mai [70]. Le nombre d'individus d'une population varie en fonction du climat, température et du taux d'humidité , mais surtout en fonction de la présence de la plante nourricière . On sait que *Xiphinema* se maintient sur les racines profondes d'une vigne arrachée. Ce nombre peut aller d'une à plusieurs dizaines d'individus par kilogramme de terre et les résultats d'analyses ont démontré bien que les populations ne sont jamais homogènes mais se répartissent sous forme de foyers groupés autour des racines nourricières [73].

3.4- Principaux vecteurs du court- noué :

3. 4-1. *Xiphinema index* Thorne et allen (1950)

a) Morphologie : (Fig. 3.2)

Chez *X. index*, les femelles mesurent 2,9 à 3,3 mm, les mâles sont rares. La région céphalique est non individualisée et l'appendice caudal en petit cône est largement soudé à la queue [75, 85]. L'utérus est sans organe Z. L'œuf peut atteindre 250 µm [75].

b) Cycle de vie :

La durée du cycle de vie de *X. index* varie d'un pays à un autre. Il est de 27 jours en Californie à une température 24°C. En Italie, la population de *X. index* Thorne et Allen (1950) complète son cycle de vie de 2 à 4 mois en se maintenant sur le figuier en serre à température 20 à 22°C [86].

c) Distribution géographique :

Cette espèce est la plus connue : Europe (Allemagne, Espagne, France , Grèce, Italie, Portugal) [85], en Amérique (Argentine, Chili, Etats-Unis) [87], en Afrique de sud, Algérie [88]. En Asie (Hongrie, Iran, Iraq, Turquie) et Australie [85].

d) Gamme d'hôte :

Le *X. index* peut s'attaquer au figuier, qu'il utilise comme plante d'élevage réfractaire au virus du court- noué, rosier, mûrier, pommier, agrumes , pistachier [70].

3.4-2. *Xiphinema italiae* Meyl:

a) Morphologie : (Fig.3.3)

La taille du corps est de 3,3 à 3,5 mm. La région céphalique est nettement structurée . Le corps est mince et élancé. La queue est conique et allongée. L'organe Z dans utérus est absent . Les mâles sont rares. La longueur de l'odontostyle est de 98 µm [24, 75, 89].

b) Cycle de vie :

La durée du cycle de vie de *X. italiae* sur vigne est de 6 mois à température 28°C sur vigne, et 12 mois à température de 24°C [90].

c) Distribution géographique :

Cette espèce a été identifiée pour la première fois en Italie [91] après, elle a été découverte dans tout le bassin méditerranéen : Grèce, France, Tunisie, Algérie, Egypte [90, 92 , 93].

d) Gamme d'hôte :

Cette espèce a été retrouvée sur plusieurs espèces végétales : agrumes, prunier, olivier, pêcher, eucalyptus et la vigne [90].

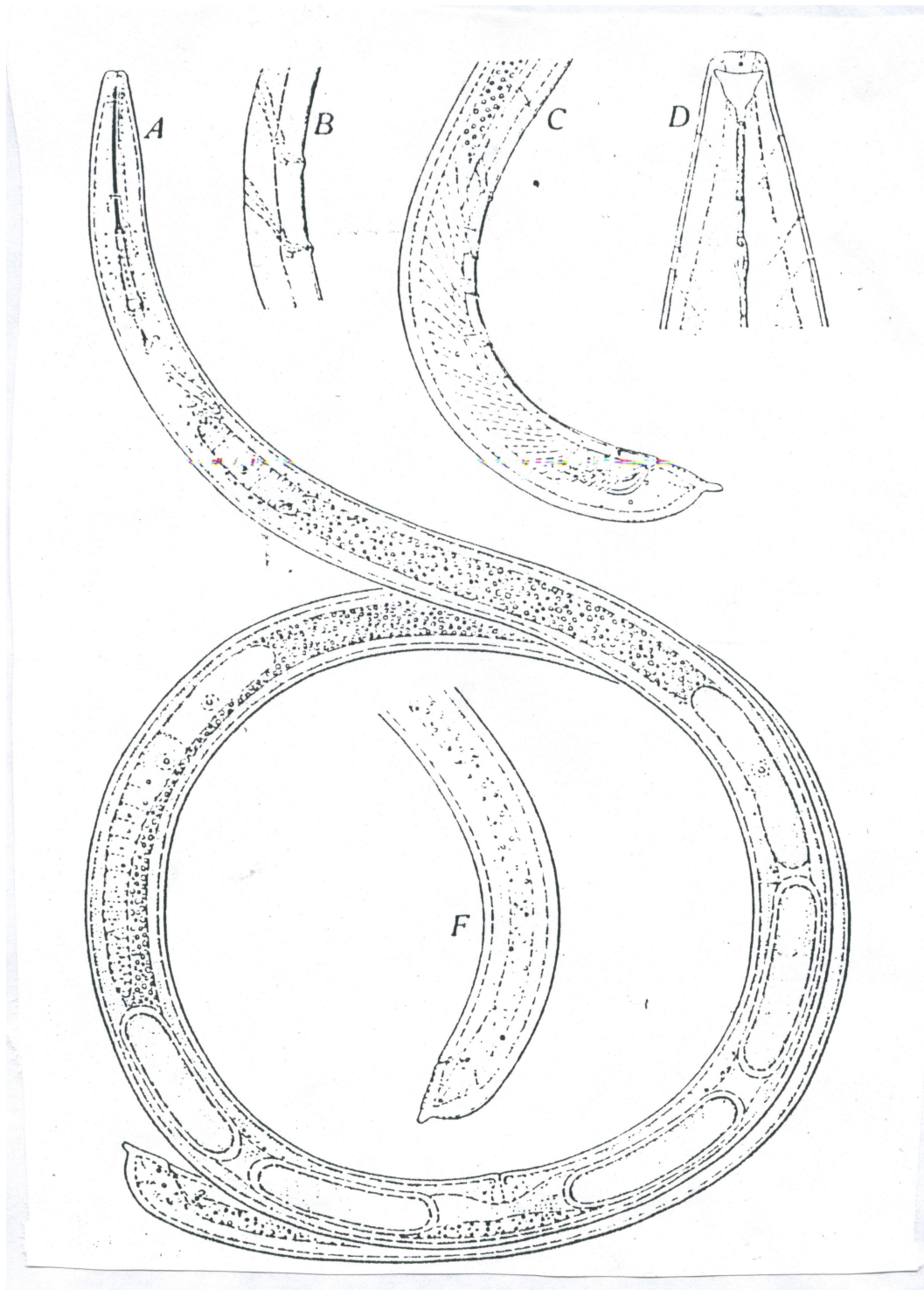


Figure 3.2 : Morphologie de l'espèce *Xiphinema index*

A : Femelle X170 ; C : Région postérieure du mâle ; D : Forme de la tête de la femelle ; F : Région postérieure de la femelle [85].

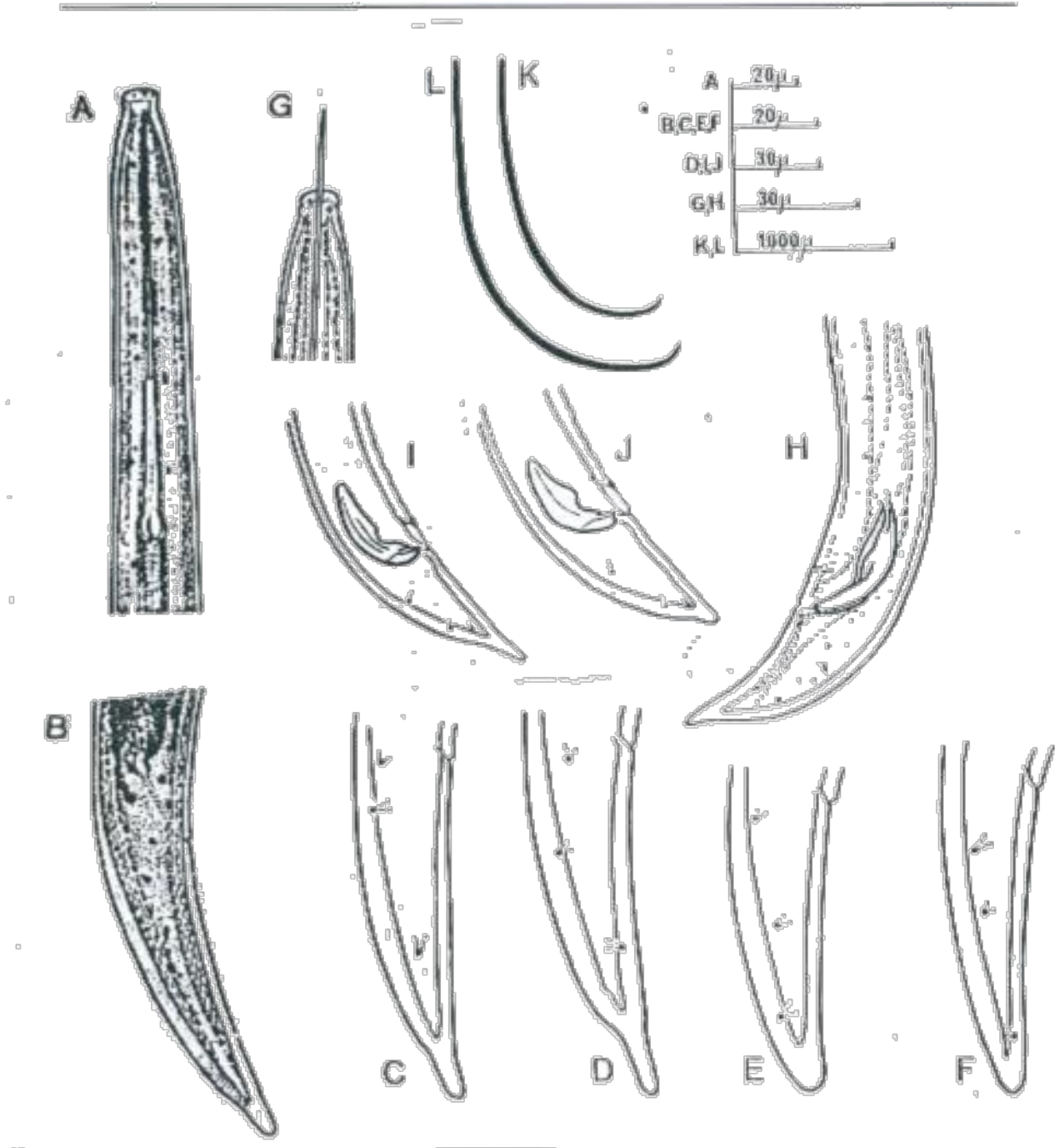


Figure 3.3 : Morphologie de l'espèce *Xiphinema italiae*

A : Région antérieure de la femelle ; B : Gonade postérieure de la femelle ;
 C-F : Forme de la queue de la femelle ; G : Région céphalique ; H : Région
 postérieure du mâle ; I-J : Taille queue du mâle [90].

CHAPITRE 4

BIO- ET SERO –DETECTION

4.1- Stations prospectées:

Le nombre de stations prospectées était de 8 : Chiffa, , Médéa, Blida , Mouzaia, El Affroun, Bourroumi, Hamr El Ain, Hoceinia. Les prélèvements d' échantillons ont été effectués sur 2 parcelles différentes dans la station de Chiffa, Mouzaia, Médéa, et sur seulement 1 parcelle dans la station d'El Affroun et Bourroumi , Hamr El Ain, Hoceinia et la station expérimentale d'agronomie de Blida (Tableau 4.1).

Tableau 4.1 : Caractéristiques des stations prospectées

N°	Stations	Parcelle	Superficie	âge	Précédant culturel
1	E.A.C. N°7 Ouest de Chiffa les 7 Chouhada	P1	- 0.05 ha	25 ans	Vigne
		P2	porte greffe - 13.35 ha	25 ans	Vigne
2	Station de vigne de ITAFV (Medea)	P1	- 1.96 ha	20 ans	Vigne
		P2	- 1.35 ha	12 ans	Jachère
3	Station expérimentale I.A. Blida	P1	- 0.35 ha	10 ans	Céréales
4	E.A.C. N°5 Rebbah nord de Mouzaia	P1	10 ha	10 ans	Céréales
	E.A.C . N°4 Sidi Ben Aissa Est de Mouzaia	P2	0.50 ha	07 ans	Céréales
5	E.A.C. Prog. Deve. Ouest Mitidja El Affroun	P1	06 ha	08 ans	Céréales
6	E.A.U. N°03 privé (Bourroumi)	P1	2.67 ha	08 ans	Céréales
7	E.A.U. privé sud Hamr El Ain	P1	10 ha	17 ans	Vigne
8	Parcelle privée oued Ziboudj Hoceinia	P1	1.50 ha	27 ans	Vigne

4.2 . Détection biologique:

Il s'agit de l'inoculation mécanique à des plantes testes herbacées. Le principe impliqué dans cette transmission consiste à l'introduction d'une sève infectieuse à l'intérieur des cellules de la plante test à travers des micro blessures .

4.2.1. Source de virus:

Le matériel végétal utilisé dans ce test provient de trois stations différentes : Chiffa, station de Ben chicao située à Médéa et la station expérimentale d'agronomie de Blida. Le témoin malade utilisé dans notre test est un plant de vigne infecté par le *GFLV* et extériorisant des symptômes typiques . Le témoin sain provient d'une unité de production viticole, appelée complexe de greffage , situé dans la région de Chiffa .

4.2.2. Matériel végétal :

Pour la détection du *GFLV* par voie mécanique, nous avons utilisé une seule plante herbacée de disponible: Il s'agit du concombre *Cucumis sativus* L. variété super maketer de la famille des *Cucurbitaceae*.

4.2.3. Méthode de l'indexage biologique :

Cette méthode permet la mise en évidence et l'étude des virus transmissibles mécaniquement sur une gamme d'hôtes herbacées [94]. Le semis a lieu directement dans des pots en plastique. Ces derniers sont remplis d'un mélange (1/3 sable, 1/3 terre et 1/3 tourbe) préalablement stérilisé à 120°C pendant 20 minutes. Nous avons préparé 50 pots à raison de 10 pots par parcelle de chaque station, 10 pots pour le témoin malade et 10 pots pour le témoin sain . Des feuilles de vigne prélevés du terrain soupçonnées viroses ont été broyées dans un mortier à raison de 1g dans 4ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 7.3) (Annexe 1) qui a pour effet de stabiliser le virus, du 2-mercapthoéthanol (0,4 %) qui a un rôle d'anti-oxydant et d'une solution aqueuse de nicotine base (2,5 %) qui permet la neutralisation des tannins et des poly phénols. Le charbon actif et le carborundum sont additionné au broyat. L'inoculation est effectuée par frottis avec l'index sur jeunes cotylédons, après une minute les feuilles sont rincées à l'eau du robinet. Les plantules sont placées au phytotron à une température de 25°C. La lecture des résultats a été effectuée 14 jours après inoculation.

4.2.4. Résultats :

Les plantules de concombre inoculées ont exprimé des symptômes pour les trois stations (Tableau 4.2).

Tableau 4.2 : Expression des plants de concombre à l'inoculation

Stations	Parcelle	Nbre Echanti. Testés	Symptômes observés
Station1(Chiffa)	P1	7 * / 10 **	- Eclaircissement des nervures
	P2	5 * / 10 **	- Eclaircissement des nervures. - Jaunissement.
Station 2 (Médéa)	P1	4 * / 10 **	- Eclaircissement des nervures. - Jaunissement.
	P2	7 * / 10 **	- Eclaircissement des nervures
Station 3 (Blida)	P	1* / 10 **	- Jaunissement.
Témoin malade		10 * / 10 **	Jaunissement total des plants Eclaircissement des nervures
Témoin sain			Absence de jaunissement

Légende : * : Numérateur : Nbre de plants positifs

** : Denominateur : Nbre de plants inoculés

Station 1 (Chiffa):

Sur 10 plants inoculés 7 plants uniquement de la parcelle 1 et 5 plants de la parcelle 2, ont extériorisé le symptôme d'éclaircissement des nervures. Seulement 2 plants de la parcelle 2 ont montré des éclaircissements de nervures accompagnés d'un jaunissement du feuillage.

Station 2 (Médéa):

Concernant cette station quelques plants de concombre ont extériorisés des symptômes. Dans la parcelle 1, 4 plants sur 10 ont extériorisé des éclaircissements de nervures suivi d'un jaunissement de feuilles. Pour la parcelle 2 , uniquement un seul symptôme a été relevé, il s'agit d'un éclaircissement marqué de nervures.

Station 3 (Blida) :

Une plante uniquement a montré le symptôme de jaunissement des feuilles concernant la station de Blida.

4.2.5. Discussion:

Dans les trois stations, le test biologique a révélé des réponses positives, les symptômes observés sont de type éclaircissement des nervures et le jaunissement des feuilles. Par ces expressions symptomatologiques la présence du virus est soupçonnée . La plante utilisée pour la détection biologique du virus du court-noué était le concombre, celle-ci se caractérise par une forte sensibilité même à une faible concentration du virus au niveau de l'inoculum [32]. Les symptômes observés au cours de notre expérimentation ont été décrits par [3], ils correspondent à un jaunissement des feuilles et un éclaircissement des nervures qui débute par la nervure principale pour atteindre les nervures secondaires. Les symptômes de type jaunissement ont été déjà signalés par Boussalem [95] et Hadji [96]. Dans le test biologique , d'autres plantes herbacées peuvent exprimer la présence du virus du court- noué, il s'agit de tabac et des chenopodes (*Chenopodium amaranticolor* et *C. quinoa*) [2, 8]. Ces derniers extériorisent les symptômes de malformations des feuilles et des infections systémiques. Alorsque les symptômes sur *Nicotiana benthamiana* et *N. clevelandii* sont les malformations et les marbres sur feuilles .

