

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE (EX. AGRONOMIE)

**INVENTAIRE DES NEMATODES VECTEURS DU VIRUS
DU COURT-NOUE (*GFLV*) DE LA VIGNE.**

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention
Du Master II t en sciences de la nature et de la vie
Spécialité : Biologie des interactions plante micro-organisme

Présenté par :

KHENCHELAOUI Karima

Devant le jury composé de :

M ^{me} HADJ SADOUK NEBIH. D	MCB	USDB ₁	Présidente
M ^{me} BELKAHLA. H	Pr	USDB ₁	Promotrice
M ^{me} SABRI. K	MAA	USDB ₁	Examinatrice
Mr IDRIS I	Magister	USDB ₁	Examineur

Soutenu : 16 Septembre 2015

ANNEE UNIVERSITAIRE 2014/2015

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier DIEU TOUT PUISSANT pour nous avoir donné le courage et la détermination nécessaire à réaliser cette thèse de fin d'étude qui compte tant pour notre avenir intellectuel et professionnel.

Nous souhaitons remercier notre directrice de mémoire, Mme BELKAHLA d'avoir accepté de m'encadrer et de m'avoir encouragé et développer ce sujet. Ainsi que pour le temps conséquent qu'elle m'a accordé, ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa franchise et sa sympathie. J'ai beaucoup appris à ses côtés

Nous adresse de chaleureux remerciements à, M^{me} BABAYA, Mr OUATCHEK Mohamed qui m'as beaucoup aidée, Mr BIRI Mourad et M^r Mohamed qui m'en accueillis à bras ouverts dans leur domaine, a Walid le technicien du laboratoire de virologie.

je m'adresse de sincères remerciements à Mme NABIH, d'avoir accepté de présider et de juger mon travail. J'associe à ces remerciements M^{me} SABRI et Mr IDRIS pour avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner mon travail.

Nous souhaitons remercier spécialement, Bechir, lamine et Isra, Imene, nassima, pour leur soutien, leur aide et leur contribution.

MERCI A TOUS !

Dédicace

A ma mère

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous

Les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et Même à l'âge adulte. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissante Préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai Toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. A mes très chers et formidables frères

Mohamed et Brahim, à ma grande sœur Leïla et son mari Fayçal, ainsi qu'à l'épouse de mon grand frère Nadia Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mes très chères tante et oncles, cousin et cousine, amis (Amine, Smitou) qui m'en beaucoup aider et Isra, Mohamed, Vous êtes pour moi des frères, sœurs et des amis sur qui j'ai pu compter.

A toutes l'équipe de virologie 2014-2015.

En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de réussite.

KHENCHELAOUI Karima

RESUME : INVENTAIRE DES NEMATODES VECTEURS DU VIRUS DU COURT-NOUE GFLV DE LA VIGNE.

Le virus du court-noué [*Grapevine fanleaf virus (GFLV)*] est le plus important virus sur vigne, et est transmis par deux espèces de *Xiphinema nématodes vectrices*. Le GFLV a une répartition mondiale. Nos enquêtes expérimentales durant les campagnes 2001-2002 par MELOUK, 2003-2004 par TABOUCHE, 2004-2005 par LECHEB, 2013-2014 par KHENCHELAOUI et GUENANE, 2014-2015 par BRADA et TAMAOUCHT, ont porté sur différentes régions : à vocation viticole. Les résultats du test biologique ont été observés. Ils sont généralement de type systémique caractéristique pour la famille des Cucurbitacées de type éclaircissements des nervures et ou un jaunissement total durant les campagnes 2001-2002 par MELOUK, 2004-2005 par TABOUCHE, 2014-2015, par BRADA et TAMAOUCHT. Les résultats des diagnostics symptomatologiques ont révélés la présence de divers groupes de symptômes type (l'asymétrie du limbe, déformation des feuilles, bifurcation, aplatissement des sarments, croissance en zig-zag et raccourcissements des entrenœuds et double nœuds) dans la quasi-totalité des vignobles prospectés. L'identification immuno-enzymatique par DAS-ELISA a révélé la présence du virus (*GFLV*) dans toutes les régions et variétés confondues. A part la parcelle Bourkika en 2004, Les résultats des analyses des échantillons des sols ont vérifié la présence du genre *Xiphinema index* ET *Xiphinema italiae* nématodes connues vecteurs potentiel du *GFLV* dans les régions et variétés prospectés à l'exception de Ben talha et le cépage Gros noir.

Mots clés : Vigne, *GFLV*, DAS-ELISA, *Xiphinema index*, *Xiphinema italiae*

ABSTRACT: Inventory of nematodes vector of Grapevine fanleaf virus (GFLV).

The fanleaf viruses [*Grapevine fanleaf virus (GFLV)*] are the largest vineyard virus and are transmitted by two species of nematode vector *Xiphinema*. *GFLV* has a worldwide distribution. Our experimental investigations during the seasons 2001-2002 by Melouk, 2003-2004 by TABOUCHE, by LECHEB 2004-2005, 2013-2014 and by KHENCHELAOUI GUENANE, 2014-2015 by BRADA and TAMAOUCHT, focused on different regions to viticultural or in this sector of great importance. The results of biological testing were observed they are usually systemic characteristic type for the family Cucurbitaceae clarification type of ribs and a total or yellowing

during campaigns by Melouk 2001-2002, 2004-2005 by TABOUCHE, 2014-2015, by BRADA and TAMAOUCHT. Symptomatology Diagnostics The results revealed the presence of various symptoms such groups (the asymmetry of the limb, leaf distortion, bifurcation, flattening branches, zigzag growth and shortening of the internodes and double knots) in almost -totality of prospected vineyards. The enzyme-linked immunosorbent identification by DAS-ELISA revealed the presence of virus (*GFLV*) in all regions together and varieties. Besides the Bourkika plot in 2004, the results of soil sample analyzes have verified the presence of the genus *Xiphinema index* and *Xiphinema italiae* nematodes known potential vectors *GFLV* in regions and varieties surveyed except Ben talha and gros noir

Keywords: Grapevine, *GFLV*, DAS-ELISA, *Xiphinema italiae*, *Xiphinema index*.

فيروس العنب :
هو من أهم فيروسات الكروم المنتشرة عالميا حيث ينتقل هذا الفيروس بواسطة النيماتودا
الحنجرية. و قد كان التحقيق التجريبي متركزا في جميع (2001-2002) . (2003-
2004) . (2004-2005) لشهب. (2013-2014) . (2014-2015) . بينت .
نتائج التحليل البيولوجي الفيروس وتم ملاحظة ذلك عن طريق الأعراض المتواجدة في
(2002-2001) . (2005-2004) . (2015-2014)

بعد المعينات DAS-ELISA الفيروس في جميع أصناف العنب و جميع
(2004-2003) . (2005-2004) لشهب. . (2013-2014)
Xiphinema بوركيكا ذلك في 2004 تحليل عينات التربة المحاذية لجذور الكروم المدية أظهرت وجود النيماتودا
المعروفة بنقلها لهذا المرض *Gros noir* (2014-2013) .
italiae . *Xiphinema index* .

الكلمات المفتاحية: *GFLV* . DAS-ELISA . *Xiphinema italiae* . *Xiphinema index* ,

SOMMAIRE

Introduction.....	01
-------------------	----

Chapitre I : Données bibliographiques

1. Etude de la plante-hôte du court noué	03
1.1. Origine et historique de la vigne.....	03
1.2. Exigences climatique.....	04
1.3. Situation actuelle.....	04
1.4. Description morphologique.....	06
1.5. Maladies et ravageurs et de la vigne.....	08
2. Etude du virus du court-noué.....	10
2.1. Taxonomie des virus de la vigne.....	11
2.2. Virus du court-noué.....	12
2.3. Symptomatologie.....	16
2.3.1. Symptôme macroscopique.....	16
2.3.2. Symptôme microscopique.....	21
2.4. Gamme d'hôte.....	22
2.5. Transmission du virus.....	22
3. Etude du vecteur du court-noué.....	23
3.1. Systématique.....	24
3.2. Morphologie.....	25
3.3. Biologie.....	28
3.4. Cycle de vie.....	28
3.5. Distribution géographique	29
3.6. Gamme d'hôte	30
3.7. Mécanisme de la transmission.....	30

Chapitre II : Matériels et méthodes

1. source d'inoculum ou le vecteur.....	32
2. Sites prospectés.....	32
3. Méthodes d'échantillonnage.....	37
4. Détection du virus <i>GFLV</i>	39

4.1. Diagnostic visuel direct.....	39
4.2. Détection biologique.....	39
4.3. Détection sérologique.....	41
5. Analyse nématologique des parcelles	
a. Méthodologie	48
b. Extraction et dénombrement	48
c. Dénombrement.....	50
d. Péchage et Fixation.....	51
e. Montage.....	52

Chapitre III : Résultats et discussions

1. Résultats et discussions de la symptomatologie.	53
2. Résultats du test biologique.....	63
3. Résultats et discussions de la DAS-ELISA.	64
4. Résultats et discussions de l'analyse nématologique.....	66

Conclusion et perspective.....	70
--------------------------------	----

Références bibliographiques.