4.3. Séro- détection

4.3.1. Matériels et méthodes :

4.3.1.1. Méthode d'échantillonnage :

Les prélèvements des échantillons ont été effectué sur différents plants de vigne se localisant dans les stations suivantes : Chiffa, Mouzaia , Blida, Bourroumi, El Affroun, Hamr El Ain, Hoceinia. L'échantillonnage a eu lieu après le débourrement de la vigne ; du mois de mai au mois de juin. Il consiste à prélever des échantillons de feuilles et de rameaux à partir de plant de vigne présentant les symptômes de la maladie. Le nombre total d'échantillons prélevés des 7 stations était de 870 échantillons.

4.3.1.2. Conservation des échantillons :

Les échantillons prélevés des différentes stations prospectées sont mis dans du papier aluminium ou dans les sachets plastiques, numérotés et conservés à une température de 4°C afin d'éviter toute altération et /ou dessèchement.

4.3.1.3. Extraction du virus :

Tous les échantillons prélevés du terrain sont pesés individuellement et uniquement 1 g. de feuille fraîche est broyé séparément à l'aide d'un mortier dans un 5 ml de solution de broyage qui est composée d'un tampon phosphate (PBS-PVB-T) (Annexe A). Les broyats sont clarifiés dans des gazes filtrantes, le jus obtenu est conservé à une température de 4 °C jusqu'à son utilisation. Les témoins contrôles positif et négatif utilisé dans notre étude proviennent du laboratoire BIO-RAD , France (AnnexeB)

4.3.1.4. Sérologie :

La découverte des caractères antigéniques des virus des végétaux a ouvert la voie, à la mise au point de méthodes d'identification des phytovirus par la sérologie en utilisant des anticorps polyclonaux . Le test ELISA est un essai sur phase solide ou chaque réactif agit en succession. D'abord il piège et ensuite il révèle l'antigène cible .

Il existe deux variantes de la méthode ELISA. La DAS-ELISA (double antibody sandwich-enzyme linked immuno sorbent Assay) et la TAS-ELISA (triple antibody sandwich-enzyme linked immuno sorbent Assay). Dans la DAS-ELISA, l'anticorps spécifique est conjugué à une enzyme, la phosphatase alcaline, en mesure de déclencher la réaction colorée du substrat. Cette technique permet de détecter de très petites quantités de virus, elle est très sensible, rapide et son travail est simple [97]. Dans la TAS-ELISA, le premier réactif (anticorps piègeant) est un anticorps polyclonal produit chez un animal suivi d'un anticorps spécifique (monoclonal) pour le même antigène produit chez un autre animal, dont la présence est révélée par un anticorps à l'anticorps supplémentaire conjugué à l'enzyme. L'avantage de cette technique réside dans la possibilité d'employer une enzyme universelle disponible sur le marché pour la diagnostic de n'importe quel virus [97].

a) Sérum utilisé :

L'identification de virus *GFLV* par le test ELISA nécessite l'utilisation d'un sérum composé d'un anticorps polyclonal et d'un anticorps couplé à l'enzyme phosphatase

alcaline. Le sérum utilisé pour le diagnostic du *GFLV* provient du laboratoire BIO-RAD en France.

b) Technique DAS-ELISA :

Dans le contexte de notre expérimentation nous avons retenu la variante du test DAS-ELISA en double antibody décrite par Clark et Adams [98], le virus est littéralement pris en sandwich entre deux couches d'anticorps. Cette méthode est très sollicitée. En raison du risque réduit d'apparition de réactions non spécifiques, réaction des protéines végétales avec le sérum spécifique.

- Fixation des anticorps polyclonaux:

Les anticorps polyclonaux dilués 1/100^{ième} dans la solution de fixation (Coating buffer) sont déposés dans les plaques de microtitration à raison de 100 µl par puits. Afin d'éviter l'effet de bordure, les puits se trouvant au bord des plaques sont remplis d'eau distillée. Les plaques sont mises en incubation à 37°C pendant de 2 h pour permettre la fixation des anticorps polyclonaux sur le polystyrène. Elles sont ensuite lavées avec la solution de lavage PBS-T.

- Dépôt des échantillons à tester :

Les échantillons sont déposés individuellement dans les puits, à raison de 100 µl avec une répétition. Il en est de même pour les témoins négatifs et les témoins positifs admis comme référence. Les plaques sont mises en incubation à 4°C toute la nuit et lavées avec la solution tampon de lavage PBS-T.

- Dépôt du conjugué :

Au cours de cette étape, le conjugué est déposé à raison de 100 µl par puits, les plaques sont ensuite mises en incubation à une température de 37° C durant 2 heures et lavées avec la solution tampon de lavage PBS-T.

- Dépôt du substrat :

La pastille du substrat est diluée dans 12 ml dans la solution du substrat. Par la suite le substrat est déposé dans les puits à raison de 100 µl, la plaque est mise en incubation à température ambiante.

- Lecture des réactions:

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

- Solutions tampons:

Les protocoles des solutions tampons sont décrites en annexe A .

4.3. 2. Résultats :

4.3.2.1. Symptômes observés sur terrain:

Au cours de nos prospections, les symptômes observés rappellent ceux du *GFLV* (Tableau 4.3). Dans les stations de Chiffa et de Mouzaia , les symptômes observés étaient surtout les malformation des feuilles (réduction de la surface foliaire) et des rameaux (les nœuds en zigzag, bifurcation anormale) sur toutes les parcelles visitées. Curieusement à Bourroumi , la panachure réticulaire a été très marquée avec des feuilles à allure d'éventail accompagnées de déformations et de décolorations des feuilles à nervation irrégulière. Le symptôme le plus marquant dans la station de Hamr-El-Ain était la panachure ordinaire et raccourcissement des entre- nœuds surtout sur les portes greffes . Pour les autres stations , des déformations diverses et marbrures chlorotiques sont les symptômes les plus rencontrés (Fig. 4.1).

La sévérité des symptômes était marquée au niveau des stations de Bourroumi et Hamr El Ain . Dans ces deux stations , les symptômes les plus remarquables étaient des nervations irrégulières , raccourcissements des entre-nœuds, et des panachures soit ordinaires ou réticulaires . Ces dernières sont moins fréquentes dans la station de Bourroumi et plus abondantes dans la station de Hamr El Ain . Par contre la sévérité des symptômes était modérée dans les stations de Chiffa et de Mouzaia . En effet les symptômes relevés étaient des doubles nœuds , des rameaux en zigzag accompagnés de

fasciations et de bifurcations anormales de rameaux(Tableau 4.3) . Le symptôme le plus fréquent dans ces deux stations était les malformations des feuilles et les bifurcations des rameaux . Au niveau de la station de Mouzaia , les symptômes les plus spectaculaires étaient des nervations irrégulières , réduction de la surface foliaire et asymétrie du limbe. Mais à la station de Chiffa, les symptômes les plus fréquents étaient les malformations des feuilles, bifurcations des rameaux. Pour la station de l'El Affroun , on a remarqué le dépérissement de quelques plants(Tableau 4.3). A la station de Hocienia les symptômes observés étaient de type feuilles en éventail sans aucune décoloration du feuillage , les entre-noeuds étaient courts (Tableau 4.3).

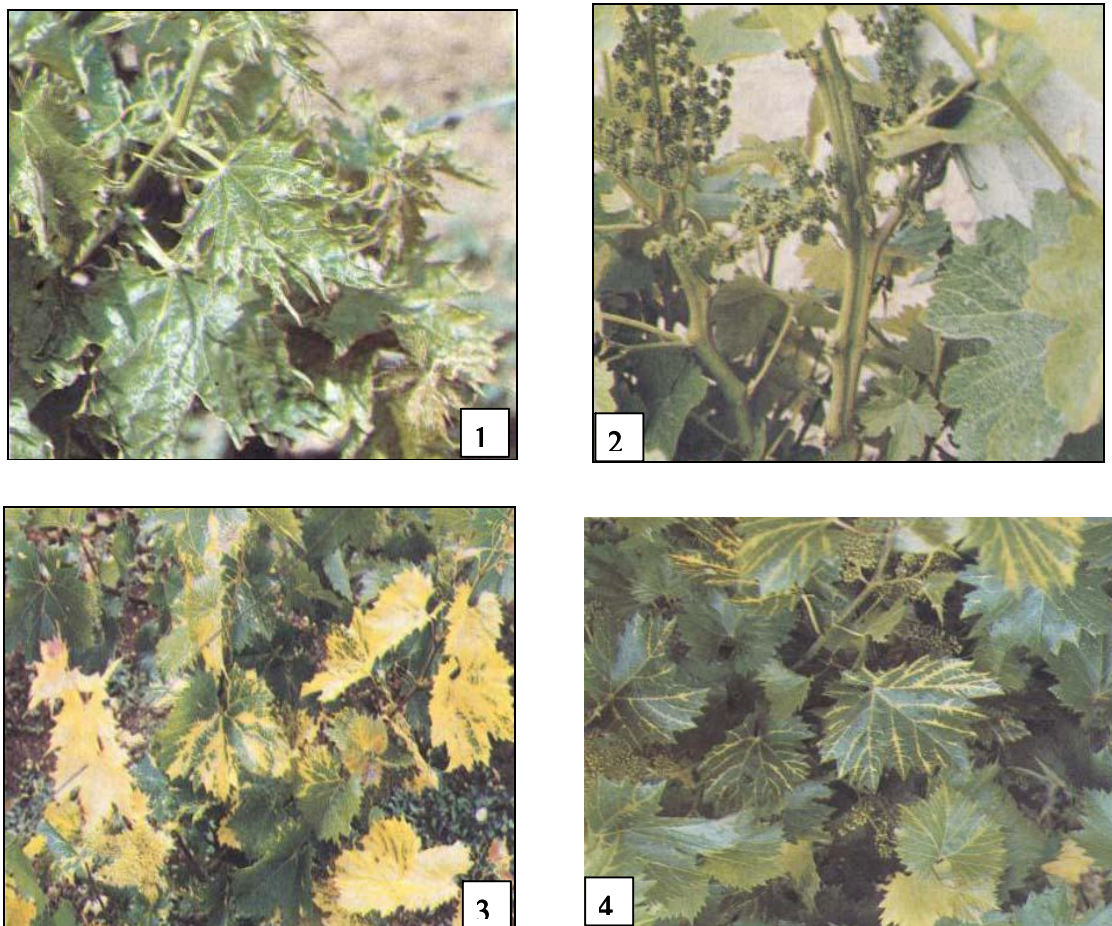


Figure 4.1 : Symptômes observés sur terrain

- | | |
|-------------------------------|------------------------------|
| 1- Malformations des feuilles | 2- Malformations des rameaux |
| 3- Panachure ordinaire | 4- Panachure réticulaire |

Tableau 4.3 : Gammes de symptômes observés sur terrain

Stations	Symptômes observés	Plant infest. (%)	Observations
Chiffa	- Malformations des feuilles - Rameaux en zigzag - Marbrures - Bifurcation des rameaux	35 %	Modéré
Blida	- Asymétrie du limbe - Feuille en éventail	10 %	Faible
Mouzaia	- Double nœuds - Rameaux en zigzag - Nervation irrégulière - Réduction de la surface foliaire - Fasciation des rameaux - Asymétrie du limbe	40 %	Modéré
El Affroun	- Dépérissement de plante - Malformation des feuilles et décoloration - Bifurcation anormale des rameaux	67 %	Sévère
Bourroumi	- Panachure ordinaire - Asymétrie du limbe - Feuille en éventail - Malformation des feuilles et décoloration - Raccourcissement des entre-nœuds	70 %	Sévère
Hamr El Ain	- Panachure réticulaire - Raccourcissement des entre-nœuds - Nervation irrégulière - Asymétrie du limbe - Feuille en éventail	60 %	Sévère
Hocienia	- Feuilles en éventail sans aucune décoloration - Entre-noeuds courts.	7 %	Faible

Legende : 0-25 : Faible

26 -50 : Modéré

51 – 80 : Sévère

4.3. 2.2. Résultats de la DAS- ELISA :

Le contrôle sérologique effectué sur 870 échantillons (feuilles et rameaux) de vigne prélevés au cours des prospections menées dans différentes stations : Chiffa, Blida, Mouzaia, El Affroun, Hamr El Ain, Bourroumi et Hoceinia, nous a permis de déceler la présence du *GFLV*. Celui-ci a montré une incidence moyenne de 45,40 % . D'après les résultats obtenus, il ressort que les échantillons positifs en DAS- ELISA a concerné toutes les stations prospectées (Tableau 4.4). En effet la station la plus infectée était la station de Bourroumi avec un taux d'infection de 80,5 % , alors que celui de la station de Blida était de 20 %, constituant ainsi le plus faible taux d'infection relevé .

Tableau 4.4 : Taux d'infection dans les stations prospectées

Stations	échant. Testés	échant. Positifs	Taux d'infection (%)
Chiffa (1)	169	48	28,40
Blida (2)	100	20	20
Mouzaia (3)	181	57	31,49
El Affroune (4)	90	54	60
Bourroumi (5)	118	95	80,5
HamrEl Ain (6)	114	91	79,82
Hocienia (7)	98	30	20,61
Total	870	395	45,40

Station 1 (Chiffa) :

Dans les deux parcelles , la présence du court- noué a été observée sur quelques échantillons du vignoble prélevé. Sur 109 échantillons testés dans la parcelle 1 , le test DAS -ELISA a détecté seulement 33 échantillons positifs , soit un taux d'infection de 30,27 % (Annexe C). La DAS- ELISA a été effectué sur 60 échantillons de la parcelle 2 qui est constituée de différentes variétés de vigne. Les valeurs en D.O obtenues ont permis de repérer 15 échantillons atteints du *GFLV*(Annexe C). Le taux d'infection était donc de 25 %

Station 2 (Blida) :

Dans cette station, les valeurs en D.O considérées positives en test DAS -ELISA pour le virus du court –noué était de 20 réponses positives avec une concentration virale qualifiée de faible. Le taux d'infection était de 20 % .

Station 3 (Mouzaia) :

Le nombre d'échantillons testés était de 104 reparti sur la parcelle 1 . Les valeurs en D.O obtenues en DAS- ELISA ont montré 32 échantillons positifs, donc atteints par le *GFLV* avec une faible concentration soit un taux d'infection de 30, 76 % . La DAS-ELISA a été effectuée sur la parcelle 2 qui est composée de différentes variétés de vigne. L'analyse des résultats a relevé 25 échantillons atteints du *GFLV*. Le taux d'infection de la parcelle 2 était de 32,46 % (Annexe C) .

Station 4 (El Affroun) :

Sur un nombre de 90 échantillons testés pour le *GFLV*, le test DAS- ELISA a révélé 54 échantillons atteints du virus du court- noué avec une faible concentration virale (Annexe C) et un taux d'infection de 60 % .

Station 5 (Bourroumi) :

Le test DAS- ELISA réalisé sur l'ensemble des 118 échantillons testés pour le *GFLV*, a révélé 95 échantillons atteints du *GFLV* avec un taux d'infection de 80,5 % (Annexe C)

Station 6 (Hamr El Ain) :

Le nombre total d'échantillons testés dans cette station était de 114 plants de la variétés Dattier de Beyrouth . Les valeurs en D.O du test DAS–ELISA ont montré 91 échantillons positifs (Annexe C) , soit un taux d'infection de 79,82 % .

Station 7 (Hoceinia) :

Les résultats en D. O. obtenus en DAS- ELISA, ont montré 30 échantillons infectés avec une concentration virale très faible (Annexe C). Le taux d'infection au niveau de cette station était de 20,61 %.

4.3. 3. Discussion des résultats

Lors de nos prospections , on a remarqué que les stations prospectées présentaient les symptômes typiques du *GFLV* principalement des cas de raccourcissement des entre – nœuds , des fasciations et des bifurcations des rameaux et des panachures (ordinaire et réticulaire) , les doubles nœuds , les rameaux en zigzag, les nervations irrégulières , les réductions de la surface foliaire , les asymétries du limbe .

La sévérité des symptômes était marquée au niveau des stations de Bourroumi et de Hamr El Ain . On a remarqué que la sévérité était modérée dans les stations de Chiffa et Mouzaia. Pour la station d’El Affroun , on a constaté un dépérissement de quelques plants . Les symptômes de panachure réticulaire et ordinaire observés dans les stations de Bourroumi et de Hamr El Ain ont été déjà signalés par Boussalem [94]. dans la région de Dhara et en Italie par [99, 51]. Les symptômes de fasciations, de bifurcations des rameaux , rameaux en zigzag, nervation irrégulière , réduction de la surface foliaire ont été décrites par [99].

La sévérité des symptômes était variable d’une station à une autre. On a remarqué que dans les stations Chiffa et Mouzaia , la sévérité des symptômes était modérée où nous avons observé des malformations des feuilles et les rameaux . La sévérité était très forte au niveau de la station des Bourroumi et de Hamr El Ain , où nous avons constaté une abondance de symptômes de panachure et de malformations des rameaux . Dans la station d’El Affroun, la sévérité des symptômes était moins forte que celle de la station Chiffa et de Mouzaia , où le symptôme le plus fréquent était le dépérissement . Bien que nous n’avons pas observé des symptômes de panachure mais la sévérité était élevée par rapport aux autres stations. Pour les deux dernières stations (Blida et Hoceinia) , la sévérité était faible. Cette sévérité peut être dûe aux souches du *GFLV* présentent dans les stations .

D’après les symptômes observés , On a remarqué la présence de deux souches exteriorisant des symptômes différents . Lorsque les deux souches sont ensemble, elles se manifestent par des symptômes forts; dans le cas des stations de Bourroumi , de Hamr El Ain et de l’El Affroun . Pour les autres stations , un seul groupe des symptômes a été

relevé (malformation des feuilles et des rameaux), cela indique la présence d'une seule souche du *GFLV*.

Les prospections effectuées pendant la période de la mi- mai - à la mi- juin étaient favorables à la détection sérologique du *GFLV* par DAS- ELISA à partir des feuilles et des rameaux de vigne prélevés. Des réactions positives ont été décelées à partir des 870 échantillons prélevés sur les 7 stations étudiées (Chiffa , Mouzaia, El Affroun, Blida, Bourroumi, Hoceinia, Hamr El Ain) . Les résultats de la DAS-ELISA, nous ont permis de détecter des plants atteints du court- noué chez les variétés et les portes greffes . D'après ces résultats nous pouvons confirmer la présence du court- noué en Algérie.

Le taux d'infection par ce virus dans le vignoble algérien était de 45,40% sur l'ensemble des échantillon testés . Le taux d'infections du *GFLV* était variable d'une station à une autre , nous avons enregistré au niveau des stations de Chiffa et de Mouzaia, des taux d'infection de 28,40 % et 31,49 % respectivement où la présence du virus était modéré . Mais au niveau des stations de Bourroumi et de Hamr El Ain, la présence du virus se manifeste par des taux d'infection très élevés de 80,50 % et 79,82 % respectivement. Le taux d'infection était de 60 % dans la station d'El Affroun . Nos résultats ont montré que les taux d'infection étaient de 20 % et 20,61 % dans les stations de Blida et de Hocienia respectivement.

La variation des taux d'infection entre les différentes stations est due soit aux vecteurs , ou à l'homme par les travaux culturaux . D'après Bovey [52] , les racines laissés dans le sol après arrachage de vignes infectées peuvent rester vivantes durant de longues périodes et constituent des sources de contamination pour le nématode vecteur [100]. Cette variation peut être due également à la plantation des ceps à l' origine infectés par le virus du court-noué (de greffons où de port greffe provenant de vignes infectée) .

Le court- noué est très répandu dans tous les vignoble algérien, Boussalem [95] l'a signalé dans les vignobles du Dahra , les plaines d'Oran , et dans la zone littorale à l'ouest d'Alger (Zeralda, Staoueli, Cheraga). A Mascara, Benfreha [101] a mis en évidence le court –noué sur plusieurs variétés de vigne .

Martelli [93] a signalé des cas très graves du *GFLV* sur plusieurs variétés de vigne (à l'ouest du pays Mascara , centre de Mitidja (Tipaza et Médéa). Au centre dans la Mitija, Hadji [96] et Morsli [102], ont détecté dans la région de Ben chicao , le *GFLV* avec des taux d'infectionn de 67,85 % et 77,77 % respectivement .

CHAPITRE 5

EFFICACITE DE LA TRANSMISSION DE *GFLV* PAR LES NEMATODES VECTEURS

5.1- Stations prospectées:

Notre expérimentation s'est déroulée dans trois stations différentes : Médéa, Chiffa et Blida. Les prélèvements des échantillons de sol ont été effectués sur 2 parcelles de la station de Chiffa, 2 parcelles de la station de Médéa et sur 1 parcelle située à la station expérimentale d'agronomie de Blida.

5.2- Recherche les nématodes vecteurs

5.2.1. Matériels et méthodes :

L'analyse nématologique est nécessaire pour déceler la présence des nématodes vu leur part de responsabilité dans les dégâts observés. La détermination des espèces de nématodes comprend une série d'opérations qui sont : Echantillonnage, extraction, fixation, montage et identification.

5.2.1.1. Echantillonnage:

Les nématodes du genre *Xiphinema* ont une grande longévité, tous les stades sont présents pendant toute l'année [73]. L'échantillonnage est particulièrement délicat du fait de la répartition très inégale des nématodes dans le sol et également de l'évolution très rapide de l'effectif de ces populations en fonction des conditions climatiques et des travaux du sol [103].

a. Matériel :

Pour le prélèvement des échantillons, divers outils sont utilisés parmi lesquels figurent : bêche, binette, tarière pédologie, sachets en plastique et étiquettes.

b. Méthode :

L'échantillon de terre est prélevé au contact des radicelles vivantes des plantes avec symptômes de la maladie. Les prélèvements d'échantillons de sol ont été effectués à une profondeur de 50 à 70 cm. En effet, les nématodes ectoparasites du terre sont généralement localisés à cette profondeur qui correspond à la rhizosphère d'un pied de vigne. Chaque échantillon doit peser environ 2 Kg de terre accompagnés des racines nourricières. D'après Esmenjaud [104], l'échantillon doit être au moins de 1,5 à 2 Kg pour mettre en évidence la présence de *X. index* qui est une espèce fragile à population faible (le plus souvent entre 10 et 100 nématodes / Kg de terre). Dans notre cas, plusieurs échantillons ont été prélevés dans différentes zones du système racinaires . Nous avons effectué 5 à 8 échantillons par parcelle prospectée. Les échantillons ainsi obtenus sont mis dans des sacs en plastique accompagnés d'une étiquette comprenant les références permettant leur identification au laboratoire.

c. Conservation des nématodes :

Les échantillons de terre prélevés des différents stations prospectées sont conservés au froid à une température de 4°C afin d'éviter leur dessèchement.

5.2.1.2. Extraction des nématodes :

Toutes les techniques d'extractions sont basées sur certaines particularités des nématodes à savoir leur densité et leur mobilité [103]. L'extraction consiste à séparer les nématodes du sol et des racines, afin de les identifier et de les compter. La méthode que nous avons adopté est la méthode des seaux [75].

a) Matériel : (Annexe D)

b) Méthode :

Les nématodes placés en milieu aqueux, quittent leur site habituel pour se déplacer vers le bas. Ce procédé utilise la différence de taille et de poids spécifique des nématodes et des éléments du sol suivant cette inégalité : Matière organique / eau / nématode / matière minérale [82, 103](Fig. 5.1)

Protocole 1 : Extraction des nématodes par la méthode des seaux [75].

- Mettre 2 Kg de terre en suspension dans un seau en plastique, sous fort courant d'eau sur une passoire de 1mm.
- Le contenu est vidé dans un autre seau après passage sous un courant d'eau fort sur la passoire (passage permettant l'élimination des cailloux, sables grossiers et les débris organiques de grande dimension).
 - Remuer avec agitateur jusqu'à désagrégation complète des agglomérats de terre
 - Laisser reposer de 30 secondes à 1 min.
 - Mise en suspension des nématodes dans l'eau
 - Décantation très lente
 - Ajouter l'eau dans le 1^{er} seau en mélangeant à l'aide d'un agitateur
 - Répéter les opérations 2 à 3 fois la plus grande partie des nématodes se trouve dans l'eau du 2^{ème} seau.
 - Rincer à l'eau les résidus du tamis à grosses mailles en recueillant l'eau de lavage dans le 2^{ème} seau afin de récupérer tous les nématodes restants sur le tamis.
 - Jeter la terre au fond du 1^{er} seau.
 - Verser lentement l'eau contenue dans le 2^{ème} seau sur le tamis fin où la plus grande partie des nématodes est retenue par celui-ci.
 - Rincer sous un filet d'eau le contenu du tamis afin d'éliminer les fines particules de boue.
 - Retourner le tamis fin sur un gobelet ou entonnoir contenant du papier filtre et rincer pour entraîner les nématodes sur celui-ci.
 - Enrouler le papier filtre sur lui-même, afin d'entourer la masse de nématodes.
 - Mettre le papier filtre contenant les nématodes dans les boîtes de Pétri disposés sur un support (un petit carré de grillage plastique)
 - Ajouter l'eau dans la boîte de Pétri pour en extraire les nématodes actifs traversant le papier filtre.
 - Les nématodes traversent le papier filtre et se trouvent en suspension dans l'eau au fond de la boîtes de Pétri.

5.2.1.3. Pêchage et fixation :

Après avoir réalisé l'extraction des nématodes, il serait nécessaire de les fixer puis de les monter sur des lames en vue de les observer au microscope optique aux grossissements (GX 40 et 100).

a) Matériel : (Annexe D)

b) Méthode de pêchage :

Après 48 heures, les suspensions obtenues lors des extractions sont versées dans des boîtes de Pétri quadrillées. Ils sont pêchés sous la loupe binoculaire soit à l'aide d'un cil, ou d'un éclat de bambou à pointe très fine fixée sur un porte aiguille et transférés dans une goutte d'eau dans des coupelles.

c) Méthode de fixation :

Quelques gouttes de solution de fixation chauffée non bouillie sont déposées dans les coupelles contenant les nématodes pêchés. Le montage ainsi obtenu est déposé dans un dessiccateur plein d'alcool pendant 24 h. Par la suite les coupelles sont retirées et l'alcool en excès est aspiré. Ensuite on dépose quelques gouttes de glycérine 3%, et d'alcool 97%. Le dépôt est répété 3 fois à un intervalle de 30 minutes. Les coupelles sont déposées à l'étuve à une température de 45°C puis à 60°C, quelques gouttes de glycérine 5% et quelques gouttes d'alcool 95% sont déposées à 30 minutes d'intervalle entre la 1^{ère} goutte et le 2^{ème} goutte. L'opération doit se répéter 3 fois, ensuite les coupelles sont recouvertes avec de boîtes de Pétri pour diminuer l'évaporation.

5.2.1.4. Montage :

a) Matériel : (Annexe D)

b) Méthode :

La suspension récupérée au bout de 24 h à 48 h est mise dans une boîte de Pétri. Afin que les nématodes ne s'écrasent pas trois brins de laine de verre sont déposés au

préalable entre la lame et la lamelle. Au fur et à mesure que l'on pêche, les nématodes sont

mis entre lame et lamelle dans une goutte de glycérine, tout en prenant soin d'éliminer les bulles d'air en réchauffant un peu la lame. Les lames ainsi obtenues sont lutées à l'aide d'un vernis à ongle afin de fixer la lamelle. Chaque lame est accompagnée des renseignements suivants : date, lieu de prélèvement, culture et l'espèce (Fig. 5.2).

5.2.1.5. L'identification :

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 . L'identification des nématodes a été réalisée grâce à l'utilisation des clés d'identifications (Clé d'identification des principaux genre de nématodes phytophages) surtout les espèces *X index* [85], *X italiae* [90], *X americanum* [106] et *X mediterraneum* [107], ainsi que les clés d'identification de Taylor et Brown [24].

5.2.1.6 Analyse statistique :

Nous avons utilisé l'analyse de la variance classique pour interpréter nos résultats. Elles consiste à étudier la comparaison des moyennes des populations à partir des facteurs de variabilité des échantillons [107, 108].

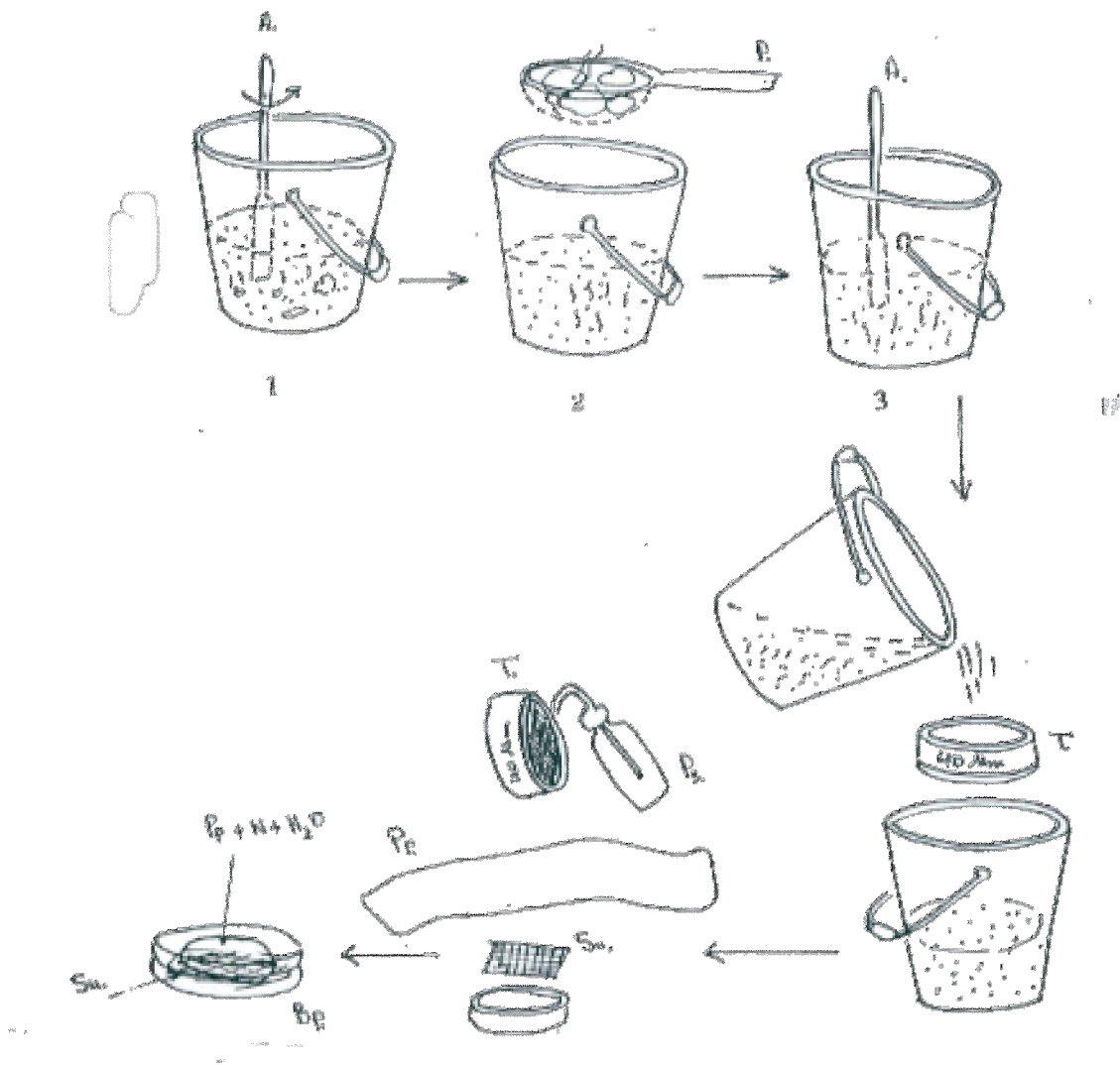


Figure 5.1 : Extraction des nématodes à partir du sol [75].

Légende :

1- Homogénéisation 2- Lavage et tamisage 3- Décantation 4- Tamisage 5- Concentration

A : Agitateur Bp : Boite de Petri N : Nématode Pp : Papier filtre P : Passoire Ps : Pissette

R : Robinet S1-S2 : Seaux So : Sol Su : Support T : Tamis de 40 µm

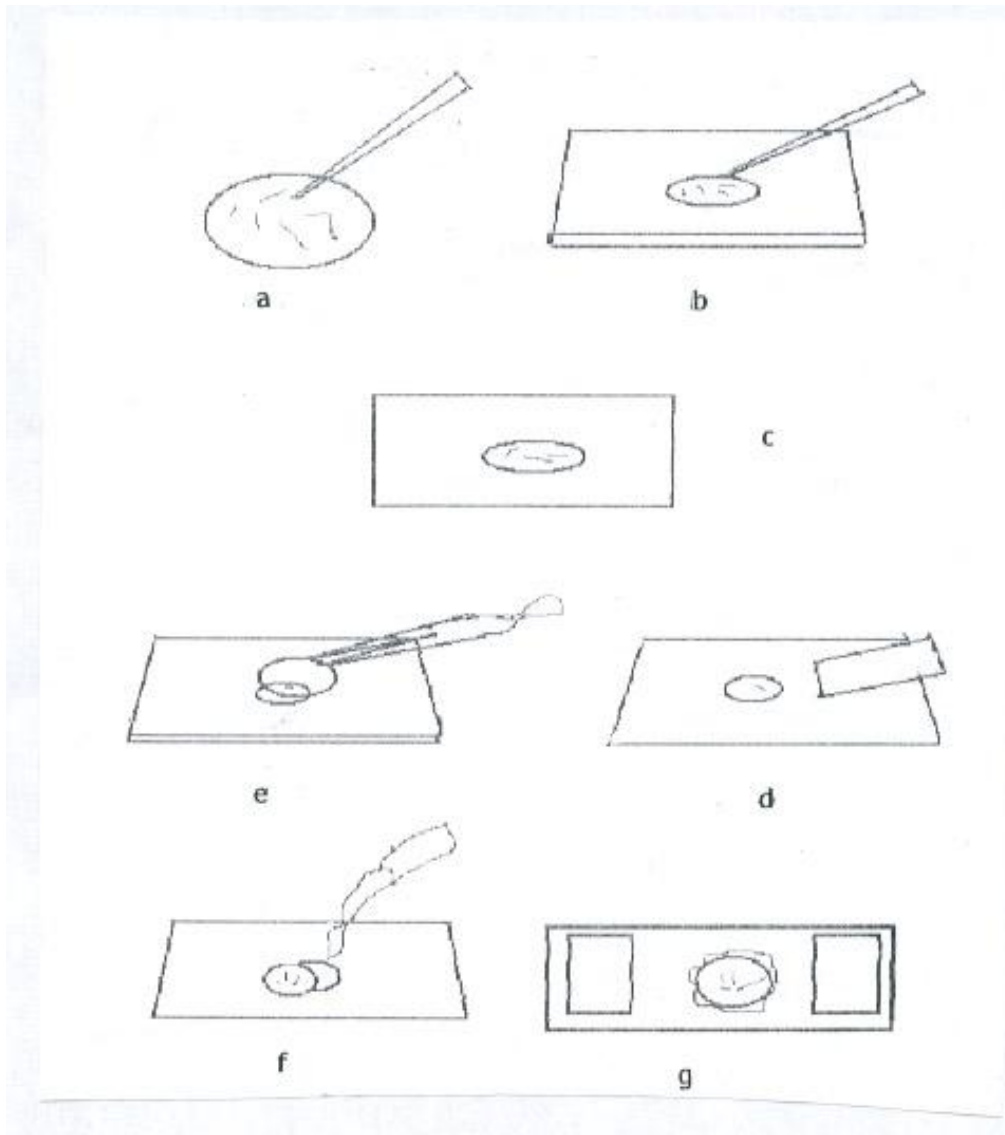


Figure 5.2 : Montage des *Xiphinema*

- a - Prélèvement d'un nématode à partir de boiter a Pétri.
- b - Déposition sue une lame dans une goutte de glycérine
- c - Déposition des brins de laine du verre.
- d - Mette la lamelle sur la lame avec soin d'élimination des bulbes d'air.
- e- Lutre avec la verne à ongle.
- f- Détermination l'espèce.