Listes des figures

Figure 1 : Différentes parties de la vigne.....	7
Figure 2 : Architecture d'un pied de vigne cultivé.....	7
Figure 3 : Organisation génomique et expression des ARN1 ET 2 du grapevine fanleaf virus (<i>GFLV</i>) isolat F3.....	14
Figure 4 : A, B, et C Symptômes de malformation sur sarments du court-noué.....	17
Figure 5 : A, B, et C Symptômes de malformation sur feuilles	18
Figure 6 : A, B, et C Symptômes de panachure ordinaire.....	19
Figure 7 Réduction de la taille des baies et la grappe.....	20
Figure 8 : Symptômes de panachure réticulaire.....	21
Figure 9 : Symptômes microscopiques du cordon endocellulaires.....	21
Figure 10 : Morphologie de <i>Xiphinema index</i>	27
Figure 11 : Morphologie de l'espèce <i>Xiphinema italiae</i>	28
Figure 12 : Répartition du <i>Xiphinema index</i> dans le monde.....	30
Figure 13 : Répartition du <i>Xiphinema italiae</i> dans le bassin méditerranéen.....	31
Figure 14 : Mécanisme de prise de nourriture	32
Figure 15 : Vignoble d'Ain banian.....	34
Figure 16 : Vignoble de Bentalha	35
Figure 17 : Vignoble de Baghlia	35
Figure 18 : Vignoble d'Ain Skhouna	36
Figure 19 : Méthode d'échantillonnage en diagonale.....	37
Figure 20 : Echantillons de feuilles et saremment prélevé	38
Figure 21 : Echantillons du sol prélevé	39
Figure 22 : Préparation des pots	39
Figure 23 : Les étapes d'inoculation mécanique à des hôtes herbacés	40
Figure 24 : Les étapes d'extraction	41
Figure 25 : Plan de la plaque ELISA	42
Figure 26 : Fixation d'anticorps	42
Figure 27 : Incubation de la plaque pendant 4h à 30°C	43
Figure 28 : Lavage avec du tampon PBS-TWEEN	43
Figure 29 : Dépôt des échantillons	44
Figure 30 : La plaque après 1 nuit	44
Figure 31 : Dépôt des anticorps conjugués	45

Figure 32 : lavages avec du tampon PBS-TWEEN	45
Figure 33 : dépôt du substrat	46
Figure 34 : Lecture des résultats	47
Figure 35 : Matériel d'extraction des nématodes	48
Figure 36 : Etapes d'extraction des nématodes et le passage actif	50
Figure 37 : Matériels de dénombrement	50
Figure 38 : Dénombrement et identification morphologique	51
Figure 39 : Symptôme d'un aspect boissonnant.....	54
Figure 40 : Malformation des feuilles	55
Figure 41 : Symptôme sur double nœud	56
Figure 42 : Racourcissement des entre noeuds de la variété Red-globe de Baghlia	57
Figure 43 : Symptôme de racourcissement des entre-nœuds la croissance en Zigzag	57
Figure 44 : Symptôme d'aplatissement sur différents variétés	58
Figure 45 : Symptôme de bifurcation	59
Figure 46 : Réduction du calibre des baies	61
Figure 47 : Panachure ordinaire du limbe.....	61
Figure 48 : Symptôme de jaunissement partiel des ceps.....	61
Figure 49 : Taux d'infection de différents cépages étudiés par test DAS-ELISA.....	64
Figure 50 : Fréquences de différents nématodes en fonction des sites prospectés....	66
Figure 51 : Effectif moyen des espèces de <i>Xiphinema</i> dans les sites prospectés.....	67
Figure 52 : Abondance des espèces de <i>Xiphinema spp</i> en fonction des cépages.....	68

Liste des tableaux

Tableau 1 : Situation viticole 2001/2011 en Algérie.....	5
Tableau 2 : Classements des productions agricoles nationales 2011 en Algérie..	6
Tableau 3 : Classification des virus de la vigne.....	12
Tableau 4 : Principales plantes –hôtes du court-noué.....	22

LISTE DES ABREVIATIONS

A. Virus :

GFLV: Grapevine fanleaf virus.

GLRV: Grapevine leafroll virus.

GALV: Grapevine algerian latent virus.

GLPV: Grapevine line pattern virus.

GVA: Grapevine virus A.

GBLV: Grapevine Bulgarian Latent Virus.

B. Espèce :

C.quinoa: *Chenopodium quinoa*.

C.amaranticolor: *Chenopodium amaranticolor*.

N.clevelandii: *Nictiana clevelandii*.

P. hybride: *Phaseolus hybride*.

C. DIVERS:

FAO

OIV: Organisation Internationale de la vigne et du vin

ARN: Acide ribonucléique.

ARNsb: Acide nucléique simple brin.

ARNsat: ARN satellite.

ORF: Open Reading frame.

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

Poly (A): poly-adenosine.

CP: protéine capside.

DAS-ELISA: Double antibody sandwich-ELISA.

ELISA: Enzyme Linked Immuno sorbent Assay.

TAS-ELISA: Triple antibody sandwich-ELISA.

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

ADN : Acide désoxyribonucléase.

Introduction

La vigne est considérée comme l'une des plus anciennes plantes sur terre. Des traces de son existence relevées à divers endroits du globe prouvent que la vigne a précédé l'homme sur terre et poussait donc de façon spontanée. Depuis la plus haute antiquité, l'homme se nourrit de ses fruits, ses baies juteuses et sucrées lui sont apparues comme un complément indispensable à son alimentation (CRESPY, 1992).

La culture couvre dans le monde aujourd'hui près de 8 millions d'hectares et continue de s'étendre à raison d'un accroissement continu de la consommation, de 4,5% en moyenne au cours des dix dernières années (2001-2011), [MARTIN et VOISIN, 2006 ; ANONYME.2011_(a)].

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

Les superficies réservées à la viticulture ont connu de grandes fluctuations suite aux arrachages de la vigne de cuve. Comme il est à noter que d'autres vignobles réservés aux raisins secs et aux champs pied mère et même à la vigne de table ont connu des variations importantes en surface et en production. Selon le rapport établi par le ministère de l'agriculture et développement rural (ANONYME, 2012), la superficie totale du vignoble algérien, déplacé 80423 ha, avec une production de 5605620 QX, donc une augmentation de 40,41% en 2010 par rapport à l'année 2006.

Comme toute culture, la vigne est une plante sujette à de nombreuses maladies de ravageurs (phylloxera) et de pathogènes telles que les champignons (mildiou, oïdium, pourriture grise) et les virus (enroulement, flavescence dorée) causent des maladies très redoutables (REYNER et AL, 1991).

Quelques virus peuvent causer des dégâts, mais ne présentent guère d'importance économique en raison de leur faible extension géographique.

Introduction

Un certain nombre de virus, par exemple ceux du court-noué ou l'enroulement causent des pertes importantes de récolte ou diminuent la qualité des grappes, ils sont largement répandus dans tous les vignobles du monde.

Le *GFLV* est répandu dans le monde entier et c'est le plus important parmi les virus, car il peut infecter aussi bien les porte-greffes que les cépages issus des espèces de *Vitis* d'Amérique du Nord ou de *Vitis vinifera* ainsi que les hybrides.

Le virus *GFLV* agit à la fois sur le rendement et sur la longévité des ceps. L'infection peut produire une destruction rapide des ceps atteints ou, un dépérissement lents s'étendant sur plusieurs années (BOVEY, 1987).

Ces dernières années un intérêt particulier est porté sur le développement de la viticulture algérienne, enregistrant des extensions en surfaces et l'introduction d'une diversité variétale. Dans la plupart des régions, les conditions édaphiques et climatiques sont considérées comme très favorables à un grand nombre de maladies parasitaires particulièrement pour le court-noué. Des travaux de recherche sur ce sujet sont restreints et peu d'études sur le terrain ont été conduites d'une manière rigoureuse, et sont limités à des études de vérification de la présence du *GFLV* dans les vignobles algériens par l'utilisation de différentes méthodes d'identification. MARTELLI, 1985 a signalé des cas graves du *GFLV* sur plusieurs variétés de vigne à l'ouest et au centre du pays, HADJI (1991), AIT TAYEB (1994) et MELOUK (2001) dans la région du Mitidja, TABOUCH (2004), LECHEB (2004), KHENCHELAOUI et GUENANE (2014), BRADA et TAMAOUCHT (2015).

Les objectifs de notre travail ont consisté à :

- L'analyse symptomatologique sur feuilles, sarments, et fruits ; durant les campagnes 2001-2015 a fin de réalisé un inventaire.
- La détection biologique
- La détection sérologique par la technique DAS-ELISA ;
- La recherche et identification du *Xiphinema* nématode vecteur du *GFLV*.

partie bibliographique

1. Etude de la plante-hôte du court-noué

1.1. Origine et historique de la vigne :

L'histoire de la vigne est si ancienne qu'elle se confond avec l'histoire de l'homme. Les premières traces de ceps de vigne ont été découvertes dans l'actuelle Géorgie et datent de plus de 7000 ans (ROWLEY et RIBAUT, 2003). C'est à cette étape du développement de l'humanité, que les sociétés humaines d'Europe et du Proche Orient ont commencé à se sédentariser et à pratiquer l'agriculture. L'art de la viticulture remonterait donc à cette époque (JOHNSON, 1990). De la Géorgie, la culture de la vigne se serait répandue dans tous les pays tempérés depuis l'Inde jusqu'à l'Occident européen (ENJALBERT, 1975).

Depuis la plus haute antiquité la vigne existait en Algérie, ce sont des vignes spontanées dans les collines préservées du feu et des troupeaux (BIREBENT, 2001). La viticulture était connue en Algérie, depuis la période de la colonisation Romaine (GALET, 1988_(a)), son développement, sa progression et son expansion fut entre 1880 et 1900 après la colonisation française en 1830. Durant cette période, il y a eu la plantation des nouveaux vignobles avec l'introduction de nouveaux cépages de *Vitis vinifera* et l'application de nouvelles techniques culturales (ISNARD, 1947).

Tout commença avec le maréchal Bugeaud qui considéra que la viticulture en Algérie devait être autorisée pour « l'usage de la table ». Dès 1841, il chargea la Société des Agriculteurs d'Algérie de développer des vignobles (SCOTTI, 1987). En 1861, la vigne ne couvrait que 6 500 hectares, moins que le tabac et le coton et en 1918, les vignes avaient conquis près de 171 723 hectares (SCOTTI, 1987). Les vignobles d'Algérie couvraient 396 000 hectares en 1935-1936 (DIEMER, 2011) et s'étendaient sur 399 447 hectares où ce fut leur summum (SCOTTI, 1987).

La période de 1962 à 1983 a connu des bouleversements profonds liés à des arrachages intensifs des vignobles de cuve (221 000 ha) et ceci dans le cadre de la reconversion (LARBI, 1993).

1.2. Exigences climatiques :

Selon BRICHE (2011), pour se développer, la vigne a besoin d'un climat favorable avec notamment des exigences quant au rayonnement solaire, à la température et également à l'eau

1.2.1. La lumière :

Selon GALLET(2000), la vigne est une plante héliophile qui exige donc des climats lumineux, car ses fleurs nouent mal à l'ombre ou par temps brumeux. Ainsi les années de grande insolation donnent des raisins sucrés, peu acides et inversement, cependant les excès de lumière dans les pays méditerranéens et de chaleur nuisent à la qualité des produits en donnant des raisins insuffisamment acides. D'après SIMON et al. (1992), la vigne est une plante de jour long, qui nécessite un ensoleillement entre 1500 et 1600 heures/ an.

1.2.2. La température :

La température joue un rôle primordial : en effet, le développement optimal de la vigne est limité par des seuils thermiques aux différents stades du cycle végétatif, notamment d'avril à septembre quand la vigne est active (BRICHE, 2011)

Dès la sortie de dormance, au moment du débourrement, seules les températures dites actives sont prises en compte. Sont considérées comme « actives » les températures supérieures ou égales à 10°C considérées comme le zéro de végétation (AMERINE et WINKLER, 1944 ; WINKLER, 1962 ; WINKLER et al.1974 ; HUGLIN, 1986 ; GALET, 2000 in BRICHE, 2011).

1.3. Situation actuelle :

a. Dans le monde :

La vigne couvre dans le monde aujourd'hui près de huit millions d'hectares et continue de s'étendre à raison d'un accroissement continu de la consommation, de 4,5% en moyenne au cours des dix dernières années (2001-2011), [MARTIN et VOISIN, 2006 ; ANONYME, 2011_(a)]. Les statistiques mondiales et particulièrement celles de la FAO et de l'OIV montrent que le raisin est considéré comme un produit de valeur commerciale considérable (ANONYME, 2011_(a)). C'est un fruit du premier rang des

Partie bibliographique

productions fruitières dans le monde du point de vue quantité et importance économique (VIVIER et PRETORIUS, 2002).

La production mondiale de raisin en 2011 s'est élevée à 6 909 329,3 quintaux pour une superficie totale d'environ 7 060 245 d'hectares avec un rendement moyen de 98 Q/ha [ANONYME, (2013_(a)) et AIGRAIN, (2003)].

La production européenne constitue 50% de l'offre mondiale, celle des Asiatiques 25%, l'Amérique 19% et de l'Océanie 1%. Quand à la production africaine, elle ne représente que 7%, ce qui reste très faible (BACARELLA et FARDELLA, 1992).

b. En Algérie :

L'Etat algérien a commencé à donner de l'importance à la viticulture en augmentant les superficies destinées à la viticulture (Tableau 1). En effet, elles atteignent 72 042 ha pour une production qui s'élève à 402 592 tonnes (ANONYME, 2013_(b)).

Tableau 1 : Situation viticole 2001 / 2011 en Algérie.

Année	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Surface (ha)	51450	54200	60465	62532	69633	75187	76754	75000	69110	69220	81000 F
Production (T)	196159	234397	277968	283900	334021	398018	244999	250000	492525	560500	650000
Rendement (Qx/ha)	38.1	43.2	46.0	45.4	48.0	52.9	31.9	33.3	71.3	81.0	80.2 FC

[F]=Estimation FAO

[FC]=Donnée calculé par FAO

La production viticole algérienne a occupé la 5^{ème} place dans la production agricole nationale en 2011 (Tableau 2) et la 20^{ème} place dans la production viticole mondiale (ANONYME, 2012)

Partie bibliographique

Tableau 2 : Classement des productions agricoles nationales 2011 en Algérie.

Position	Produit	Production (T)	Symbole
1	Pommes de terre	3993400	Lm
2	Lait de vache entre frais	1811400	F
3	Viande ovine	182325	Fc
4	Blé	2800000	*
5	Raisins	650000	F
6	Viande de poulet indigène	253640	Fc
7	Dattes	690000	F
8	Viande bovine	129757	Fc
9	Olives	420000	F

lm : Données de la FAO basées sur une méthodologie d'imputation.

F : Estimation FAO.

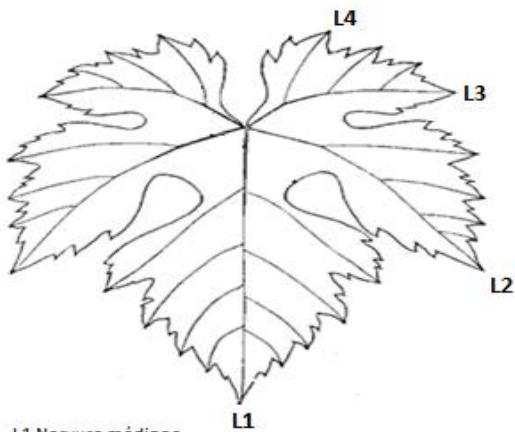
Fc : Donnée calculée.

* : Approximation FAO

1.4. Description morphologique :

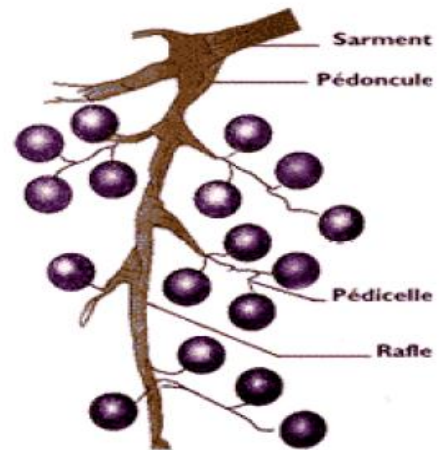
La vigne est une liane pérenne à port grimpant. Les rameaux ligneux, appelés sarments, taillés en hiver, peuvent atteindre dans la nature de très grandes longueurs allant jusqu'à 3 mètres (Figure 1 et 2). Les feuilles à nervures palmées comportent cinq lobes principaux plus ou moins découpés. Elles connaissent une importante polymorphie selon les espèces et les cépages. Les fleurs pentamères, sont très petites (5mm), verdâtres et regroupées en grappes composées. Les fruits mûrs sont des baies de forme et de couleur variables. Ils sont blancs, jaunâtres, violets ou noirs, et presque toujours noirs à l'état sauvage (CARBONNEAU 2007).

Partie bibliographique



L1 Nervure médiane.
L2 Nervure latérale supérieure.
L3 Nervure latérale inférieure.
L4 Nervure pétiolaire.

Feuille de vigne (GALET
1988_(b)).