5.2.2. Résultats :

Les analyses nématologiques faites au laboratoire des différents prélèvements effectués durant la période expérimentale nous ont permis de mettre en évidence la présence de diverses espèces du genre *Xiphinema*, et autres espèces phytophages et non phytophages. La nématofaune rencontrée dans tous les échantillons de terre prélevés à partir des trois stations prospectées, se compose des espèces de *Xiphinema index*, *X italiae*, *X americanum*, *X. Mediterranum* (Tableau 5.1) . La présence de *X américainum* et *X mediterraneanum* avec un effectif moyen était considérable dans les trois stations par rapport à aux autres espèces de *Xiphinema* (*Xiphinema index* et *X italiae*) . On a remarqué une absence totale dans la station 3 du *X index* et une faible présence et une absence de l'espèce *X italiae* dans les stations 2 (Médéa) et 3 (Blida) respectivement

Tableau 5.1: Espèces des nématodes identifiées

Stations	Parcelles	Espèces identifiées
Station 1	P 1	<i>X. index</i> <i>X italiae</i> <i>X turicum</i> <i>X americanum</i> <i>X mediterraneanum</i> <i>X reversi</i> <i>X. turcicum</i>
	P2	<i>X. index</i> <i>X italiae</i> <i>X americanum</i> <i>X mediterraneanum</i>
Station 2	P1	<i>X. index</i> <i>X italiae</i> <i>X americanum</i> <i>X mediterraneanum</i>
	P 2	<i>X. index</i> <i>X americanum</i> <i>X mediterraneanum</i>
Station 3	P	<i>X. iItaliae</i> <i>X americanum</i> <i>X mediterraneanum</i>

5.2.2-1. Dénombrement des population de nématodes observées au niveau d'une même station

a- Station 1 (Chiffa):

Il existe une grande variabilité dans la distribution des différentes populations de nématodes au niveau des parcelles étudiées. En effet, l'effectif moyen des populations présente une dominance considérable de la population de *X. mediterraneum* 26 et 47 nématodes / 2 Kg de terre dans les parcelles 1 et 2 respectivement. L'effectif moyen de l'espèce *X. americanum* était plus élevé dans la parcelle 2 que dans la parcelle 1 avec un effectif de 18 et 36 nématodes/ 2 Kg de terre. Concernant *X. index*, son abondance était remarquable (22 nématodes / 2 Kg de terre) dans la parcelle 1 par rapport à la parcelle 2 (10 nématodes / 2 Kg de terre). L'espèce *X. italiae* était présente dans les deux parcelles avec un effectif moyen de 12 nématodes / 2 Kg de terre dans la parcelle 1 et 10 nématodes / 2 Kg de terre dans la parcelle 2 (Fig. 5.3).

L'analyse de la variance a confirmé ces résultats et nous a permis donc de constater une différence hautement significative entre les populations obtenues dans les parcelles (Annexe 5). Le test des groupes homogènes (Newman –Keuls) nous a permis de distinguer deux groupes (A et B). Dans le groupe (A), nous avons enregistré les moyennes des populations les plus élevées dans la parcelle 2 (*X. mediterraneum* et *X. americanum*), et pour la parcelle 1 (*X. index* et *X. mediterraneum*). Le groupe (B) représente les moyennes des populations obtenues les plus faibles pour la parcelle 2 (*X. index* et *X. italiae*) et la parcelle 1 (*X. italiae*).

b- Station 2 (Médéa) :

Les résultats varient énormément d'une population à une autre. Cependant, nous avons remarqué que l'effectif moyen de la population la plus élevée dans les deux parcelles était *X. mediterraneum* (66 et 22 nématodes / 2 Kg de terre respectivement), suivi de *X. americanum* avec un effectif moyen variant dans les deux parcelles de 52 et 36 nématodes / 2 Kg de terre respectivement. Curieusement, la population *X. italiae* était absente dans la parcelle 1 et présente faiblement dans la parcelle 2 avec un effectif moyen de 18 nématodes / 2 Kg de terre. Pour *X. index*, son effectif était élevé 44 nématodes / 2 Kg de terre dans la parcelle 2 par rapport à celle de la parcelle 1 avec un effectif de 9

nématodes / 2 Kg de terre (Fig. 5.4). L'analyse de la variance a montré une différence hautement significative entre les différentes populations observées dans les deux parcelles (Annexe 5). Le test de Newman –Keuls a décelé deux groupes homogènes (A et B) pour les deux parcelles, le groupe (A) correspondant à des moyennes des populations les plus élevées de 66 et 52 (*X. mediterraneanum* et *X. americanum*), le groupe B représente les moyennes des populations les plus faibles (*X. italiae* (0) et *X. index* (9)).

c- Station 3 (Blida) :

En ce qui concerne la station 3 (Blida), l'effectif moyen des espèces de *X. mediterraneanum* était considérable par rapport à d'autres espèces. Les résultats obtenus ont montré un effectif moyen de 44 nématodes / 2 Kg de terre, alors que celle de *X. americanum* était de 33 nématodes / 2 Kg de terre . Cependant *X. italiae* était faiblement représentée avec un effectif de 4 nématodes / 2 Kg du terre . Pour *X. index*, on note son l'absence totale dans cette station (Fig. 5.5). L'analyse de la variance (Annexe E) , a montré une variation très hautement significative entre les différentes populations étudiées. La comparaison des moyennes a révélé la présence de 2 groupes homogènes du point de vue de la différence de l'effectif moyen des populations. La moyenne la plus élevée était représentée par le groupe (A) pour les populations *X. mediterraneanum* et *X. americanum*.

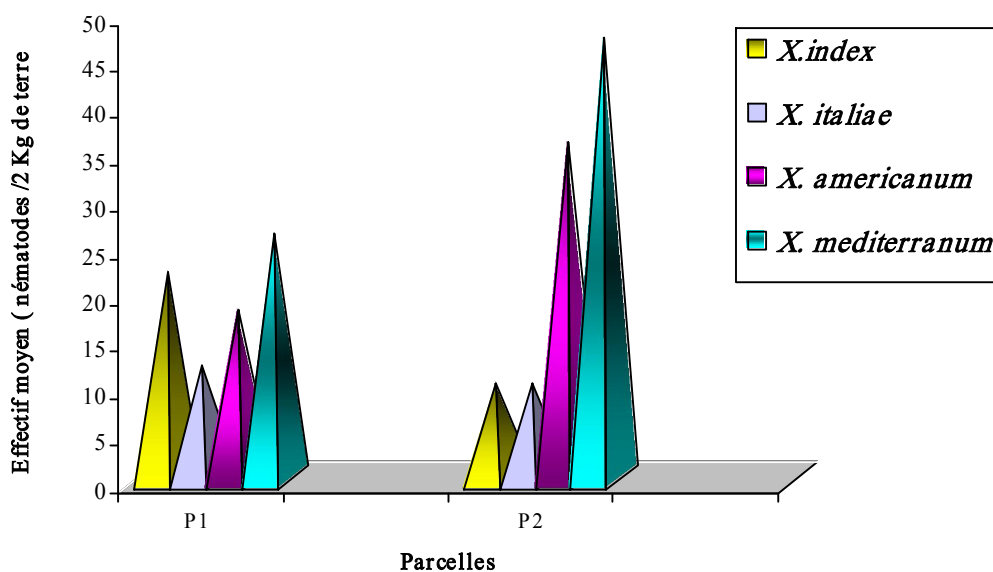


Figure 5.3 : Effectif moyen des populations des nématodes infestant les parcelles de vignes de station de Chiffa

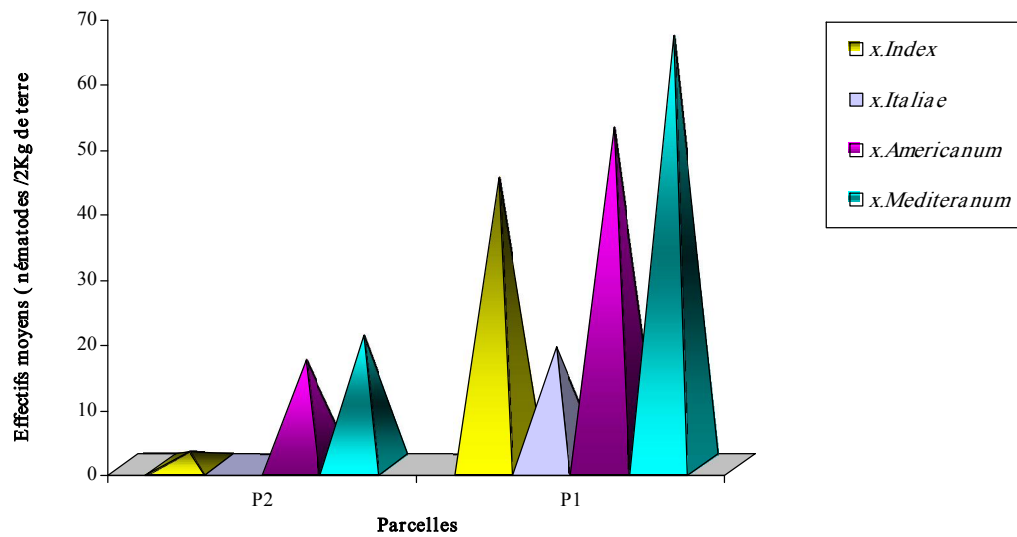


Figure 5.4 : Effectifs moyens des populations des nématodes infestant les parcelles de vignes de station de Médéa

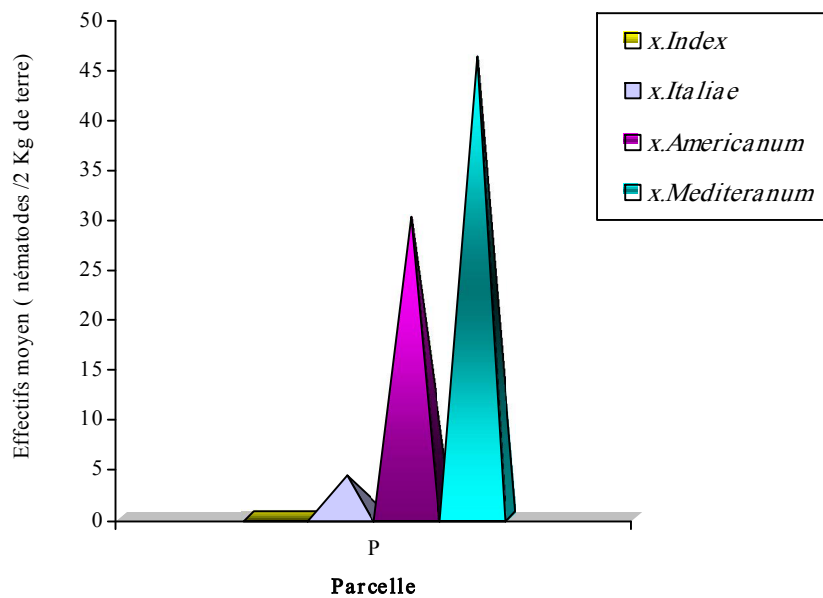


Figure 5.5 : Effectif moyen des populations des nématodes infestant la parcelle de vigne station expérimentation de l'agronomie de Blida

5.2.2-2 . Comparaison des populations entre les stations :

D'après les résultats obtenus , nous constatons que l'effectif moyen des différentes espèces inventoriées varie d'une station à une autre . On a remarqué un effectif moyen plus élevé dans la station 2, 26,5 nématodes / 2 Kg de terre ; et une absence totale de *X index* dans la station 3 . La présence de *X italiae* est faible dans les stations 2 et 3 mais elle est considérable dans la station 1, 11 nématodes / 2 Kg de terre . Pour les populations de *X americanum* et de *X mediterraneum* , la présence de ces dernières dans toutes les stations était très considérable avec un effectif moyen le plus élevé de *X americanum* , de 40,5 nématodes / 2 Kg de terre dans la station 2. Cependant l'effectif moyen de la population *X mediterraneum* le plus élevé était enregistré dans les stations 2 et 3 . Dans toutes les stations confondues, nous avons remarqué que la présence des espèces vectrices du court- noué était très faible par rapport aux espèces non vectrices (Fig.5.6).

L'étude statistique basée sur l'analyse de la variance a montré une différence très hautement significative entre les différentes parcelles de toutes les stations confondues et également entre les stations étudiées .Le test des groupes homogènes (au seuil de 5 %) fait ressortir un effet comparable entre les stations . Le test de Newman –Keuls a révélé la présence de deux groupes homogènes (A et B) du point de vue de la comparaison des moyennes, le groupe (A) représente les moyennes les plus élevées qui correspondent aux stations 2 et 3 pour les espèces *X americanum* et *X mediterraneum* , et la station 1 et 2 pour l'espèce *X italiae* , et la station 2 pour l'espèce *X index*. L'effectif moyen le plus faible est obtenu au niveau de la station 1 et 2 pour l'espèce *X index* et *X italiae* respectivement .

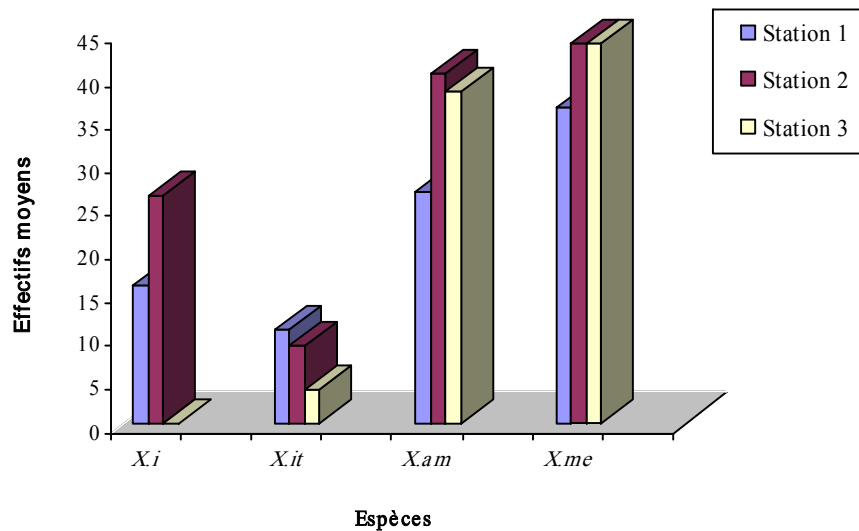


Figure 5.6 : Dénombrement des espèces de *Xiphinema* dans les différentes stations prospectées

5.2.3- Discussions :

L'étude de la nématofaune des différentes stations (Chiffa, Médéa et Blida) a relevé la présence des deux vecteurs potentiels du court- noué, il s'agit de *X index* et *X italiae*, avec des effectifs moyens différents d'une station à une autre. D'autres espèces de genre *Xiphinéma* ont été identifiées (*X. americanum*, *X. mediterraneanum*, *X. turicum* et *X. reversi*). Le genre de *Xiphimena* a été identifié dans toutes les stations prospectées, il est adapté aux différents sols, et au climat aglérien qui semble être particulièrement favorable. Les espèces *X. americanum* et *X. mediterraneanum* sont présentes dans toutes les stations étudiées avec des effectifs moyens très élevés par rapport aux espèces de *X index* et *X italiae*). La présence des espèces vectrices de la maladie du court noué est enregistrée dans toutes les stations étudiées, nous avons constaté un effectif moyen le plus élevé de *X index* dans la parcelle 1 et 2 de la station 1 et dans la parcelle 1 de la station 2. On a remarqué une absence totale de cette espèce au niveau de la station 3. Cependant *X italiae* a été présente dans les stations 1, 2 et 3 avec un effectif moyen le plus faible que les espèces *X index*, *X. americanum* et *X. mediterraneanum*. L'effectif moyen le plus élevé de cette espèce était 18 nématodes / 2 Kg de terre dans la parcelle 1 de la station 2 et une absence totale dans la parcelle 2 de la même station. Les deux espèces vectrices sont enregistrées avec des effectifs moyens des populations plus faibles que les espèces non

vectrices (*X americanum* et *X mediterraneanum*). Ces derniers ont présenté une dominance non négligeable au niveau des stations étudiées . L'effectif moyen de la population *X americanum* le plus élevé était obtenu dans la parcelle 1 de la station 2 et le plus faible était enregistré au niveau de la parcelle 1 de la station 1 . Pour *X mediterraneanum*, on a constaté que l'effectif moyen était de 66 nématodes / 2 Kg de terre était observé au niveau de la parcelle 1 de la station 2 et le plus faible était enregistré dans la même station mais au niveau de la parcelle 2 . On a remarqué un considérable effectif des populations de *X index* et *X italiae* dans les stations étudiées, de 44 et 18 nématodes/ 2 Kg de terre dans la parcelle 1 de station 2 (Médéa) respectivement. Cette abondance des deux espèces de *Xiphinema* peut être due à l'ancienneté des cépages, la structure et la texture du sol convenant bien au développement de ce genre . Une absence totale de *Xiphinema italiae* et un faible nombre d'individus de *X. index* était enregistré au niveau de parcelle 2 de la région de Médéa (station 2). Cette situation peut être due au bon entretien de la parcelle surtout à l'utilisation des traitements, aux travaux culturaux et à l'irrigation, ou soit que cette parcelle était restée très longtemps en jachère, d'où une absence totale de la plante hôte pour le maintien de ces espèces . Cependant , la présence des deux espèces vectrices du court noué ainsi que l'âge des vignobles expliquent le grand nombre et la dispersion de ceps malades dans les deux parcelles de la région de Chiffa (station 1) .