Grappe de raisin

Figure1 : Différents parties de la vigne

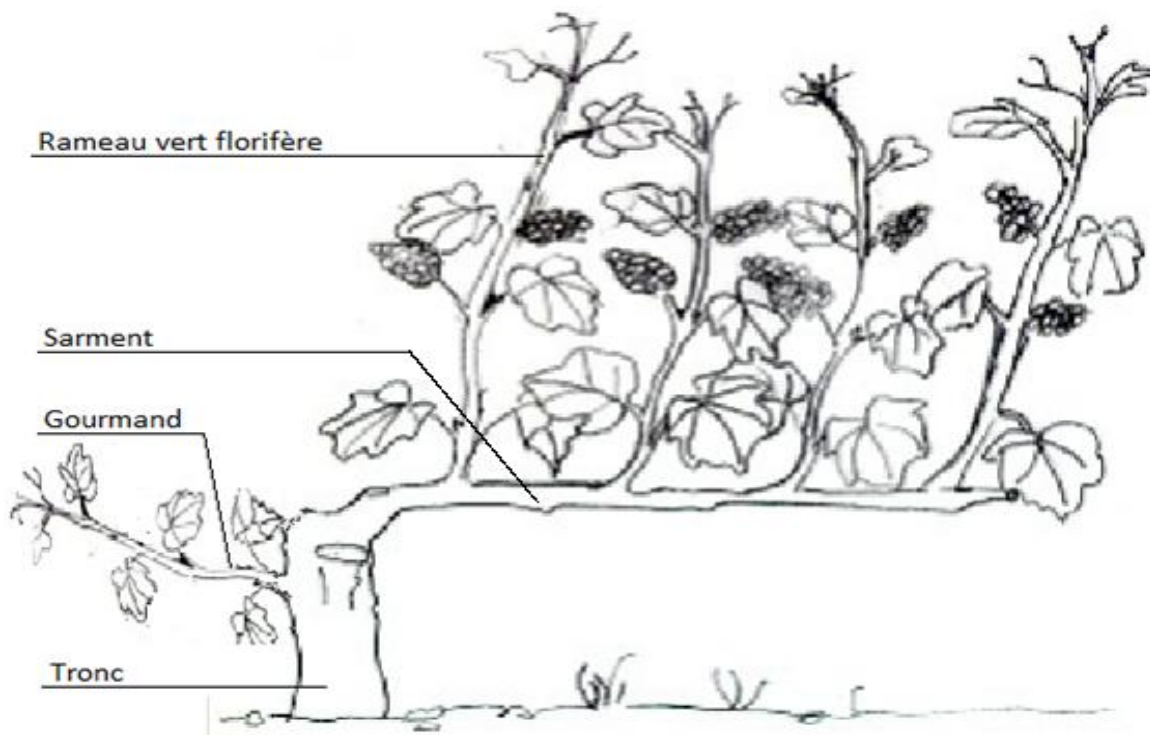


Figure 2 : Architecture d'un pied de vigne cultivé (JOLY, 2005).

1.5. Maladies ravageurs et de la vigne :

Les maladies et parasites de la vigne ont une importance capitale en viticulture, depuis l'introduction en Europe des maladies américaines au cours de la seconde moitié du XIX^e siècle qui ont modifié complètement la culture de la vigne au point qu'on ne saurait dissocier actuellement dans la plupart des pays viticoles l'étude de la vigne de celle de ses parasites animaux et végétaux (GALET, 1977).

Jusqu'en 1850, ce fut l'âge d'or pour la culture de la vigne qui n'avait à subir sporadiquement que les rigueurs du climat (gelées, grêle, foudre) ou les dommages de certains parasites (pourriture grise, anthracnose, apoplexie, pourridié, altise, pyrale, criquets) connus depuis l'antiquité. Certaines maladies physiologiques devaient exister, mais elles n'avaient pas été identifiées et leurs dégâts étaient rapportés à d'autres causes (GALET, 1977).

1.4.1 Maladies cryptogamiques :

Ces maladies sont généralement dues à des champignons qui attaquent selon les espèces soit les organes verts de la vigne (feuilles, rameaux et grappes) soit le tronc.

a) Mildiou

Le Mildiou (*Plasmopara viticola*) est une maladie présente partout dans le monde où la vigne est cultivée et où les conditions climatiques sont favorables à son développement. L'agent responsable, est observable à l'œil nu. Il provoque des pertes de récolte, des problèmes de maturation et d'affaiblissement de la souche (GALET, 1995).

b) Oïdium

L'Oïdium (*Uncinula necator*) est une maladie fongique de la vigne présente dans tous les vignobles avec des intensités différentes selon les régions et les cépages. C'est la maladie de la vigne la plus répandue dans le monde. Tous les organes herbacés sont sensibles. Les plaies occasionnées constituent des portes d'entrée potentielles à d'autres agents infectieux (DUBOS, 1999).

c) Pourriture grise

Cette maladie est causée par le *Botrytis cinerea* dont le développement sur le raisin peut être explosif si les conditions météorologiques lui sont favorables ou si les baies sont réceptives. Ce champignon peut attaquer tous les organes de la vigne mais surtout les grappes à l'approche de la maturité (GALET, 1995).

1.4.2 Maladies bactériennes :

a) Tumeur du collet :

La galle du collet de raisin causée par *Agrobacterium vitis*, l'une des bactéries les plus dommageables maladies du raisin. La présence de cette bactérie dans le matériel de multiplication permet à la dissémination de la maladie. (KRIMI et BENKACIMI, 2007).

b) Nécrose bactérienne :

L'agent causal de cette maladie est la bactérie *Xylophilus ampexions* qui se développe uniquement sur la vigne. Le vieux bois (tronc) est le lieu de survie et de multiplication de la bactérie. Il sert de source d'inoculum pour contaminer le bois aoûté puis les organes herbacés D'après REYNIER en 2007

1.4.3 Viroses

La virose la plus fréquente retrouvée dans tous les vignobles du monde est le *GFLV* (Grapevine Fanleaf Virus) ou court noué et *GLFV* (Grapevine leafroll virus) ou l'enroulement.

a) Le court noué

Il se transmet par le nématode *Xiphinema*, présente plusieurs types de symptômes (Enroulement vers le bas du limbe des feuilles, entre-nœuds courts, fasciation des sarments), (GALET, 1995).

Partie bibliographique

b) l'enroulement :

L'agent pathogène est un virus filamenteux (*Closterovirus*) présentant plusieurs sérotypes. La maladie pourrait se transmettre par certaines espèces de cochenilles.

1.4.4 Ravageurs :

En plus des maladies causées par des champignons, la vigne subit souvent les attaques de parasites animaux.

a) *Phylloxera*

Le *phylloxera* de la vigne, est causé par un puceron (*Phylloxera vastatrix*). Cet insecte provoque la formation de tubérosités, qui, par la suite s'infectent et précipitent la mort du pied. Ses piqûres sur les feuilles provoquent la formation de galles, entraînant un jaunissement du feuillage (LEUTY et KER, 1997).

b) Nématodes

Les nématodes peuvent causer de graves dégâts de par leur capacité à transmettre des virus, à l'arrachage plusieurs symptômes sont constatés permettant de les identifier.

Sur les souches malades, la végétation diminue sensiblement. Pendant plusieurs années, ces pieds malades produisent des grappes de plus en plus réduites avec de petits grains qui mûrissent de moins en moins [GALET, (1993) et DUBOS, (1999)].

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 % (ANONYME, 1984). 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

Partie bibliographique

vignobles européens, il peut être responsable du dépérissement dans les régions Nord en Amérique (WALTER, 2000).

2.1. Taxonomie des virus de la vigne :

Les virus infectant la vigne appartiennent à deux groupes :

- Le premier 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 ARN monocaténaire enveloppé (MARTELLI, 2000).
- 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 (Tableau2.1) (VAN REGRNMORTEL, 2000).
- 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 (Tableau3).

Tableau 3 : Classification de virus de la vigne (MARTELLI, 2000).

Génome	Particule	Famille	Genre
ARNsb enveloppe	Parasphérique	<i>Bunyaviridae</i>	<i>Tospovirus</i>
ARNsb	Isométrique et monopartites	<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> .

Partie bibliographique

	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>

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 raccourcissement des entre-nœuds. Ces virus provoquent troubles qui se traduisent par une réduction de la longévité, le dépérissement progressif, et une perte de récolte pouvant aller jusqu'à 90 % (WALTER, 2000). 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 *Amarantes* et *Cucurbitaceae* (GALET, 1983). En effet, les nématodes servent de vecteur 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) (WALTER, 2000).

a. 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 (1970) 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 sous plusieurs noms :

Partie bibliographique

Grapevine Gable virus

Grapevine roncet virus (VIALA, 1893).

Grapevine court-noué virus

Grapevine arricciamento virus (PANTANELLI, 1910).

Grapevine degenerazione infettiva virus (PERTI, 1918).

Grapevine urticado virus (DIAS, 1950).

b. Distribution géographique :

Le court-noué est une maladie à répartition mondiale (MARTELLI, 1987). En dehors des pays d'Europe du bassin méditerranéen, le court-noué a été signalé en Afghanistan, Algérie, Malte, Tunisie et en Turquie (WALTER, 2000).

c. Propriétés biochimiques et moléculaires :

Le *GFLV* est un parasite intracellulaire, la structure des particules est isométrique de 30 nm diamètre (MARTELLI, 1997a). 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-1 et ARN-2 sont de $2,4 \times 10^6$ et $1,4 \times 10^6$ respectivement (QUACQUARELLI, 1976 ; PINCK., 1988). Il a été démontré que les caractères des *Nepovirus* sont déterminés par l'ARN-1 et d'autre par l'ARN-2 (TAYLOR, 1997). Il a montré la présence d'une protéine liée au génome [virion protéine génome 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 (PINCK., 1988), et une queue poly-adénosine [poly (A)] liée à l'extrémité 3' terminal (figure 3) (SERGHINI, 1990 ; TAYLOR, 1997). Le génome de l'isolat français F13 a été complètement séquencé (SERGHINI, 1990 ; RITZENTHALER, 1991), ainsi qu'une partie de l'ARN-2 de l'isolat australien et californien (BRANT, 1995 ; SANCHEZ, 1991).