La présence *X index* et *X italiae* a été déjà mentionné dans les vignobles algériens [88]. En 1981, Boussalem a signalé la présence de 4 espèces du genre *Xiphinema* qui sont *X index* , *X mediterraneanum* , *X turicum* , *X italiae* , lors de son étude portant sur l'importance de la transmission par le sol de la dégénérescence infectieuse en Algérie. On a remarqué une forte densité des espèces non vectrices de *GFLV* (*X americanum* et *X mediterraneanum*) par rapport aux espèces vectrices de la maladie dans toutes les stations prospectées (Chiffa , Blida et Médeá). Cette situation a montré que ces espèces sont des espèces polyphages et se maintiennent sur plusieurs plantes hôtes secondaires en absence de la plante hôte primaire . La présence *X mediterraneanum* a été signalée dans la Mitidja par Mekhoukh [109]. Curieusement la présence de *X americanum* n'a jamais été signalée dans nos vignobles. Cette espèce affiche une abondance non négligeable et était présente dans la région de Médéa, Chiffa et de Blida. La présence de *X index* et *X italiae* dans les régions infectées par le *GFLV* explique que ces derniers sont les vecteurs de cette

maladie , Kadda Benchiha [110] avait réalisé une étude relative des espèces vectrices du court – noué de la vigne dans la région de Mostaganem.

La variation des espèces vectrices de la *GFLV* d'une station à une autre est probablement due à l'ancienneté des vignobles et aux conditions climatiques des régions ainsi qu'à la texture des sols qui sont favorables au développement de ces espèces et de leur maintien. D'après Esmenjaud [106], la répartition très inégale des nématodes dans le sol ainsi que l'évolution très rapide de l'effectif de ces populations est fonction des conditions climatiques , des travaux du sol et les fertilisants . Selon Quraishi [111] , les fertilisants azotés provoquent l'augmentation des populations de *Xiphinema* alors que les fertilisants potassés réduisent les populations . D'après Coiro [112] , la densités des *Xiphinema index* sur vigne s'élèvent sur sol sableaux , et baissent en sol argileux .

5.3- Transmission du *GFLV* par les nématodes vecteurs:

5.3.1. Matériels et méthodes:

5.3.1.1. Matériel végétal:

Afin de réaliser la transmission du *GFLV* par les nématodes vecteurs, des plants sains de vigne ont été utilisés. Ces plants proviennent d'une unité de production viticole, appelée complexe de greffage, située dans la région de Chiffa. Seulement quelques variétés du genre *Vitis* ont été utilisé dans notre étude, il s'agit de Sultane, Dattier de Beyrouth, Muscat, Cardinal, Gros-noir.

5.3.1.2. Obtention de nématodes virulifères :

Les témoins positifs sont des plants de vigne infecté par le *GFLV* et extériorisant des symptômes caractéristiques de celui-ci. Ils sont plantés dans un sol infesté de nématodes vecteurs du *GFLV*. Afin de permettre une acquisition optimale du virus par le nématode vecteur, le contact entre les racelles des plantes hôtes infectées doit se maintenir pendant 4 jours.

5.3.1.3. Méthode biologique :

Cette méthode consiste à déposer des plants sains de vigne dans un sol infesté de nématodes reconnus vecteurs du *GFLV*. Après mélange homogène du sol infesté, celui-ci est réparti en 30 sacs à raison de 2 Kg de sol infesté de nématodes vecteurs par sac. Ces sacs sont utilisés pour les 5 variétés de vigne à raison de 5 sacs par variété. Les témoins sains sont plantés dans un sol indemne de nématodes vecteurs. Ensuite les plants de vigne sont placés au phytotron à une température de 25°C. Le lecture des résultats a été effectuée 8 semaines après inoculation.

5.3.1.4. Obtention de sol infesté :

Le sol utilisé dans notre essai provient des prospections effectuées sur terrain . Nous avons utilisé uniquement les échantillons de terre de la station 1 , Chiffa (parcelle 1 et parcelle 2) et de la station 2, Médéa (parcelle 2) vu leur contenance considérable de nématodes *X. index* et *X. italiae*, qui sont les vecteurs potentiels du *GFLV*.

5.3.2. Résultats :

5.3.2.1. Sévérité du *GFLV* sur différentes variétés de vigne :

L'analyse des résultats de la transmission du *GFLV* par les nématodes inventoriés pour chaque variété étudiée sont consignés dans le tableau (5.2). Les observations effectuées après 8 semaines d'inoculation, ont montré nettement l'apparition des symptômes de la maladie du court-noué . Ils sont généralement caractérisés par un raccourcissement des entre- nœuds, doubles nœuds, déformation des feuilles, fasciation des rameaux, asymétrie du limbe. Aucun symptôme de panachure n'a été pas observé. On a remarqué que sur 25 plants infestés 10 plants seulement ont extériorisé des symptômes.

Sur la variété Sultane :

Uniquement un plant avait extériorisé les symptômes typiques du *GFLV* qui sont des double nœud et rétrécissement du limbe par diminution des écarts angulaires.

Sur la variété Cardinal :

Les symptômes relevés sur cette variété étaient des nervations irrégulières sur le feuillage accompagnées d'une asymétrie du limbe.

Sur la variété Dattier de Beyrouth :

Seulement deux plants ont extériorisé des fasciations des rameaux et des raccourcissements des entre- nœuds. La coloration du feuillage était vert clair .

Sur la variété Muscat :

Les symptômes extériorisé par cette variété étaient des raccourcissements des entres nœuds et les asymétries du limbe .

Sur la variété de Gros-noir :

Sur cette variété, les symptômes observés étaient des double nœuds accompagnés par des feuilles à des bordures très dentellée

Tableau 5.2 : Expression relative de différentes variétés de vigne à l'inoculation par les nématodes vecteurs du *GFLV*.

Variétés	Nbre plants	Symptômes observé
Sultane	1/5	- Double nœuds. - Rétrécissement du limbe par diminution des écarts angulaires (forme palmettes)
Dattier de Beyourth	2/5	- Rétrécissement du limbe par diminution des écarts angulaires (forme palmettes) - Raccourcissement des entres nœuds - Fasciation des rameaux - Coloration vert clair
Muscat	3/5	- Limbe asymétrique - Raccourcissement des entres nœuds
Cardinal	2/5	- Rétrécissement de limbe par diminution des écarts angulaires (forme palmettes) - Limbe asymétrique - Nervation irrégulière
Gros-noir	2/5	- Double nœuds. - Feuilles à bordure dentellée .

5.3.2.2 – Résultats du test DAS-ELISA :

Les analyses des valeurs des D. O des différents échantillons testés en DAS-ELISA, il ressort que les variétés : Dattier de Beyrouth, Muscat, Sultane, Cardinal, Gros noir sont atteints du *GFLV* (Tableau 5.3)

Tableau 5.3 : Valeurs en D.O_{405 nm} du *GFLV* obtenues en DAS- ELISA

Variétés	Echantillons	D.O. en DAS- ELISA
Sultane	886	0.165
	887	0.154
	888	0.148
	889	0.218
	890	0.168
Dattier Beyrouth	871	0.201
	872	0.158
	873	0.143
	874	0.206
	875	0.154
Muscat	876	0.109
	877	0.210
	878	0.225
	879	0.200
	880	0.103
Cardinal	891	0.214
	892	0,122
	893	0.207
	894	0.141
	895	0.122
Gros-nior	881	0.154
	882	0.108
	883	0.124
	884	0.199
	885	0.136
Témoin sain	/	0.087
Témoin malade	/	0.320
Total	25	09

Les valeurs en D.O obtenues sur la variété Sultane ont révélé un seul échantillon positif en test DAS-ELISA, impliquant ainsi la présence du *GFLV*. Sur cinq échantillons testés de la variété Dattier de Beyrouth par le test DAS- ELISA, deux échantillons

seulement ont affichée des D.O positives . Ils sont donc atteint par le virus *GFLV* . Sur la variété Muscat , le test DAS-ELISA a révélé trois échantillons positifs . Sur la variété Cardinal , deux échantillons seulement sur cinq avait enregistré des D.O. positives . Ce résultat vérifie la présence du virus *GFLV*. Egalement , la présence du court- noué a été détectée par la DAS- ELISA sur la variété Golnnoir . Seul un échantillon sur cinq a révélé une D.O positive .

5.3.3- Discussion :

L'étude de la transmission du virus par les nématodes vecteurs a donné des résultats positifs. Les résultats ont confirmé l' inoculation des plantes saines de vigne par le *GFLV* par l'intermédiaire des espèces de nématodes vecteurs (*Xiphinema index* , *Xiphinema italiae*). La sévérité du *GFLV* est plus marquée sur la variété Muscat par rapport aux autres variétés infestées. Ces dernières ont présenté les symptômes typiques qui sont des raccourcissements des ente- nœuds avec un limbe asymétrique. Pour les variétés Dattier de Beyrouth , Sultane et Cardinal, nous avons observé des rétrécissements des limbes par diminution de l'écart angulaire des feuilles. Le symptôme de fasciation des rameaux a été obtenu seulement sur la variété Dattier de Beyrouth, mais les doubles nœuds ont été observé sur les variétés de Sultane et de Golnnoir. Toutes les variétés testées ont extériorisé les symptômes typiques du *GFLV*, ceci implique qu'elles sont des plantes hôtes favorables au virus et au nématodes *X index* et *X italiae* . Ces symptômes sont les mêmes que ceux décrits par [50, 52, 113]. On a remarqué l'absence totale des panachures soit réticulaire ou ordinaire. Cette absence peut être due à l'élévation de la température [4] , ou à la présence d'une seule souche du virus dans le nématode vecteur [113, 114]. L'apparition des symptômes s'explique par l'interaction entre la plante et le nématode vecteur.

Le test DAS- ELISA a confirmé les observations directes des symptômes de la maladie, d'où la présence du virus recherché . Nous avons enregistré des réponses positives sur toutes les variétés testées . Le test DAS-ELISA a donc révélé 9 réponses positives sur les 25 plantes saines à l'origine . Le taux d'infection des plantes par le virus du court- noué par intermédiaire des nématodes était de 36 % . Tous les plantes présentant

les symptômes ont répondu positifs au test DAS-ELISA . Ce résultat a bien montré que les plantes étaient atteintes par le *GFLV* . Donc les nématodes présent dans le sol provenant des différents stations étaient virulifères et ont pu transmettre le virus aux différentes variétés de vignes inoculées. En effet au cours de leur prise de nourriture , les nématodes vecteurs *X. Index* et *X. italiae* ont injecté les particules du *GFLV* à l'intérieur des plants de vignes saines au préalable. Les particules virales du *GFLV* se sont répliquées et propagées dans les plantes qui ont extériorisé des symptômes. D'après ces résultats , il ressort qu'il y a une efficacité de la transmission du *GFLV* par nématodes vecteurs *X. index* et *X. italiae* . La vérification de la transmission du *GFLV* par les *X. index* et *X. italiae* a été entreprise soit en plantant des vignes saines dans des vignobles infectés [115] ; ou dans des pots de terre provenant de vignobles contaminés [64] les plantes saines au préalable ont extériorisé des symptômes caractéristique de la maladie

CONCLUSION

Le virus du court noué est classé parmi les maladies de quarantaine. Il appartient au genre des *Nepovirus*, il se transmet par *X index* et *X italiae*. En Algérie, les travaux de recherche sur ce sujet sont restreints et limités à des études de vérification de l'absence de la maladie dans les vignobles algériens.

Les prospections effectuées sur vignoble algériens dans différentes stations : 2 parcelles de la station de Chiffa , 2 parcelles de la station de Médéa, une parcelle de la station expérimentale d'agronomie de Blida, une parcelle dans la station d' El Affroun et une parcelle dans la station Bourroumi, une parcelle dans la station Hamr El Ain et enfin une parcelle dans la station de Hoceinia. Les symptômes sur terrain correspondent à des malformations des rameaux (fasciations, raccourcissement des entre nœuds, bifurcation anormal) ; des malformations des feuilles (nervation irrégulière, des panachures réticulées et ordinaires). La sévérité des symptômes était très marquée au niveau des stations de Bourroumi et de Hamr El Ain . On a remarqué que la sévérité des symptômes était modérée dans les stations de Chiffa et de Mouzaia. Pour la station d'El Affroun , on a constaté un dépérissement de quelque plants , avec une sévérité des symptômes moins forte que celle de la station de Bourroumi et de Hamr El Ain.

L'étude de la nématofaune des différentes stations (Chiffa, Médéa et Blida) a relevé la présence de deux espèces de nématodes reconnus comme des vecteurs potentiels du court-noué *X index* et *X italiae*. Cette présence était enregistrée dans toutes les stations étudiées . D'autres espèces non vectrices du genre *Xiphinema* ont été identifiées (*X. americanum*, *X. mediterraneum*, *X. turicum* et *X. reversi*). Seulement *X. americanum* et *X. mediterraneum* étaient présente dans toutes les stations prospectées avec des effectifs moyens très élevés par rapport aux espèces de *X index* et *X italiae*). On note que la présence de *X. americanum* n'a jamais été signalée dans nos vignobles. Cette espèce affiche une abondance non négligeable et était présente dans la région de Médéa, Chiffa et de Blida.

Les résultats obtenus en DAS- ELISA étaient positifs pour toutes les stations confondues, ce qui confirme la présence du *GFLV* dans notre vignoble . Le taux d'infection par ce virus dans le vignoble était de 45,40% sur l'ensemble des échantillons testés. Nous avons enregistré au niveau des stations de Bourroumi et de Hamr El Ain, des taux d'infection très élevés 80,50 % et 79,82 % respectivement. Le taux d'infection était faible 20 % dans la station de Blida .

La présence du *GFLV* est confirmée sur vigne en Algérie, ainsi que celle des vecteurs du *GFLV*. Il s'agit des nématodes du genre *Xiphinema* qui sont connues de part le monde comme étant des vecteurs potentiels du court- noué. La présence de *X index* et *X italiae* dans les stations infectées (Chiffa et Médéa) par le *GFLV* était variable. Cette variabilité était due à l'ancienneté des vignobles et aux conditions climatiques des régions ainsi qu'à la texture des sols qui sont favorables au développement de ces espèces et de leur maintien. ou au non respect de la rotation .Dans la station de Blida, les tests biologiques et immunoenzymatiques ont confirmé la présence de la maladie , cependant , l'analyse nématofaune a montré une absence totale de *X index* et un nombre très faible de *X italiae*, alors que la propagation de la maladie peut être due à un autre vecteur , soit l'homme, ou que les ceps utilisés ont été déjà infectée par le *GFLV*.

L'étude de l'efficacité de la transmission du virus par les nématodes vecteurs *X index* et *X italiae* a donné des résultats positifs. Les résultats ont confirmé l'inoculation des plantes saines de vigne par le *GFLV* par l'intermédiaire des espèces de nématodes.

Le test DAS- ELISA a confirmé les observations directes des symptômes et la présence du virus recherché . Nous avons enregistré des réponses positives pour toutes les variétés testées . Le test DAS -ELISA a donc révélé 9 réponses positives sur les 25 plants saines à l'origine . Le taux d'infection des plantes par le virus du court- noué par l'intermédiaire des nématodes était de 36 % . La transmission du *GFLV* par *Xiphinema index* et *X italiae* a confirmé que ces nématodes sont les vecteurs potentiels du *GFLV*.

En Algérie , dans le cadre de la lutte contre les virus du court noué, la combinaison judicieusement la rotation , le repos et les traitement du sol est nécessaire. Cette combinaison repose sur des pratiques culturales qui consistent ; à extraire le plus grand nombre de racines lors de l'arrachage et éviter tout transport de terre par l'homme ou le matériel, à maintenir le sol en jachéré pendant un à 2 ans et ne replanter qu'avec des plants indemne de *GFLV* , et enfin à désinfecter par la voir chimique afin de réduire les nématodes vecteurs. A l'avenir , il serait intéressant d'encourager l'emploi des variétés présentant des caractères de résistance au *GFLV* d'une part et à la transmission par le nématode vecteur .

Les nématode vecteurs du genre *Xiphinema* sont difficiles à éliminer du sol, l'enracinement profond de la vigne les rend plus difficiles à atteindre par voie chimique . Les solutions biologiques telles que l'utilisation de champignons nématophages ou des bactéries antagonistes ont connu quelques succès encourageant mais elles restent difficilement applicables à grande échelle.

Actuellement, la lutte conte le court noué repose sur la sélection sanitaire et sur la désinfection des sols à l'aide des nématicides . Outre le coût de la sélection sanitaire et les risques de pollution des eaux souterraines par les nématicides, produits fortement toxique , cette stratégie n'est pas toujours efficace. Jusqu'à présent , aucune variétés résistant au court noué et à sa transmission par nématode vecteur *Xiphinema* n'a été mise au point .

REFERENCES

1. Anonyme, Statistique agricole ". Ed. Ministère de l'Agriculture, Algérie (1984), 36 p
2. Martelli, G. P, "Maladies à virus et semblables au virus dans le bassin méditerranéen " Cours virologie, Italie, (1987 avril), 12p.
3. Galet, J.P., " Les maladies et les parasites de la vigne ". Tome 1(végétaux, champignons, bactéries, viroses et phanérogames). Imprimerie de paysan du midi Montpellier, (1977) , 871p.
4. Bovey R., " Les maladies virales de la vigne : court- noué". Lausanne: Ed. Payot, (1973),120p.
5. Anonyme, " Phénologie de la vigne et travaux de vigneron". (2000), [http// : vin de France. htm](http://vin.de.france.htm)
6. Galet, J.P. , "Précis de viticulture". Ed. Tec. et Dos, Paris, (1983), 582 p.
7. Bretaudeau, J., "Atlas d'arboriculture fruitière ". Ed. Tec. et Doc., Vol 4, Paris, (1990), 263p.
8. Galet, J.P., : Précis de pathologie viticole. Ed. Tec. et Dos., Paris, (1991) , 264p
9. Anonyme, Statistique agricole. Ed. Ministère de l'Agriculture, Algérie ,(1998), 40 p.
10. Anonyme, Statistique agricole. Ed. Ministère de l'Agriculture, Algérie, (2003),56 p.
11. Anonyme,"Statistique agricole". Ed. Ministère de l'Agriculture, Algérie, (2001), 30 p.
12. Vidaud, J., Charmont, S. et Wagner, R., "Le raisin de table". Ed. CTIFL, Paris, (1993), 293p.
13. Walter, B., "Sanitary selection of the grapevine". Ed. INRA, France, (2000), 225 p.
14. Martelli, G. P, " Classification and nomenclature of virus". Arch. Virol., N°. 4,(2000) 24-185 (*submitted*)
15. Van Regenmortel, M.H., Fauquet, C.M., Bichop, DHL., Carstents, E.B., Estes, M.K., Maniloff, J., Mayo, A.M., Geoch, D.J., Pringle, C.R. et Wichmer, R.B., "The classification and nomenclature of viruses" . The serenth report of international committee on taxonomy of viruses (book). Academic press, Sendiego, (2000), 1167p.