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

Partie bibliographique

dépendant ARN polymérase (1E) ayant un poids moléculaire de 92000 Da (MARGIS, 1991), 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 (MARGIS, 1994). La protéine VPg (1C) avec un poids moléculaire de 29000 Da (PINCK, 1998) est suivie d'une protéine 1B de 88000 Da contenant une chaîne de nucléotides attachée et une protéinase cafoctoriel (RITZENTHALER, 1995). 1A est une protéine de 46000 Da située à la partie N-terminal (MARGIS, 1994).

ARN-2 : La longueur totale est de 3774 nucléotides, codant un seul produit d'un poids moléculaire 131000 Da (3330 nucléotides). 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 56019 Da (SERGHINI, 1990).



Figure 3 : Organisation génomique et expression des ARN1 et 2 du grapevine fanleaf virus (GFLV) isolat F3. (Anonyme, 2013).

Les deux ARN comportent une longue phase de lecture ouverte représentée par les rectangles ombrés. Les séquences non codantes sont représentées par les rectangles fins rouges aux extrémités de chaque phase codante. La Vpg est représentée par un cercle noir. Les sites de clivage au niveau des deux polyprotéines et leurs séquences correspondantes sont indiqués par les triangles pleins et les lettres respectivement. Le nom des protéines est indiqué à l'intérieur de chaque protéine produite.

Partie bibliographique

En amont de la protéine capsidique (CP), se situe la protéine 2B d'un poids moléculaire de mouvement qui s'accumule à une forte concentration dans le cytosol des cellules infectées (RITZENTHALER, 1995), et se retrouve aussi en association avec les parois des cellules (RITZENTHALER, 1995). Les neuf acides aminés de la partie C-terminal de cette protéine sont responsables de la diffusion systémique du virus (BELIN, 1995). Le troisième produit de la mutation est la protéine 2A à la partie N-terminal d'un poids moléculaire de 28000 Da est impliquée dans la réplication de ARN-2 (GAIRE, 1999).

L'expression biologique du *GFLV* n'est possible que lorsque l'ARN-1 et ARN-2 sont inoculés ensemble à des *chénopodes quinoa*. Dans ce cas ils sont capables de se répliquer dans le protoplasme, mais s'il est inoculé seul à des plantes hôtes, il ne sera pas détecté dans celle-ci (VIRY, 1993). 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 (PINCK, 1998).

Les satellites : L'isolat français F13 de *GFLV* comporte un ARN satellite linéaire (satRNA) (PINCK, 1988). 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 ARNs génomiques (même taille de VPg et de poly (A)). 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 (FUCHS, 1989) Le satRNA est incapable de se répliquer. Il est totalement dépendant des 2 ARNs du virus assistant pour sa réplication et de son encapsidation (PINCK, 1988 ; HANS, 1996). Sa présence modère l'expression des symptômes dans *C. quinoa* (FUNCHS, 1996). Le satRNA a été détecté par hybridation moléculaire dans 5 sur 34 virus isolés dans différents emplacements géographiques (SALDARELLI, 1993).

Partie bibliographique

- **Modification Sérologiques :**

Le virus est un immunogène modéré avec un anticorps polyclonal donnant un titre jusqu'à 1/1024. Quinze anticorps monoclonaux ont été produits (HUSS, 1987). Les déchets corticaux de cannes mures rassemblées au printemps sont de bonne source de l'antigène pour les essais sérologique (HUSS, 1986 ; ROWHANI, 1996 ; BOSCIA, 1997). Ils peuvent être utilisés après conservation au froid, sans risque de perte apparente du virus pour plusieurs mois (WALTER, 1987 ; ROWHANI, 1996). La détection du virus dans des extraits de vigne, se fait régulièrement par le test DAS-ELISA qui utilise un anticorps polyclonal (WALTER, 1984 ; ROWHANI, 1996), ou TAS-ELISA à l'aide d'un anticorps monoclonal (HUSS, 1986). Par ailleurs le test ELISA a été utilisé pour détecter le virus dans les extraits des individus de *X. index* (ESMENJAUD, 1992 ; ESMENJAUD, 1993).

2.3. Symptomatologies :

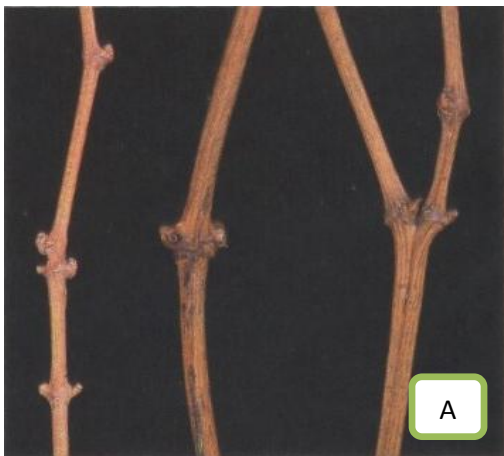
2.3.1. Symptômes macroscopiques

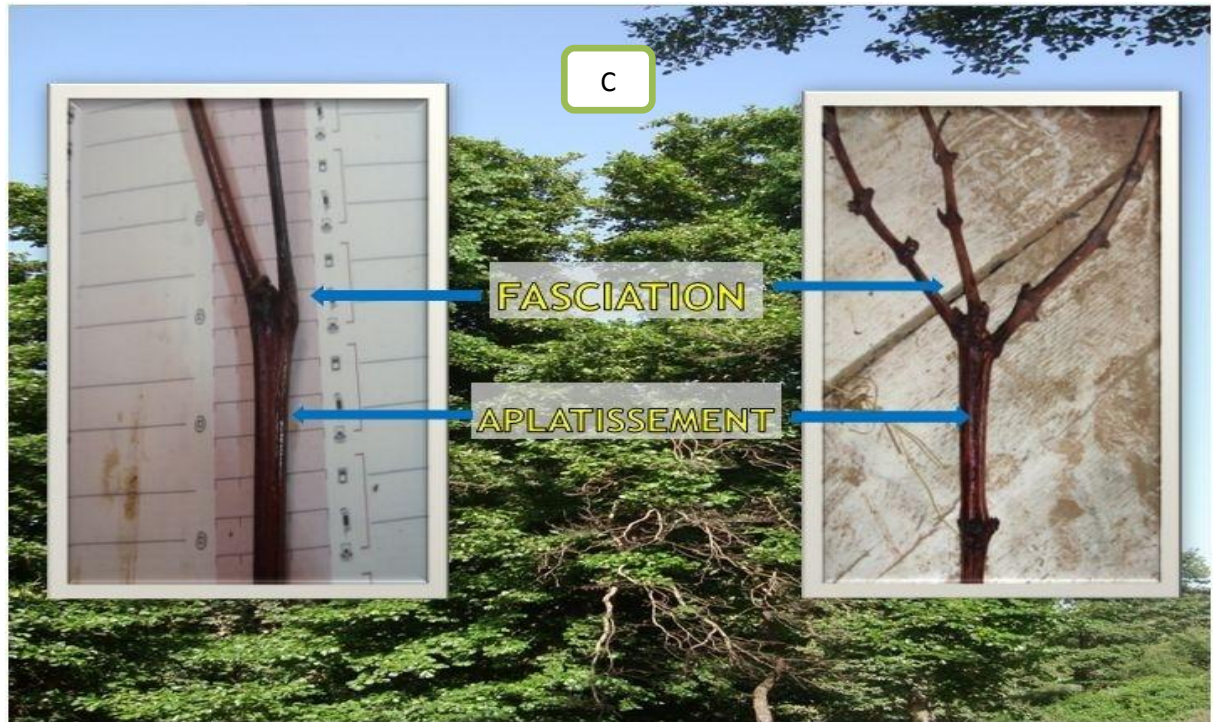
En fait, le terme de court-noué : Fanleaf est utilisé pour désigner la feuille en éventail. Cette désignation se compose de trois groupes de symptômes.

Groupe 1 : Malformation :

- Sur les sarments et les feuilles :

Le virus provoque une grande gamme de symptômes sur la vigne : raccourcissement des entre-nœuds ; rameaux en zigzag présentant une fasciation et des bifurcations anormales, asymétrie des limbes foliaires donnant à la feuille une allure d'éventail, de déformation et la décoloration des feuilles, nervation irrégulière (Fig.4) (MARTELLI, 1997(b) ; WALTER, 2000).



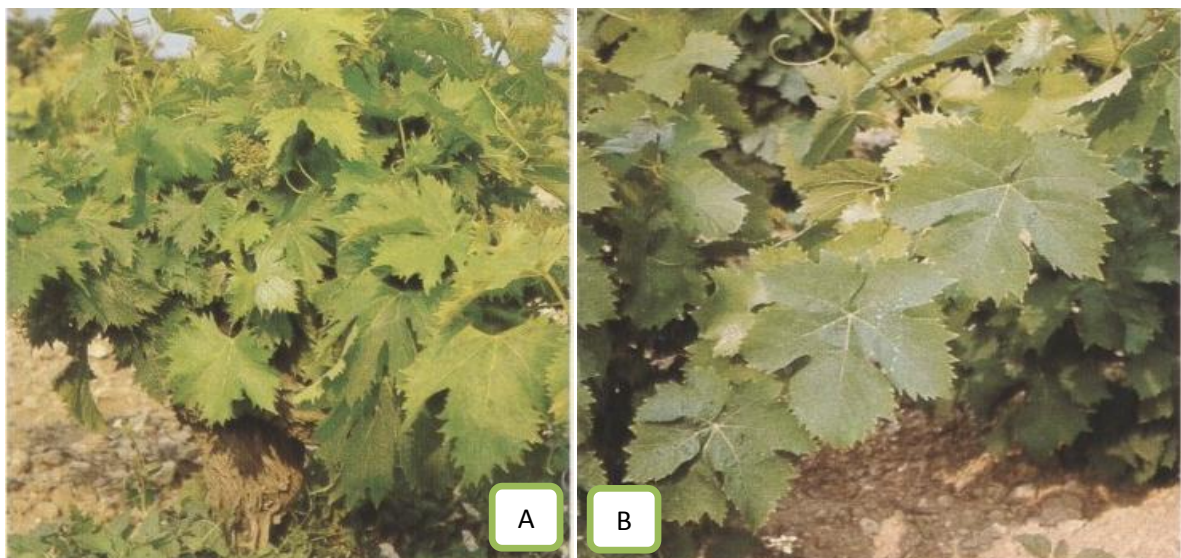


A. Symptômes de fasciation et aplatissement à gauche, à droite rameau sain.

B. Entre-nœuds court (à gauche), double nœud (au milieu), fasciation et bifurcation (à droite). (BOVEY et AL, 1980).

C. Fasciation sur un sarment de Riesling x Sylvaner. (BOVEY et AL, 1980).

Figure 4 : A, B, et C symptômes de malformation sur sarments de court-noué.





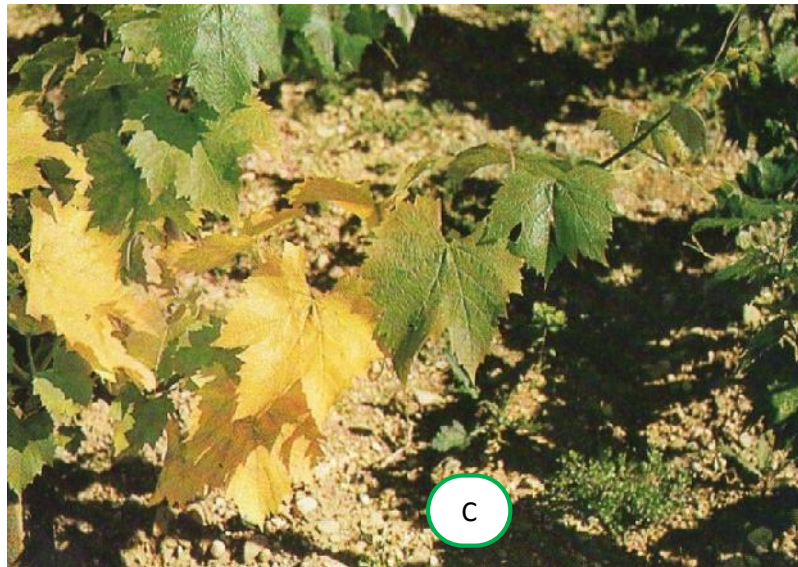
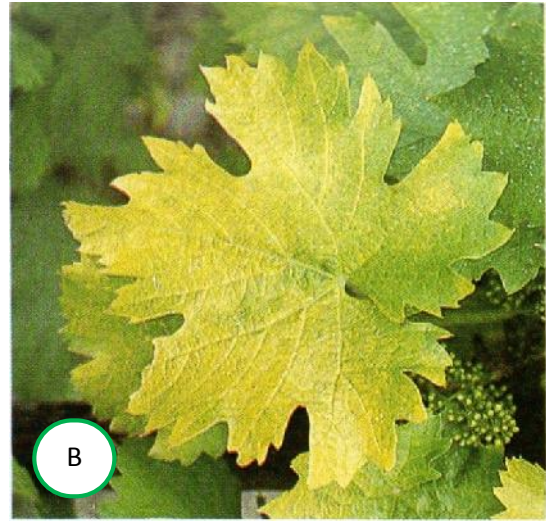
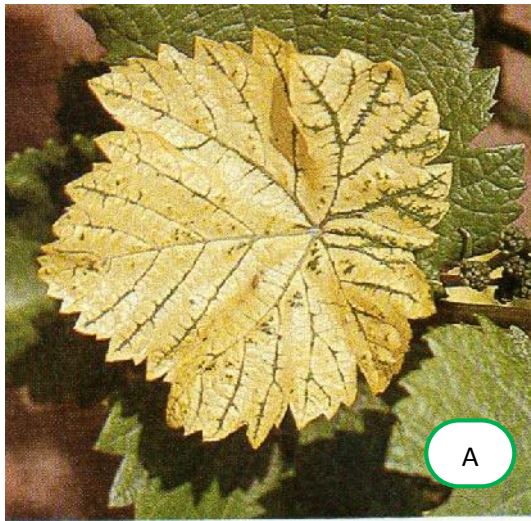
- A. Limbe déformé, sinus pétiolaires largement ouverts, dentelure très accentuée sur *Muscat blanc à petit grain*. (BOVEY et al, 1980).
- B. Plante saine de *Muscat blanc à petit grain*, limbe symétrique, sinus pétiolaire fermé, dentelure peu prononcée. (BOVEY et al, 1980).
- C. Découpeure du limbe tout à fait anormale sur *Muscat d'Alexandrie*. (BOVEY et al, 1980).

Figure 5 : A, B, et C symptômes de malformation de court-noué.

Groupe 2 : Panachure Ordinaire : Cette appellation désigne un aspect jaune d'or du limbe qui apparait à la fin du printemps.

Sa répartition sur les feuilles est indépendante du réseau nerveaire.

Elles se couvrent de jaune à jaune blanchâtre et de forme très variable, parfois petites et dispersées sur le limbe (fig. 6) sur certains ceps, 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 (MARTELLI, 1988) les symptômes sont surtout visibles au printemps et s'estompent durant l'été.



A et B -Divers types de panachure sur Riesling. (BOVEY et al, 1980).

C - Panachure à jaunissement total du limbe causée sur Sabel 54-55 (BOVEY et al, 1980).

Figure 6 : A, B et C symptôme de panachure ordinaire.

- **Sur les grappes :**

Les grappes sont moins nombreuses et plus petites que chez les plantes saines. La coulure et le millerandage (baies partiellement développées et dépourvues de graines) sont fréquents. Ce sont d'importants symptômes du court-noué (BOVEY et al, 1980).

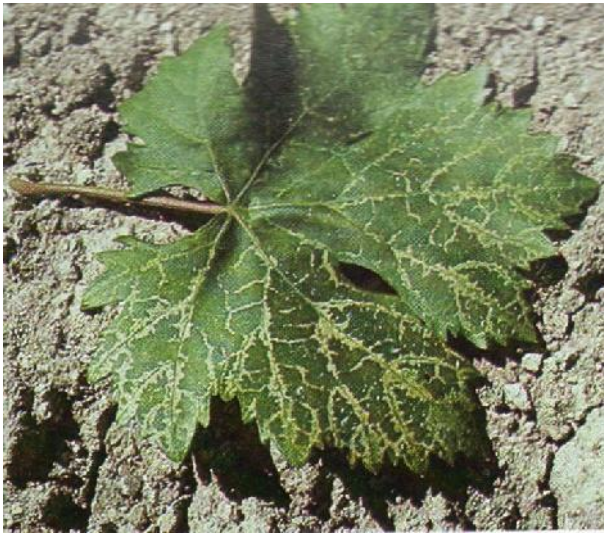


Figure 7 : Réduction de la taille des baies et la grappe

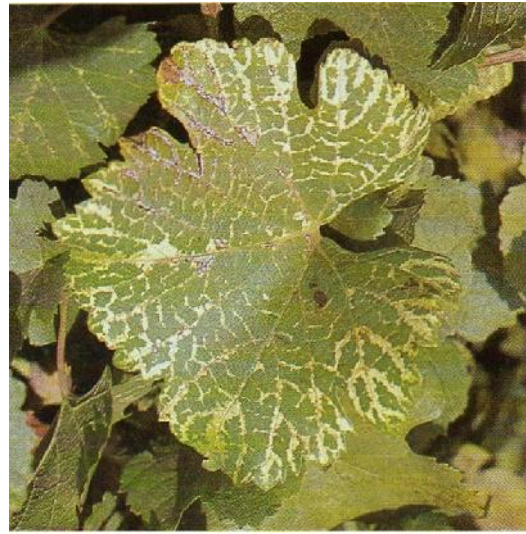
- **sur les racines :**

Les racines des plantes infectées sont moins développées que celles des plantes saines. (BOVEY et al, 1980).

Groupe 3 : une autre forme de symptôme qui est rattachée à la panachure est celle de la panachure réticulée. 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. 7) (RIVES, 1971 ; RASKI, 2000).



Panachure réticulée sur *Pedro Ximens*.

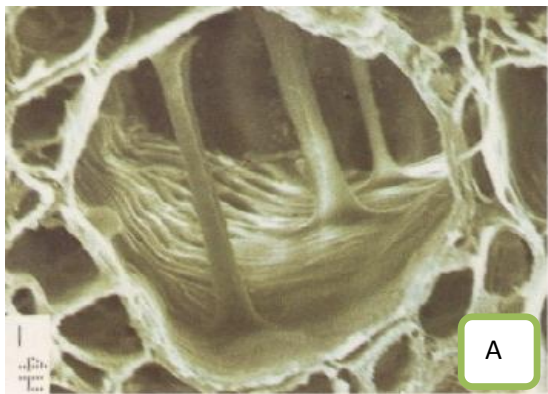


Panachure réticulée sur un cépage de *Vitis vinifera*.