16. Martelli, G. P., "Classification systématique des virus de la vigne". patho. vege. De l'université de Bari. Ed. centre international des hautes études agronomiques mediterraneem. (1997a) ,17p.
17. Hewit, W.B., "Pierce's disease of vitis species in : vitis diseases of small fruits and grapevines . Univ. Calif. Press, Berkeley, (1970), 196-200.
18. Viala, " Les Maladies de la Vigne". Ed. G. Masson, Paris,, (1893), 183p.
19. Pantanelli, G.P., " Sui caratteri morfologici e anatomici del ronchet delle viti americane in sicilia". Rendiconti Regia Accademia dei Lincei, N° 19 (S.V. I sem), (1910), 395-402.
20. Petri, " Nuove vedute sulle cause dell arricciamento dela vite". Rendiconti Regia Accademia dei Lincei, N°27 (S.V, II sem), (1918), 271.
21. Dias, H.F., " Chlorose infecciosa da videira (panachure ou mosaic branco) ". Communçoes 13o Congresso Luso-Espanol sobre Progreso Scientifico, (1950)n, 167p.
22. Quacquarelli, A., Gallitelli, D., Savino, V. et Martelli, G.P., " Properties grapevine fanleaf virus". J. Gen. Virology, N°32, (1976), 349-360
23. Pinck, L., Fuchs, M., Pinck, M., Ravelonandro, M. et Walter, B., " A satellite RNA in grapevine fanleaf virus strain F13". J. Gen. Virology, N° 69, (1988), 233-239.
24. Taylor, C.E. et Brown, D.J.F., " Nematode Vectors of Plant Viruses" . CAB International ,Wallingford,(1997), 286 p.
25. Serghini, M.A., Fuchs, M., Pinck, M., Reinbolt, J., Walter, B. et Pinck, L., " RNA-2 of grapevine fanleaf virus : sequence analysis and coat protein cistron location". J. Gen. Virology,N° 71,(1990), 1433.
26. Ritzenthaler, C., Viry, M., Pinck, M., Margis, R., Fuchs, M. et Pinck, L., " Complete nucleotide sequence and genetic organization of grapevine fanleaf RNA-1". J. Gen. Virology, N°72,(1991) 2357- 2365.
27. Brandt, S. et Himmler, G., " Detection of grapevine fanleaf virus(*GFLV*) from woody material by using immunocapture polymerase chain reaction". Vitis, N° 34 ,(1995),127.
28. Sanchez, F., Chay, C., Borje, Mj., Rewhani, A., Romero, J., Bruening, G., et Ponz, F., " cDNA sequence of capsid protein gene and 3' untranslated region of a fanleaf isolate of *GFLV*". Nucleic Acid. Res., 19 ,(1991),5440.
29. Margis, R., Viry, M., Pinck ,M., et Pinck, L.," Cloning and in vitro characterization of the grapevine fan leaf virus proteinase ciston". Virology, N° 285 (1991) , 779-787.

30. Pinck L., "Grapevine fan leaf Nepovirus systemic proteinase", p.719, in Handbook of proteolytic enzymes (Barrett A. J. et Woesser J. F., Eds), Academic Press, London. (1998), 987 p.
31. Margis, R., Viry, M., Pinck, M., Bardonnnet, N. et Pinck, L., "Differential proteolytic activities of precursor and mature forms of the 24K proteinase of grapevine fan leaf *Nepovirus*". *Virology*, N°200, (1994), 79
32. Walter, B., Martelli, G. P et Pinck, L., "Description of plant viruses : Grapevine fan leaf virus". (2001), [www.dpvweb.net /dpv/ showdpv- php? dpvno=385# intro](http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=385#intro)
33. 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), 907-915.
34. Ritzenthaler, C., Shmit, A.C., Michler, P., Strussi-Garaud, C., et Pinck, L., "Grapevine fanleaf Nepovirus P38 putative movement protein is located on tubules in vivo". *Mol. Plant. Microbe. interact*, N°8, (1995 juin),379- 387
35. Belin, C., Schmitt, C., Gaire, Walter, Demangeat, G. et Pinck, L., "Involvement of RNA-2 capsid proteins in the specific transmission of grapevine fanleaf virus by its nematodes vectors *Xiphinema index*". *J. Gen. Virology*, N°. 80, (1995), 1347.
36. Gaire, P., Schmitt, A.C., Stussi-Garaud, C., Pinck, L. et Ritzenthaler, C., "Protein A2 of grapevine fanleaf nepovirus implicated in replication and colocalises with the replication". *Virology*, N° 264, (1999), 25- 36 .
37. Viry, H., Serghini, M.A., Hans, F., Retzenthaler, C., Pinck, M., et Pinck, L., "Biologically active transcripts from cloned cDNA of genomic grapevine fanleaf virus RNAs". *J. Gen. Virology*, N°74, (1993),169-174.
38. 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), 955.
39. Hans, J.H., Uwe, S. et Harald, P., "Variation of virioid profiles in individual grapevine plants : novel grapevine yellow speckle virioid 1 mutants show alterations of hairpin I. *J. Gen. Virology*, N°.77, (1996), 155-161.
40. Fuchs, M., Pinck, M., Etienne, L., Pinck, L. et Walter, B., "Characterization and detection of grapevine fanleaf virus by using cDNA probes". *Phytopatholog*, V. 81, N°5, (1991), 559.
41. Saldarelli, P., Minafra, F. et Walter, B., "Impiego di ribosomi chemiluminescenti nella certificazione sanitaria del pomodoro". *Vitis*, N° 32, (1993), 99.

42. Huss, B., Müller, S., Sommermeyer, G., Walter, B. et Van Regenmortel, M.H.V., “ Grapevine fanleaf virus monoclonal antibodies: their use to distinguish different isolates. J. Phytopathol., N°119, (1987), 358.
43. Huss, B., Walter, B., Etienne, L. et Van Regenmortel, M.H.V., “ Grapevine fanleaf virus detection in various grapevine organs using polyclonal and monoclonal antibodies. Vitis, N°25, (1986), 178.
44. Rowhani, A., Maningas, M.A., Lile, L.S., Daubert, S.D. et Golinon, D.A., “ Developpement of a detection system for viruses of woody plants based on PCR analysis of immobilized virions“. Phytopathology, N°85, (1996), 347-352.
45. Boscia, D., Martelli, G.P. et Vuittenez, A., ” Protocols for the detection of virus and virus like Diseases ”, p.129, in sanitary selection of the grapevine (Walter B.,ed.), les colloques INRA, n°86, (1997), Paris, 304 p
46. Walter, B. et Etienne, L., “Indagini sulla biologia di *Xiphinema index* Thorne et Allen in vigneti“. J. Phytopathol., N°120, (1987), 355-364.
47. Walter, B., Vuittenez, A., Kuszala, J., Stocky, G., Burckard, J. et Van Regenmortel, M.H.V., “Détection sérologique des virus du court- noué de la vigne par le test ELISA“. Agronomie, N° 4, (1984), 527-534.
48. Esmenjaud, D., Walter, B., Valentin, G., Guo, Z.T. et Cluzeau, D., “ Vertical distribution and infectious potential of *Xiphinema index* (Thorne and Allen, 1950) (*Nematoda: Longidoridae*) in fields affected by grapevine fanleaf virus in vineyards in the Champagne région of France”. Agronomie, N° 12, (1992), 395-399.
49. Esmenjaud, D., Walter, B., Minot, J. C., Voisin, R. et Cornuet, P., “ Biotin- avidin ELISA detection of grapevine fanleaf virus in the vector *Xiphinema index*”. J. Nematol., N°25, (1993), 401-405.
50. Martelli, G. P., “Maladies à virus de la vigne“. Département patho. végétal de l’université de Sassari. Ed. centre international des hautes études agronomiques mediterraneem. (1997b),39p.
51. Martelli, G. P. et Savino, V., “Fan leaf degeneration”, p. 48-49, in Compendium of Grape diseases (Pearson R.C. and Goheen A.C., Eds.). American Phytopathological Society Press, St Paul, Minnesota. (1988), 93p.
52. Bovey, R., Gärtel, W., Hewitt, W.B., Martelli, G.P. et Vuittenez, A., ”Virus and virus-like diseases of grapevines, Atlas en couleur des symptômes”. Lausanne: Ed. Payot, (1980),181p.
53. Rives, M., “ Maladies à virus de la vigne , traité d’ampélogie science et technique de la vigne”. V. 2. Ed. Dunod, Paris,(1971), 67p.

54. Raski, D.J., "La protection phytosanitaire en viticulture". Rev. Sui. Vit. Arbo. Hortic., N°1, (2000), 16-20.
55. Gerola, F.M., Bassi, M. et Belli, G., "An electron microscope study of different plants infected with grapevine fanleaf virus". Gio. Botan. Italiano., V.103, (1969), 271.
56. Kalasjan, J.A., Litvak, L.A. et Marinesku, V.G., "Tuburlare strukturen in gewebe der weinrebenach infektion mit dem virus der reisighrankheit (grapevine anleaf virus)". Arch. Phytopathol, Pflanzenschutz ,N°. 15,(1979), 373-376.
57. Pena, Iglesias, et Rubio, Huertos,"Ultrastructure de hogas de *Chenop oduim quinea* willd, infectada con el virus enrrenudo corto infeccioso de la vid". Micr. Española, N°24, (1971), 184-190.
58. Saric, A. et Wrischer, M., "Fine structure changes in different host plants induced by grapevine fanleaf virus". Phytopathol., N° 84, (1975), 97-104.
59. Savino, V., Boscia, D. et Martelli, G.P., "Incidence of some graft-transmissible virus-like diseases of grapevine in visually selected and beat treated from southern Italy". Proceedings of the 8h Meeting of ICVG, Bari , Sassari, Research , (1985), 251p.
60. Pfeiffer, Ritzenthaler, Gaire, Schmitt C., Rohfritsch L., Pinck L. et Stussi-Garaud, Grapevine fanleaf virus replication occurs on endoplasmic reticulum-derived Membranes Extended Abstracts of the 13th Meeting of ICVG, Adelaide , (2001), 63p
61. Dunez ,J., " Maladie à virus et de type viral des arbres fruitieres à noyaux. Cours international de la protection des cultures fruitieres méditerranéennes". IAM, Bari, (1998),64 p.
62. Davis, M. et Clark, M.F. , "Arabis mosaic virus". Prog. Agric. et vitic., N°22 (mars, 1999), 913-916.
63. Hewitt, W.B., Raski, D. J. et Goheen, A.C., " Nematode vector of soil- borne fanleaf virus of grapevines. Phytopathology, N°48, (1958), 586-595.
64. Anonyme, " Vecteurs of plants virus". (2002), [http:// plpnemweb. Uc-davis. Edu/nemaplex /phnt para/pit.virus.htm](http://plpnemweb.Uc-davis.Edu/nemaplex /phnt para/pit.virus.htm)
65. Martelli, G.P. et Taylor,C.E ., "Distribution of virues and their nematode vectors". Adva. Dis. vector Res., N°6, (1989), 151-189.
66. Dias, H.F. et Raski, D.J., "Vector efficiency of *Xiphinema index* in the transmission of grapevine fanleaf virus". Nematologica, N°14, (1968), 55-62
67. Taylor, C.E. et Robertson, W. M., "Acquisition, relation and transmission of viruses by nematode", p. 253-276 , in nematodes vectors of plants viruses. Plenum press, N. York., (1975), 629p

68. Raski, D.J., Hewitt, W.B., Goheen, A.C., Taylor, C.E. et Taylor, R.H., "Survival of *Xiphinema index* and reservoirs of fanleaf virus in fallowed vineyard soil". *Nematologica*, N°11, (1965), 349-352.
70. Howard, A., "*Xiphinema index*, description of morphology. (1999), [ww. Bondy. ird.fr](http://www.bondy.ird.fr)
71. Brown, D.J.F., Robertson, W.N. et Trudgill, D.L., "Transmission of viruses by plant nematodes". *Ann. Rev. phytopathol.*, N°33, (1995), 223-249.
72. Taylor, C.E. et Robertson, W.M., "Sites of virus retention in the alimentary tract of the nematode vectors *Xiphinema discersicaudatum* Micol and *X.index* Thorne and Allen". *Ann. Appl. Biology*, N°66, (1970), 375-380.
73. Lorrain, Les nématodes vecteurs de la dégénérescence infectieuse de la vigne de l'utilisation d'une analyse nématologique. *Pro. Agri. et Viti.*, V.144, N°15-16, (1997), 338-341.
74. Anonyme, "Phytopathologie". (2001), [http:// plpnemweb. Uc-davis. Edu](http://plpnemweb.Uc-davis.Edu)
75. Dalmasso, A., "Etude anatomiques et taxinomiques des genres *Xiphinema*, (*Nematoda*, *Dorylaimida*)". *Ann. App. Zool.*, N° 61, (1968), 33-82.
76. Hunt, D.J., "*Aphelenchida*, *longidoridae* and *Trichodoridae* : their systematic and bionomics. CAB international, Wallingford, (1993), 352p.
77. Vrain, T.C., Wabarchuk, D. et Hamilton, R.I., "A ribosomal DNA probe from *Xiphinema bricolensisii* to identify *Xiphinema* species". *Nematologica*, N°36, (1990), 399.
78. Blok V.C., Furgette Mj. Ms. et Trudgill D.L., "Inter and intra species relationships in root knot nematodes, *Meloidogyne sp*". *Ann. Repot. Scottish. Cop. research. Inst.*, (1993), 114-116.
79. Bunows, P.R., Smoker, M. et Grisi, M.E.S., "Sequence and genomic organisation of novel repetitive DNA element from potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Mol. Bioc. Parasitol.*, V. 75, n° 1/2, (1995), 245- 248.
80. Maggenti, A. R., "*Nematoda*, p 147-187, in higher classification (W.R. Nickle, Ed.)". *Mann. Agri. Nematology*, Marcel Dekker, New York, (1991), 501p.
81. Maggenti, A. R., "Nematoda : higher classification as influenced by species and family concepts, p 25-40, in Concepts in nematode systemic (Stone, A.R., Platt, H.M. and Khalil, L.T., Eds)". *Academic Press*, New York, (1983), 230p
82. Taylor, C.E., "Introduction à la recherche sur les nématodes phytoparasites". *Mannel F.A.O.*, (1968), 135 p

83. Dalmasso, A. , " Etude anatomique et taxomonique des genres *Xiphinema*, *Longidorus* et *paralongidorus* (*Nematoda*, *Dorylaimoidea*)". Men. Mus. hist. Nat., Paris serie A, Zoologie, N°. 61, (1971), 32-33 .
84. Coiro, E. et Agostinelli, B. , "The developpement of juveniles stages of *Xiphinema index* on *vitis vinifera*". Rev. Nematol., N°. 14 ,(1991), 16-29
85. Siddiqi, M.R., "*Xiphinema index* " , CIH description of plant parasitic nematode set 3. N°45. Common weath agricultural bureau, England, (1974), 4p.
86. Lamberti, F., Prota, V., Bleve-Zacheo, T. et Garou, R.," Studies on the life cycle of *Xiphinema index*". Nematol. Medit., N°. 5, (1977), 299-303
87. Lamberti, F. et Martelli, G.P., "On the distribution of *Xiphinema index* Thorne and Allen in some appulian vineyards ". Proceedings of the International Conference on Virus and Vector on Perennial Hosts, with Special Reference to Vitis, (1965) ,353p.
88. Dalmasso, A. et Cuany , " Importance de la transmission par le sol de la dégénérescence infectieuse de la vigne dans l'Algérois". Bull. phytosanitaire , F.A.O.,V.17, (1969), 3p.
89. Cohn, E., Tanne, E. et Nitzany, FE., "*Xiphinema italiae* a new vector of grapevine fanleaf virus . Phytopathology, V. 60 , (1970), 181-182.
90. Cohn, E., "*Xiphinema italiae*." , CIH description of plant parasitic nematodes Set 7, N° 95, p. 3 St. Albans, Commonwealth Inst. Helminthol. , (1977), 3p.
91. Martelli, G.P., Cohn, E. et Dalmasso, N., "A description of *Xiphinema italiae* Meyl, 1953 and its relationship to *Xiphinema arenraruim* Luc et Dalmasso, 1963 and *Xiphinema conuruim* Siddiqi, 1964 ". Nematologica, N°.12, (1966), 183-194.
92. Anonyme, "*Xiphinema italiae*" : in Crop protection compendium, global module, 3rd edition. CAB International, Wallingford, (2001) ,12 p.
93. Heyns J., " The genus *Xiphinema* in South Africa. I. *X. amiricanum* Group (*Nematoda*, *Dorylaimida*). Phytophylactica, N°. 6, (1974), 157-164
94. Martelli, G. P, " Virus and virus like diseases of grapevine in Algeria ". Rapport to the government of Algeria, F.A.O, Rome, (1985), 53p.
95. Boussalem, M., " Contribution à l'étude du court-noué dans les pépinières de l'Algérois". Mem. Ing. Agro. INA, El Harrach, (1981), 85p.
96. Hadji, Z., " Identification biologique et sérologique du virus du court- noué de la vigne dans la région de Benchicao (Médéa) ". Mem. Ing. Agro. Blida, (1991), 28 p.
97. Nemeth , " Virus, mycoplasma and richettsio of fruit trees". Ed. N. Martinus, (1986) , 841p.