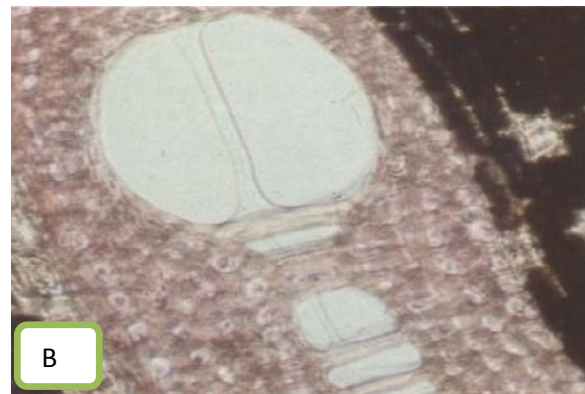
Figure 8 : Symptômes du Panachure réticulaire (BOVEY et al, 1980).

2.3.2. Symptômes microscopiques :

Les cordons endocellulaires sont les caractéristiques les plus symptomatiques de la vigne infectée par le court-noué (GALET, 1977). Ces cordons sont constitués d'un noyau pectique entouré par une gaine de cellulose incrustée avec la lignine, la subérine ou la cutine en rapport avec le type de tissu infecté. Dans les pousses lignifiées, ces structures sont facilement visibles en particulier dans les entre-nœuds de la partie basale (Fig.8) (GEROLA, 1969).



A



B

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

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

Figure 9 : Symptômes microscopiques du cordon endocellulaires. (MARTELLI ,1997)

Partie bibliographique

Le virus a été observé dans les cellules des racines de vigne où les particules sont rares et alignées dans des paquets courts (KALASJAN, 1979 ; 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 (KALASJAN, 1979 ; PENA, 1971 ; SARIC, 1975 ; SAVINO, 1985). Les vrais tubules membraneux qui contiennent les particules en lignes sont connectés aux plasmodesmes, ou ils sont présent dans les sorties des parois cellulaires. Les particules virales peuvent être près, ou à l'intérieur des inclusions. Le virus se réplique dans les corps des inclusions cytoplasmiques dont les vésicules membraneuses sont les sites répliation des ARNs et de la synthèse de la polyprotéine virale (PFEIFFER, 2001). Certaines vésicules membraneuses contiennent des fibrilles fines, les lignes de particules vides sont parfois localisées dans le nucléoplasme (PENA, 1971 ; SAVINO, 1985).

2.4. Gamme d'Hôte :

Le *GFLV* a une large gamme de plantes hôtes. Ce virus se transmet facilement par la sève, mais non par les pépins. Il a été identifiés sur plusieurs espèces de *Vitis* tel que *Vitis vinifera* et *Vitis ruspestris* (DUNEZ, 1998). Des travaux ont montré que ce virus peut attaquer 28 familles de dicotylédones (DAVIS, 1999) (tableau 2.3).

Tableau 2.3 : Principales plantes -hôtes du court- noué (GALET, 1977).

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 des nervures
<i>Leguminosae 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.L.C : Lésions locales chlorotiques.

2.5. Transmission du *GFLV*

2.5.1. Transmission par contact:

a) De vigne en vigne

Cette transmission n'est pas connue dans les conditions naturelles (GALET, 1982).

b) De plantes herbacées à la vigne

Des contacts de tissus sans unions par greffage ont permis la transmission du court-noué de *Chenopodium amaranticolor* à la vigne.

En dehors de la vigne, qui est la plante hôte principale du *GFLV* ce virus a été transmis expérimentalement à trente (30) espèces différentes, appartenant à sept (7) familles botaniques ; parmi lesquelles on cite ; les amarantes (*Gomphrena Globosa*), et le concombre (*Cucumis sativus*), chénopodes (*Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa*), plantes qui servent pour les diagnostics par greffage (GALET, 1999).

2.5.2. Transmission par greffage :

Comme tous les virus, le court-noué se transmet des greffons au porte-greffes et inversement. La multiplication végétative des rameaux ou des sarments sur les vignes malades est une des principales causes de l'extension et de la dissémination de la maladie (GALET, 1982).

2.5.3. Transmission par semence :

Le *GFLV* se transmet facilement par la sève, mais non par les pépins (GALET, 1999) ; la transmission sexuée de vigne n'est pas possible (GALET, 1982), par contre, elle est possible par graines de *Chenopodium amaranticolor* et le *Chenopodium quinoa* (MARTELLI, 1985).

2.5.4. Transmission par vecteurs (nématodes) :

Le virus du court-noué est transmis de vigne en vigne par l'intermédiaire de deux nématodes :

Xiphinema index (THORNE et ALLEN) : espèce très répandue en France , en suisse en Allemagne, en Hongrie , en Grèce , en Italie , en Turquie , en Iran , en Algérie , en

Partie bibliographique

Tunisie , aux États-Unis (Californie) et ,en Argentine. Tandis que *Xiphinema italiae* (MEYL) n'est connue qu'autour du bassin méditerranéen : Sud de l'Italie, Grèce, Bulgarie, Turquie, Palestine occupée, Algérie, et en France dans la région du Languedoc-Roussillon. Cette diffusion presque mondiale du *Xiphinema index* est liée probablement à la vente des porte-greffes depuis un siècle (GALET, 1999).

3. Etude du vecteur du *GFLV* :

3.1. Systématique du vecteur :

L'identification et la nomenclature des nématodes est délicate ; vu leur simplicité anatomique et l'existence de peu d'ornementation ou de structure susceptible de faciliter leur identification. La morpho-taxonomie reste largement utilisée par les nématologues. Les nématodes vecteurs des virus sont classés dans l'ordre des Dorylaimidae ; les caractères distinctifs sont généralement représentés par un développement labial, la région céphalique, une région amphidiale de la tête, stroma armé avec une dent murale, et aesophage mince à la portion antérieure et élongation de la partie postérieure contenant des glandes sécrétrices (TAYLOR, 1997 ; DALMASSO, 1968). Les vecteurs de *Nepovirus* (*Xiphinema*, *Longidorus*, *Paralongidorus*) sont classés dans le Sub-ordre *Dorylaimidae*, 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 aesophage qui est étroitement lié à la partie antérieure et développée une grande musculature à la partie postérieure (TAYLOR, 1997).

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* (HUNT, 1993). Seulement onze espèces de *Xiphinema* transmettent 10 *Nepovirus*. 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 (male, femelle ou larve). La PCR a été utilisée pour l'identification des groupes de nématodes phytophages économiquement important

Partie bibliographique

comme *Xiphinema spp.* (VRAIN, 1990), *Meliodogyne* (BLOK, 1993) et *Globodera* (BUNOWS, 1995).

♦ **Classification des nématodes vecteurs du virus court-noué :**

Ordre :	Dorylaimida
Sous-ordre :	Dorylaiminae
Super famille :	Dorylaimidae
Famille :	Longidoridae
Sous-famille :	Xiphinematinae
Genre :	Xiphinema
Espèce :	<i>Xiphinema index</i> <i>Xiphinema italiae</i>

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. 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 » (TAYLOR, 1997). Le stylet est long et mince avec un « anneau du guidage » situé au milieu ou après la base du stylet (DALMASSO, 1968), tandis qu'on note l'absence de bulbe média (TAYLOR, 1968), 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 (TAYLOR, 1997). Les larves possèdent un odontostyle supplémentaire logé plus postérieurement dans la paroi de l'aesophage, 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 (LORRAIN, 1997). Le dimorphisme sexuel est réduit à quelques caractères somatiques primaires ou accessoires, ainsi l'habitus du

Partie bibliographique

mâle est légèrement différent de celui de la femelle, mais ces variations liées au sexe très limitées (DALMASSO, 1968).

Chez *X. index* les femelles mesurent 2.9 à 3.3 mm. Les males sont rares. La région céphalique est non individualisées et l'appendice caudal et petit est largement soudé à la queue (DALMASSO, 1968 ; SIDDIQI, 1974). L'utérus est sans organe Z. l'œuf peut atteint 250 μm (DALMASSO, 1968) (Fig. 9).

Chez *X. italiae* : 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 l'utérus est absent. Les males sont rares. La longueur de l'odontostyle est de 98 μm (TAYLOR, 1997 ; SIDDIQI, 1974 ; COHN, 1970) (Fig.10).