98. Clark, M.F. et Adams M.F., "Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses". J. Gen. Virology, V. 34, (1977), 475-483.
99. Martelli, G.P. et Prota, U., "Virosi della vite". Est. Iita. Aagir., N° 2, (1984) 201-228
100. Martelli, G.P., "Nematode-borne viruses of grapevine, their epidemiology and Control". Nematol. Medit., N° 6, (1978), 1-27
101. Benfreha, Z.F., "Revue critique des méthodes d'études des modifications intras structurales entraînées par le virus de la vigne : Essai d'adaptation de la méthode de HIRCH et FEDORKO à l'étude du court noué chez la sultanine". Mem. Ing. Agro. INA, El Harrach, (1987), 37p.
102. 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), 87p.
103. Nakachain, I.N., "L'analyse nematologique". Ed. Acta, paris, (1977), 7611-7910
104. Esmenjaud, D., "Les nématodes de la vigne". Phytoma, N° 374, (1986), 24-27
105. Lamberti, F., et Bleve-Zacheo, T., "Studies on *Xiphinema americanum sensu lato* with descriptions of fifteen new species (*Nematoda, Longidoridae*)". Laboratorio di nematologia agraria del C.N.R., (1979), 51-106
106. Lamberti, F. et Martelli, G.P., "Notes on *Xiphinema mediterraneum* (*Nematoda, Longidoridae*)". Nematologica, V.17, (1971), 75 - 81.
107. Dagnelie, P., "Théorie et méthodes statistiques. Etud. Press. Agro., Gembloux, V. 2, (1975), 468p.
108. Mothes, J., "Prévisions et décisions statistique dans l'entreprise". Ed. Dunord, Paris, (1968), 622p
109. Mekhoukh, A., "Contribution à l'étude d'un inventaire des nématodes phytophages des cultures ornementales et florales". Mem. Ing. Agro. Blida, (1989), 57p.
110. Kaddad, Benchiha, A., "Contribution à l'étude des nématodes de genre *Xiphinema* Cobb 1973, vecteur des viroses dans la région de Mostaganem". Mem. Ing. Agro. INA, El Harrach, (1977), 67p
111. Quraishi, M.A., "The fluctuation of population of certain plant parasitic nematodes under the effect of fertilizers (N.P.K.) in grapevine yards of Hyderabad". Proc. ind. Acad. parasitology, N°6, V 1, (1985), 89-92.

112. Coiro E. , Taylor C.E et Lamberti F. ,”Population changes in *Xiphinema index* in relation to host plant, soil type and temperature in southern Italy”. Nematol. Medit., V. 15, (1987), 173-181
113. Vuittenez, A. , Kuszala, J., Legin, R., Stocky, G., Pejcinovski, I. et Heyd, G., ”Phenomenes d’interaction entre souches de virus Nepo infectant la vigne” . Proceedings of the 6th conference on virus diseases of the grapevine , Monografias INIA, N° 18 (1978), 59-68.
114. Vuittenez, A. et Kuszala, J., ” Souche de virus à haute agressivite isolées des vignes atteintes de dégénérescence infecteuses ” . Etud. Virolog. Appli., N°4 (1963), 133.
115. Frezal, P.,“ Le court noué de la vigne ”. Bull. Soc. Agriculture d’Algérie, (1950), 130-144

ANNEXE A

Tampon utilisé :

Pour la réalisation de l'inoculation mécanique nous avons utilisé : le tampon, phosphate 0,1 M pH 7,3.

- Phosphate monopotassique KH_2PO_4 à 0,1 M 13,60 g/l d'eau distillée.

- Phosphate dissodique Na_2HPO_4 à 0,1 M 14,60 g / l d'eau distillée

Pour ajuster le pH entre 7,0 et 7,5 , il faut additionner un volume de KH_2PO_4 , à deux volumes de Na_2HPO_4 .

Les solutions tampons

Les solutions qui ont été préparées pour la réalisation du test ELISA sont fournies dans le kit BOI - RAD sous formes de concentré.

Solutions	pH	Composition	Rôle
Phosphate buffer saline (P.B.S)	7,4	Na Cl 8,4 g KH_2PO_2 0,2 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 12\text{H}_2\text{O}$ 2,9 g KCl 0,2 g NaN_3 0,2 g Eau distillée 1000 ml	Solution de base permettent la réparation d'autres solutions tampons
Solution de lavage	7,4	PBS 1000 ml Tween 20 0,5 ml	Lavage des plaques de microtitrations
Solution du substrat	8,0	Diéthanolamine 97 ml NaN_3 0,2 g Eau distillée 1000 ml	Dilution du substrat de l'enzyme paranitorphenyl-phosphate
Solution de broyage	9,8	PBS 1000 ml Poly-vinyl-pyrrolidone 20 g Tween 20 0,5 ml	Extraction et conservation des virus
Solution du conjugué	7,4	PBS 1000 ml Poly-vinyl-pyrrolidone 20 g Ovalbumine 0,2 g Tween 20 0,5 ml	Solution de conjugué permet sa dilution
Solution de fixation	9,6	Na_2CO_3 1,5 N NaHCO_3 2,93 g NaN_3 0,2 g	Solution de sensibilisation permet la dilution des anticorps et leur fixation aux plaques

ANNEXE B

Protocole – DAS- ELISA :

Etape 1 : Fixation des anticorps

Diluer les anticorps au 1/100^{ème} dans le tampon de fixation.

Pour une plaque diluer avant utilisation

Tampon fixation	10 ml
Anticorps	100 μ l

Incubation : 2 h à 37°C

Lavage : 3 lavages avec du PBS-Tween.

Etape 2 : Dépôt des échantillons

Selon les échantillons à broyer au 1/3, 1/5 ou 1/10 dans un tampon de broyage adapté . Les jus peuvent se conserver 12 h +2-8 °C. Préparation des témoins : ils sont lyophilisés et doivent être réhydratés dans 1 ml d'eau distillée. Après hydratation, les témoins doivent être conservés à +2 à 8 °C et utilisés dans la journée.

Incubation : 1 nuit à +2-8 °C

Lavage : 2 lavages PBS-TWEEN avec 3 min d'incubation du tampon lavage .

Etape 3 : Dépôt des anticorps conjugués

Diluer les anticorps conjugués au 1/100^{ème} dans le tampon du conjugué.

Pour une plaque diluer juste avant utilisation :

Tampon conjugué	10 ml
Anticorps conjugués	100 μ l

Incubation : 2 h à 37°C

Lavage : 3 lavages avec du PBS-Tween.

Etape 4 : Dépôt du substrat

Dissoudre le PNPP juste avant utilisation dans le tampon de substrat

Pour une plaque diluer juste avant utilisation :

Tampon substrat	10 ml
PNPP	100 mg

Incubation : 15 min à 37 °C puis à température ambiante

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

1.6- Lecture et Interprétation :

Les densités optiques (DO) sont lues avec un lecteur de plaque à la longueur d'onde de 405 nm. Pour calculer les absorbances, les valeurs de DO des tampons, témoins et échantillons sont les valeurs brutes diminuées de la DO du substrat.

$$DO \text{ échantillon} = DO \text{ brute} - \text{Moyenne des puits substrat}$$

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

TP : Tampon T+ : Contrôle positif T- : Contrôle négatif 1,2,..... échantillon

ANNEXE C

Tableau 1 : Valeurs en D.O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon de de sation 1

N°Ech.	Groupe et variété	Organe teste	DO DAS-ELISA	GFLV
Témoin sain	Porte-greffe SO4	Rameaux	0.094	-
Témoin malade			0.320	+
01			0.115	-
02			0.178	-
03			0.167	-
04			0.228	+
05			0.225	+
06			0.167	-
07			0.218	+
08			0.132	-
09			0.148	-
10			0.282	+
11			0.304	+
12			0.300	+
13			0.125	-
14			0.123	-
15			0.154	-
16			0.310	+
17			0.118	-
18			0.227	+
19			0.135	-
20			0.129	-
21			0.222	+
22			0.187	-
23			0.158	-
24			0.249	+
25			0.165	-
26			0.125	-
27		0.128	-	
28		0.158	-	
29		0.233	+	
30		0.138	-	
31		0.149	-	
32		0.225	+	
33		0.157	-	
34		0.128	-	
35		0.149	-	
36		0.340	+	
37		0.310	+	
38		0.111	-	
39		0.128	-	
40		0.401	+	
41		0.167	-	
42		0.139	-	
43		0.220	+	
44		0.144	-	
45		0.164	-	
46		0.339	+	
47		0.186	-	
48		0.164	-	
49		0.309	+	
50		0.149	-	
51		0.341	+	
52		0.131	-	
53		0.236	+	
54		0.122	-	
55	0.266	+		
56	0.279	+		

Tableau 2 : Valeurs en D.O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon de de sation 1

N°Ech.	Groupe et variété	Organe teste	DO DAS-ELISA	GFLV
Témoin sain			0.094	-
Témoin malade			0.320	+
57			0.168	-
58			0.157	-
59			0.112	-
60			0.280	+
61			0.308	+
62			0.321	+
63			0.175	-
64			0.133	-
65			0.360	+
66			0.166	-
67			0.280	+
68			0.127	-
69			0.182	-
70			0.319	+
71			0.315	+
72			0.183	-
73			0.176	-
74			0.289	+
75			0.128	-
76			0.130	-
77			0.168	-
78			0.159	-
79			0.187	-
80			0.200	+
81			0.110	-
82			0.260	+
83			0.109	-
84	Porte-greffe SO4	Feuilles	0.146	-
85			0.128	-
86			0.122	-
87			0.152	-
88			0.145	-
89			0.251	+
90			0.129	-
91			0.140	-
92			0.134	-
93			0.157	-
94			0.164	-
95			0.170	-
96			0.160	-
97			0.125	-
98			0.138	-
99			0.158	-
100			0.129	-
101			0.136	-
102			0.144	-
103			0.154	-
104			0.168	-
105			0.159	-
106			0.101	-
107			0.121	-
108			0.110	-
109			0.145	-
110			0.171	-
112			0.199	+
113			0.181	-
114			0.161	-

Tableau 3: Valeurs en D.O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon de parcelle 2 de station

N° Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	GFLV
Témoin sain			0.094	-
Témoin malade			0.320	+
115			0.186	-
116			0.171	-
117			0.131	-
118			0.175	-
119			0.154	-
120			0.166	-
121			0.190	+
122			0.172	-
123			0.133	-
124			0.200	+
125			0.199	+
126			0.132	-
127			0.101	-
128			0.201	+
129			0.104	-
130			0.115	-
131			0.126	-
132			0.163	-
133			0.109	-
134			0.198	+
135			0.203	+
136			0.157	-
137			0.199	+
138			0.139	-
139			0.122	-
140			0.143	-
141	Différentes variétés	Feuilles	0.158	-
142			0.130	-
143			0.147	-
144			0.200	+
145			0.150	-
146			0.166	-
147			0.173	-
148			0.134	-
149			0.174	-
150			0.208	+
151			0.154	-
152			0.144	-
153			0.184	-
154			0.157	-
155			0.204	+
156			0.198	+
157			0.124	-
158			0.199	+
159			0.174	-
160			0.140	-
161	0.130	-		
162	0.166	-		
163	0.152	-		
164	0.158	-		
165	0.197	+		
166	0.194	+		
167	0.143	-		
168	0.157	-		
169	0.114	-		
170			0.115	-

Tableau 4 : Valeurs en D.O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon de P2 de station 1 (suite)

N° Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	GFLV
Témoin sain	Différents variétés	Feuilles	0.094	-
Témoin malade			0.320	+
171			0.168	-
172			0.339	+
173			0.118	-
174			0.138	-
175			0.122	-
176			0.129	-
177			0.167	-
178			0.132	-
179			0.163	-
180			0.224	+
181			0.238	+
182			0.301	+
183			0.109	-

Tableau 5 : Valeurs en D. O de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon de station 2

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS- ELISA	GFLV
Témoin sain	Variétés	Feuilles	0.097	-
Témoin malade			0.663	+
184			0.162	-
185			0.167	-
186			0.133	-
187			0.190	-
188			0.155	-
189			0.151	-
190			0.187	-
191			0.177	-
192			0.218	+
193			0.220	+
194			0.136	-
195			0.149	-
196			0.127	-
197			0.177	-
198			0.154	-
199			0.168	-
200			0.166	-
201			0.260	+
202			0.207	+
203			0.130	-
204			0.158	-
205			0.149	-
206			0.122	-
207			0.121	-
208			0.167	-
209			0.158	-
210			0.206	+
211			0.146	-
212			0.168	-
213			0.192	-
214	0.179	-		
215	0.155	-		
216	0.189	-		

Tableau 6 : Valeurs en D.O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon station 2 (Suite)

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain			0.097	-
Témoin malade			0.663	+
217	Variétés		0.189	-
218			0.301	+
219			0.210	+
220			0.321	+
221			0.190	-
222			0.157	-
223			0.148	-
224			0.139	-
225			0.152	-
226			0.181	-
227			0.190	-
228			0.229	+
229			0.233	+
230			0.241	+
231			0.132	-
232			0.160	-
233			0.168	-
234			0.122	-
235			0.158	-
236			0.145	-
237			0.167	-
238			0.133	-
239			0.117	-
240			0.251	+
241			0.157	-
242			0.164	-
243			0.259	+
244	Feuilles		0.127	-
245			0.150	-
246			0.146	-
247			0.157	-
248			0.132	-
249			0.122	-
250			0.263	+
251			0.158	-
252			0.180	-
253			0.123	-
254			0.121	-
255			0.135	-
256			0.163	-
257			0.137	-
258			0.164	-
259			0.161	-
260			0.128	-
261			0.170	-
262			0.209	+
263	0.272	+		
264	0.150	-		
265	0.154	-		
266	0.183	-		
267	0.137	-		
268	0.190	-		
269	0.164	-		
270	0.122	-		
271	0.156	-		
272	0.203	+		
273	0.238	+		

Tableau 7 : Valeurs en D.O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon de P1 de station 3

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain			0.097	-
Témoin malade			0.320	+
274			0.209	+
275			0.152	-
276			0.145	-
277			0.155	-
278			0.218	+
279			0.226	+
280			0.214	+
281			0.160	-
282			0.155	-
283			0.240	+
284			0.250	+
285			0.294	+
286			0.191	-
287			0.183	-
288			0.175	-
289			0.171	-
290			0.156	-
291			0.259	+
292			0.230	+
293			0.132	-
294			0.148	-
295			0.167	-
296			0.231	+
297			0.158	-
298			0.219	+
299			0.178	-
300			0.260	+
301		Feuilles	0.136	-
302			0.185	-
303			0.154	-
304	Variétés		0.307	+
305			0.251	+
306			0.300	+
307			0.188	-
308			0.167	-
309			0.158	-
310			0.269	+
311			0.124	-
312			0.290	+
313			0.134	-
314			0.164	-
315			0.200	+
316			0.152	-
317			0.187	-
318			0.167	-
319			0.177	-
320			0.132	-
321			0.111	-
322			0.222	+
323			0.133	-
324			0.110	-
325			0.226	+
326			0.157	-
327			0.173	-
328			0.236	+
329			0.160	-

Tableau 8: Valeurs en D.O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon de P1 de station 3
(suite)

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain	Variétés	Feuilles	0.097	-
Témoin malade			0.320	+
330			0.140	-
331			0.271	+
332			0.170	-
333			0.168	-
334			0.212	+
335			0.173	-
335			0.131	-
336			0.136	-
337			0.158	-
338			0.220	+
339			0.159	-
340			0.150	-
341			0.236	+
342			0.248	+
343			0.125	-
344			0.135	-
345			0.140	-
346			0.270	+
347			0.256	+
348			0.170	-
349			0.166	-
350			0.133	-
351			0.136	-
352			0.121	-
353			0.118	-
354			0.146	-
355			0.122	-
356			0.125	-
357			0.270	+
358			0.150	-
359			0.158	-
360			0.176	-
361			0.136	-
362			0.154	-
363			0.160	-
364	0.149	-		
365	0.123	-		
366	0.147	-		
367	0.187	-		
368	0.134	-		
369	0.177	-		
370	0.120	-		
371	0.113	-		
372	0.225	+		

Tableau 9 : Valeurs en DO de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon de parcelle 2 de station
3

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS- ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain			0.097	-
Témoin malade			0.663	+
374			0.152	-
375			0.148	-
376			0.132	-
377			0.120	-
378			0.155	-
379			0.213	+
380			0.218	+
381			0.208	+
382			0.230	+
383			0.128	-
384			0.212	+
385			0.107	-
386			0.144	-
387			0.156	-
388			0.138	-
389			0.135	-
390			0.147	-
391			0.121	-
392			0.135	-
393			0.158	-
394			0.301	+
395			0.157	-
396			0.310	+
397			0.308	+
398			0.124	-
399			0.158	-
400	Muscat		0.216	+
401			0.220	+
402			0.160	-
403			0.122	-
404			0.210	+
405			0.122	-
406			0.221	+
407			0.229	+
408			0.133	-
409			0.250	+
410			0.160	-
411			0.158	-
412			0.154	-
413			0.245	+
414			0.233	+
415			0.206	+
416			0.230	+
417			0.118	-
418			0.132	-
419			0.144	-
420			0.141	-
421			0.233	+
422			0.112	-
423			0.209	+
424			0.300	+
425		0.299	+	
426		0.135	-	
427		0.147	-	
428		0.201	+	

Tableau 10 : Valeurs en DO de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon de P2 de station 3
(suite)

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS- ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain	Muscat		0.097	-
Témoin malade			0.663	+
429			0.222	+
430			0.158	-
431			0.221	-
432			0.159	-
433			0.141	-
434			0.224	+
435			0.324	+
436			0.127	-
437			0.134	-
438			0.131	-
439			0.125	-

Tableau 11: Valeurs en D.O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillons de station 4

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS- ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain	Dattier Beyrouth	Feuilles	0.097	-
Témoin malade			0.663	+
440			0.111	-
441			0.290	+
442			0.280	+
443			0.299	+
444			0.161	-
445			0.161	-
446			0.158	-
446			0.132	-
447			0.279	+
448			0.122	-
449			0.150	-
450			0.154	-
451			0.155	-
452			0.265	+
453			0.173	-
454			0.265	+
455			0.219	+
456			0.113	-
457			0.220	+
458			0.223	+
459			0.235	+
460			0.119	-
461			0.143	-
462			0.233	+
463			0.213	+
464			0.203	+
465			0.146	-
466			0.110	-
467			0.220	+
468			0.243	+
469			0.253	+
470	0.177	-		
471	0.173	-		
472	0.264	+		
473	0.261	+		
474	Valenci noir	Feuilles	0.254	+
475			0.176	-
476			0.135	-

Tableau 12: Valeurs en D.O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l' échantillons de station 4 (Suite)

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain			0.097	-
Témoin malade			0.663	+
477			0.215	+
478			0.216	+
479			0.133	-
480			0.183	-
481			0.244	+
482			0.170	-
483			0.263	+
484			0.266	+
485			0.256	+
486			0.186	-
487			0.251	+
488			0.164	-
489			0.263	+
490			0.214	+
491			0.184	-
492			0.224	+
493	Muscat	Feuilles	0.226	+
494			0.154	-
495			0.241	+
496			0.237	+
497			0.233	+
498			0.173	-
499			0.233	+
500			0.150	-
501			0.245	+
502			0.219	+
503			0.221	+
504			0.158	-
505			0.139	-
506			0.266	+
507			0.267	+
508			0.251	+
509			0.233	+
510			0.234	+
511			0.247	+
512			0.253	+
513			0.251	+
514			0.151	-
515			0.163	-
516			0.237	+
517			0.158	-
518			0.163	-
519			0.170	-
520			0.118	-
521			0.209	+
522	Dattier Beyrouth	Rameaux	0.282	+
523			0.169	-
524			0.153	-
525			0.248	+
526			0.144	-
527			0.305	+
528			0.156	-
529			0.170	-
530			0.292	+
531			0.214	+
532			0.284	+
533			0.118	-

Tableau 13: Valeurs en D. O. de *GFLV* obtenues en DAS -ELISA pour l'échantillon de station 5

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain			0.094	-
Témoin malade			0.663	+
534			0.211	+
535			0.201	+
536			0.251	+
537			0.248	+
538			0.168	-
539			0.110	-
540			0.183	-
541			0.159	-
542			0.179	-
543			0.228	+
544			0.210	+
545			0.249	+
546			0.209	+
547	Dattier Beyrouth	Feuilles	0.233	+
548			0.206	+
549			0.216	+
550			0.299	+
551			0.156	-
552			0.299	+
553			0.146	+
554			0.260	+
555			0.209	+
556			0.220	+
557			0.238	+
558			0.176	-
559			0.270	+
560			0.299	+
561			0.163	-
562			0.216	+
563			0.220	+
564			0.207	+
565			0.224	+
566			0.236	+
567			0.263	+
568			0.236	+
569			0.337	+
570			0.390	+
571			0.109	-
572			0.261	+
573			0.287	+
574			0.242	+
575			0.209	+
576			0.224	+
577			0.243	+
578			0.214	+
579			0.227	+
580			0.108	-
581			0.242	+
582			0.207	+
583			0.145	-
584			0.208	+
585			0.210	+
586			0.185	-
587			0.216	+
588			0.218	+
589			0.300	+
590			0.291	+

Tableau 14 : Valeurs en D. O. de *GFLV* obtenues en DAS -ELISA pour l'échantillon de station 5 (Suite)

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain			0.094	-
Témoin malade			0.663	+
591			0.282	+
592			0.154	-
593			0.230	+
594			0.239	+
595			0.241	+
596			0.133	-
597			0.268	+
598			0.291	+
599			0.263	+
600			0.265	+
601			0.310	+
602			0.349	+
603			0.174	-
604			0.359	+
605			0.178	-
606			0.315	+
607			0.158	-
608			0.299	+
609			0.240	+
610			0.249	+
611			0.314	+
612			0.319	+
613			0.394	+
614			0.302	+
615			0.299	+
616			0.307	+
617			0.186	-
618	Dattier Beyrouth	Rameaux	0.300	+
619			0.263	+
620			0.288	+
621			0.223	+
622			0.234	+
623			0.177	-
624			0.217	+
625			0.173	-
626			0.219	+
627			0.173	-
628			0.116	-
629			0.244	+
630			0.254	+
631			0.250	+
632			0.331	+
633			0.299	+
634			0.144	-
635			0.218	+
636			0.220	+
637			0.244	+
638			0.230	+
639			0.266	+
640			0.144	-
641			0.220	+
642			0.232	+
643			0.178	-
644			0.203	+
645			0.300	+
646			0.309	+

Tableau 15 : Valeurs en D. O. de *GFLV* obtenues en DAS -ELISA pour l'échantillon de station 5 (Suite)

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain	Dattier Beyrouth	Rameaux	0.094	-
Témoin malade			0.663	+
647			0.155	-
648			0.311	+
649			0.319	+
650			0.350	+
651			0.328	+
652			0.319	+
653			0.320	+
654			0.341	+
655			0.291	+
656			0.354	+
657			0.389	+
658			0.372	+

Tableau 16: Valeurs en D. O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon de station 6

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain	Dattier Beyrouth	Feuilles	0.094	-
Témoin malade			0.663	+
659			0.163	-
660			0.365	+
661			0.288	+
662			0.437	+
663			0.536	+
664			0.485	+
665			0.289	+
666			0.179	-
667			0.362	+
668			0.313	+
669			0.320	+
670			0.355	+
671			0.183	-
672			0.366	+
673			0.340	+
674			0.441	+
675			0.123	-
676			0.445	+
677			0.433	+
678			0.335	+
679			0.551	+
680			0.502	+
680			0.147	-
682			0.351	+
683			0.539	+
684			0.521	+
685			0.541	+
686			0.490	+
687			0.175	-
688			0.499	+
689			0.438	+
690			0.441	+
691			0.466	+
692			0.436	+
693	0.180	-		
694	0.118	-		

Tableau 17 : Valeurs en D. O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l' échantillon de station 6 (Suite)

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain			0.094	-
Témoin malade			0.663	+
695			0.431	+
696			0.389	+
697			0.163	-
698			0.443	+
699			0.261	+
700			0.443	+
701			0.476	+
702			0.185	-
703			0.340	+
704			0.356	+
705			0.378	+
706			0.399	+
707			0.158	-
708			0.445	+
709			0.431	+
710			0.185	-
711			0.420	+
712			0.388	+
713			0.318	+
714			0.179	-
715			0.396	+
716			0.361	+
717			0.153	-
718			0.393	+
719			0.383	+
720			0.355	+
721			0.399	+
722	Dattier Beyrouth	Feuilles	0.149	-
723			0.356	+
724			0.462	+
725			0.381	+
726			0.163	-
724			0.378	+
725			0.341	+
726			0.379	+
727			0.392	+
728			0.145	-
729			0.400	+
730			0.420	+
731			0.388	+
732			0.418	+
733			0.282	+
734			0.291	+
735			0.360	+
736			0.184	-
737			0.240	+
738			0.312	+
739			0.309	+
740			0.289	+
741			0.260	+
742			0.255	+
743			0.351	+
744			0.354	+
745			0.290	+
746			0.292	+
747			0.237	+

Tableau 18 : Valeurs en D. O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l' échantillon de station 6 (Suite)

N. Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain	Dattier Beyrouth	Rameaux	0.094	-
Témoin malade			0.663	+
748			0.244	+
749			0.132	-
750			0.263	+
751	Porte-greffe 41B	Feuilles	0.245	+
752			0.123	-
753			0.253	+
754			0.236	+
755			0.220	+
756			0.182	-
757			0.177	-
758			0.244	+
760			0.266	+
761			0.271	+
762			0.096	-
763			0.620	+
764			0.239	+
765			0.280	+
766			0.158	-
767			0.238	+
768			Rameaux	0.239
769	0.394	+		
770	0.181	-		
771	0.173	-		
772	0.298	+		

Tableau 19 : Valeurs en D.O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l' échantillon de station 7

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS-ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain	Variété Muscat	Feuilles	0.096	-
Témoin malade			0.620	+
773			0.132	-
774			0.145	-
775			0.148	-
776			0.167	-
777			0.157	-
778			0.296	+
779			0.131	-
780			0.122	-
781			0.134	-
782			0.293	+
783			0.271	+
784			0.246	+
785			0.252	+
786			0.243	+
787			0.164	-
788			0.182	-
789			0.248	+
790			0.251	+
791			0.260	+
792			0.279	+
793			0.233	+
794			0.124	-
795			0.132	-

Tableau 20 : Valeurs en D.O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon de station 7 (Suite)

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS- ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain			0.096	-
Témoin malade			0.620	+
796			0.145	-
797			0.148	-
798			0.167	-
799			0.157	-
800			0.296	+
801			0.131	-
802			0.122	-
803			0.134	-
804			0.293	+
805			0.271	+
806			0.246	+
807			0.252	+
808			0.123	-
809			0.164	-
810			0.182	-
811			0.248	+
812			0.251	+
813			0.260	+
814			0.279	+
815			0.233	+
816			0.124	-
817			0.165	-
818			0.225	+
819			0.243	+
820	Variété Muscat	Feuilles	0.298	+
821			0.273	+
822			0.263	+
823			0.251	+
824			0.135	-
825			0.115	-
826			0.254	+
827			0.212	+
828			0.167	-
829			0.296	+
830			0.140	-
831			0.167	-
832			0.111	-
833			0.129	-
834			0.237	+
835			0.190	-
836			0.158	-
837			0.154	-
838			0.140	-
839			0.167	-
840			0.150	-
841			0.256	+
842			0.120	-
843			0.112	-
844			0.106	-
845			0.135	-
846			0.137	-
847			0.234	+
848			0.166	-

Tableau 21 : Valeurs en D.O. de *GFLV* obtenues en DAS- ELISA pour l'échantillon de station 7 (Suite)

N°Ech.	Groupe et variétés	Organe teste	DO DAS- ELISA	<i>GFLV</i>
Témoin sain	Variété Muscat	Feuilles	0.096	-
Témoin malade			0.620	+
849			0.164	-
850			0.166	-
851			0.177	-
852			0.187	-
853			0.184	-
854			0.125	-
855			0.167	-
856			0.148	-
857			0.216	+
858			0.134	-
859			0.153	-
860			0.136	-
861			0.173	-
862			0.120	-
863			0.124	-
864			0.138	-
865			0.153	-
866			0.190	-
867			0.181	-
868			0.124	-
869			0.123	-
870			0.134	-

ANNEXE D

Extraction de nématode :

Matériel :

- Deux seaux en plastique de 10 litres de contenance.
- Une passoire dont les mailles sont de 1mm
- Un agitateur ou autre instrument de mélange.
- Un tamis de 40 µm.
- Une pissette.
- Boite de Pétri.
- Un morceau d'un grillage de petites mailles en plastique servant de support.
- Tissus et papier filtre.

Pechage et fixation :

Matériel :

- Coupelles.

- Une pèche.
- Une pince à bois.
- Dent aiguisée à pointe très fine ou avec un cil fixe dans un porte aiguille.
- Dessiccateur à alcool.
- Etude à 45°C et 60°C.
- Boite de Pétri.
- Une loupe binoculaire.

- Solution de fixation :

- Eau distillée99 ml
- Acide acétique1 ml
- Formol à 40%10 ml

Montage :

Matériel :

- Loupe binoculaire.
- Lames et lamelles.
- Un cil montée sur un support.
- Glycérine.
- Morceaux de laine de verre de la taille des nématodes.
- Du «Zut », «Glyceel » ou «Vernis à ongle » pour luter les montages sur lame.

ANNEXE E

1.Dénombrement des populations de nématodes observées au niveau d'une même Station

1.1 Station 1 (Chiffa) :

Tableau : Différence des populations dans la parcelles 1

	SCE	DDL	C.M	Test F	Proba	E.T	C.V
Var. totale	1991,00	19	104,97				
Var. F1	935,00	3	311 ,6	3,42	0,0025		
Var .residuelle	1456,00	16	91			13,4	48 %

Proba = 0,0025 différence significative

Tableau : Différence des populations dans la parcelles 2

	SCE	DDL	C.M	Test F	Proba	E.T	C.V
Var. totale	7814,21	19	411,27				
Var. F1	5262,80	3	1754 ,27	11,00	0,0004		
Var .residuelle	2551,40	16	159,46			11,63	49,8 %

Proba = 0,0004 différence hautement significative

Test de NEWMAN – KEULS

Tableau : Classement des groupes homogènes de facteur : population obtenus

Libelles	Espèce	GROUPES HOMOGENES	
		P1	P2
<i>X. mediterraneum</i>		26 (A)	47 (A)
<i>X. americanum</i>		18 (B)	36 (A)
<i>X. index</i>		22 (A)	10(B)
<i>X. italiae</i>		12 (B)	10 (B)

1.2 Station 2 (Médea) :

Tableau : Différence des populations dans la parcelles 1

	SCE	DDL	C.M	Test F	Proba	E.T	C.V
Var. totale	4823,92	19	253,89				
Var. F1	2155,29	3	718 ,43	4,31	0,0208		
Var .residuelle	2668,68	16	166,79			12,91	90,3 %

Proba = 0,0208 différence significative

Tableau : Différence des populations dans la parcelles 2

	SCE	DDL	C.M	Test F	Proba	E.T	C.V
Var. totale	11212,00	19	590,11				
Var. F1	6100,00	3	2033,33	6,36	0,0049		
Var .residuelle	5112,00	16	319 ,50			17,87	39,1 %

Proba = 0,0049 différence hautement significative

Test de NEWMAN – KEULS

Tableau : Classement des groupes homogenes de facteur : population obtenus

Libelles	Espèce	GROUPES HOMOGENES	
		P1	P2
<i>X. mediterraneum</i>		22 (A)	66 (A)
<i>X. americanum</i>		36 (A)	52 (A)
<i>X. index</i>		09 (B)	44 (A)
<i>X. italiae</i>		00 (B)	18 (B)

1.3 Station 3 (Blida) :

Tableau : Différence des populations dans la station de Blida

	SCE	DDL	C.M	Test F	Proba	E.T	C.V
Var. totale	9317,72	19	490,41				
Var. F1	7023,07	3	2341,82	16,32	0,0000		
Var .résiduelle	2294,65	16	143,41			11,98	59,0 %

Proba = 0,0000 différence très hautement significative

Test de NEWMAN – KEULS

Tableau : Classement des groupes homogènes de facteur : population obtenus

Espèce Libelles	GROUPES HOMOGENES
<i>X. méditerranum</i>	44 (A)
<i>X. americanum</i>	33 (A)
<i>X. index</i>	00 (B)
<i>X. italiae</i>	04 (B)

2. Comparaison des populations entre les stations

Tableau : Variation de *X index* dans les trois stations

Analyse de variance	SCE	DDL	C.M	Test F	Proba	E.T	C.V
Var. totale	8739,40	24	364,14				
Var. F1	3146,13	1	3146,13	19,28	0,0000		
Var. F2	2166,50	2	1083,25	6,639	0,0020		
Var. résiduelle	3426,37	21	136,16			12,39	39,7 %

Proba pour le facteur 1 = 0,0000 différence très hautement significative

Proba pour le facteur 2 = 0,0020 différence hautement significative

Tableau : Variation de *X italiae* dans les trois stations

Analyse de variance	SCE	DDL	C.M	Test F	Proba	E.T	C.V
Var. totale	2257,80	24	94,07				
Var. F1	725,33	1	725,33	14,74	0,0000		
Var. F2	528,66	2	264,33	5,46	0,0072		
Var. résiduelle	1015,81	21	48,37			11,90	30,1 %

Proba pour le facteur 1 = 0,0000 différence très hautement significative

Proba pour le facteur 2 = 0,0072 différence hautement significative

Tableau : Variation de *X americanum* dans les trois stations

	SCE	DDL	C.M	Test F	Proba	E.T	C.V
Var. totale	7591,52	24	316,3				
Var. F1	4083,5	1	4083,5	74,74	0,0000		
Var. F2	2360,64	2	1180,3	21,60	0,0000		
Var. résiduelle	1147,38	21	54,63			18,02	45,6 %

Proba pour le facteur 1 = 0,0000 différence très hautement significative

Proba pour le facteur 2 = 0,0000 différence très hautement significative

Tableau : Variation de *X medietrranum* dans les trois stations

	SCE	DDL	C.M	Test F	Proba	E.T	C.V
Var. totale	11068,56	24	461,94				
Var. F1	4589,20	1	4589,20	30,10	0,0000		
Var. F2	3617,00	2	1808,5	12,40	0,0000		
Var . résiduelle	3062,36	21	145,82			10,60	17,1 %

Proba pour le facteur 1 = 0,0000 différence très hautement significative

Proba pour le facteur 2 = 0,0000 différence très hautement significative

Test de NEWMAN – KEULS

Tableau : Classement des moyennes pour le facteur 2 : station

Espèce Libelles	GROUPES HOMOGENES			
	<i>X index</i>	<i>X italiae</i>	<i>X americanum</i>	<i>X mediterraneum</i>
Station 1	16 (B)	11 (A)	27 (B)	36,5 (B)
Station 2	26,5 (A)	09 (A)	40,5 (A)	44,1 (A)
Station 3	00 (B)	04 (B)	38,5 (A)	44 (A)