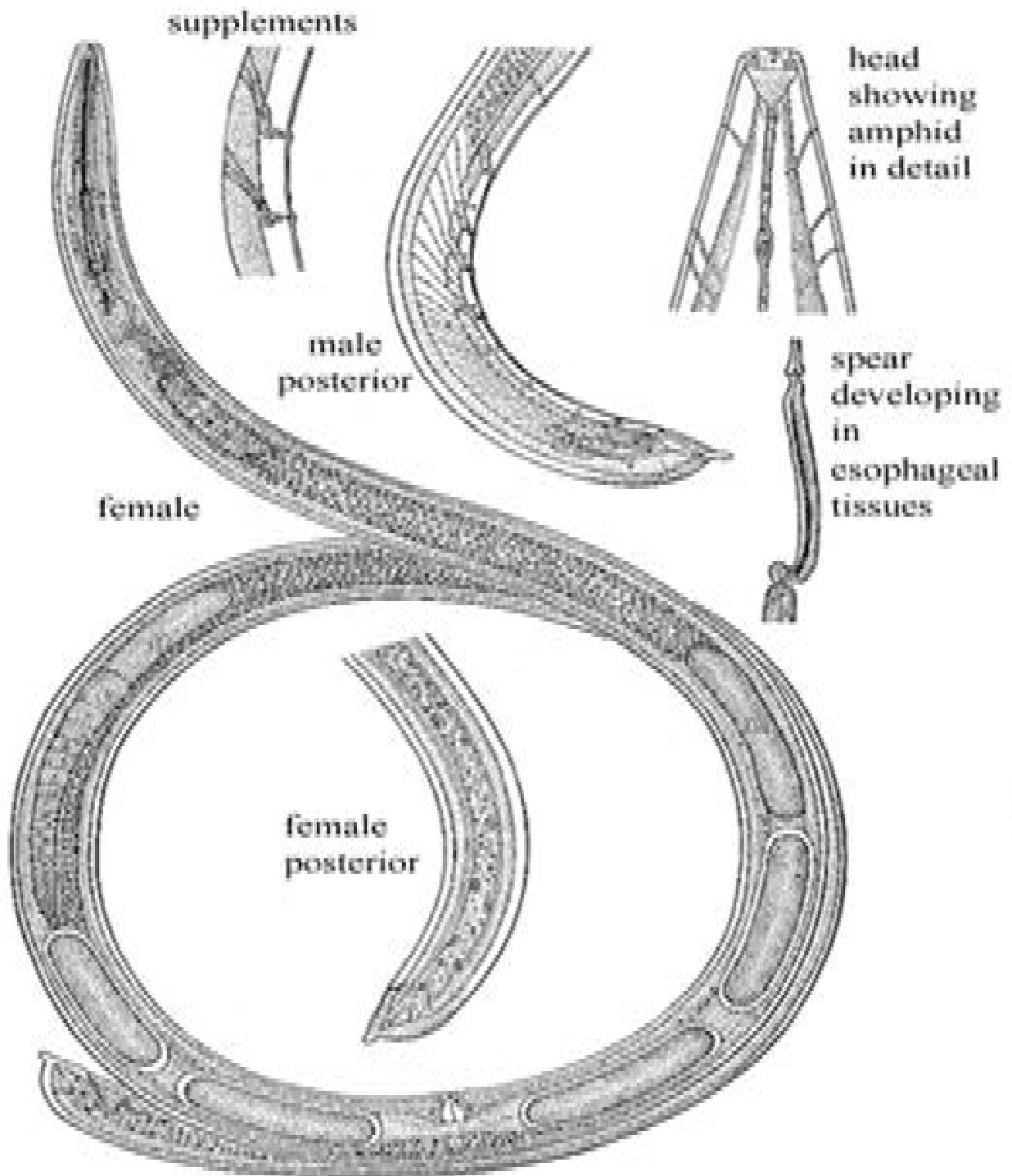
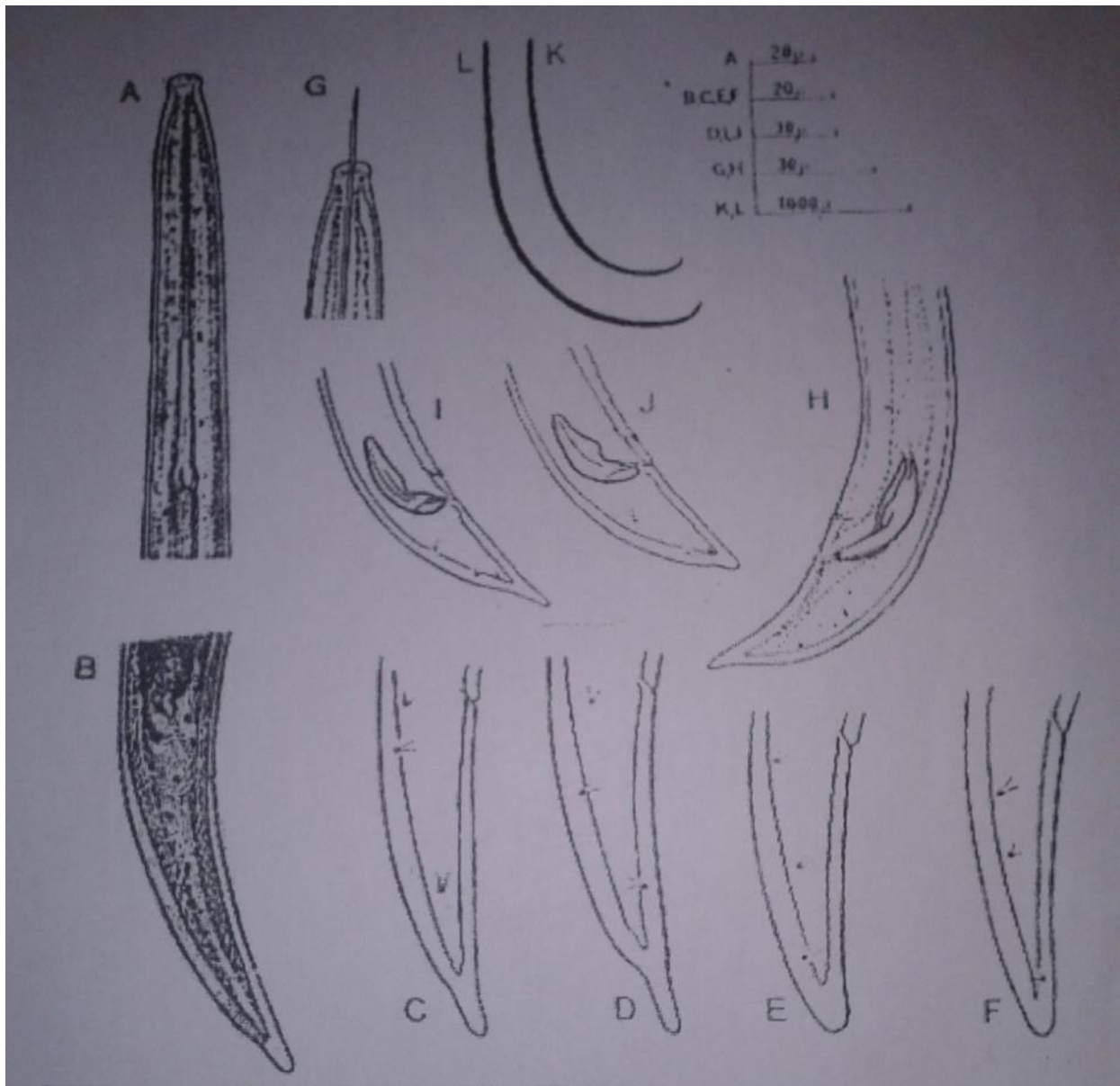


Figure 10 : morphologie de *Xiphinema index* (Anonyme).



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 de la queue du mâle.

Figure 11 : Morphologie de l'espèce *Xiphinema italiae* (COHN, 1970).

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 leurs extrémités (GALET, 1991). Les déplacements des nématodes dans le sol sont plus limités dans le sens horizontale, entre 30à50cm/an que dans le sens verticale jusqu'à 2m/an dans le sol sableux. Le développement des *Xiphinema* est en moyenne très lent dans les conditions naturelles (DALMASSO, 1971), il passe par 5 stades larvaires avant d'aboutir au stade adulte ; ces stades coexistent tout au long de l'année.

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 males sont rares et les femelles pondent les œufs la plupart du temps en avril- mai (HOWARD, 1999). Le nombre d'individu d'une population varie en fonction de climat, températures 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/kg 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 (LORRAIN, 1997).

3.4. Cycle de vie :

Chez *X. index* :

La durée 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* THORN et ALLEN 1950 complète son cycle de vie de 2 à 4 mois en se maintenant sur le figuier en serre à une température 20 à 22°C.

Chez *X. italiae* :

La durée de cycle de vie de *X. italiae* sur vigne est de 6 mois à une température de 28°C sur vigne, et 12 mois à une température de 24°C (COHN, 1977).

3.5. Distribution géographique

Le nématode *X. index*

Cette espèce est la plus connue : Europe (Allemagne, Espagne, France, Grèce, Italie, Portugal) (SIDDIQI M.R., 1974) en Amérique (Argentine, Chili, Etats-Unis) (LAMBRIE F. et MARTELLI G.P. 1965), en Afrique de sud, Algérie (DALMASSO. et al, 1969), en Asie (Iran, Iraq, Turquie) et Australie (fig. 10) (SIDDIQI, 1974).



Figure 12: Distribution de *Xiphinema.index* dans le monde (Google modifié)

Le nématode *X. italiae*

Cette espèce a été identifiée pour la première fois en Italie (MARTELLI et al. 1964) après, elle a été découverte dans tout le bassin méditerranéen : Grèce, France, Tunisie, Algérie, Egypte (HEYNS, J. 1974 et COHN, E. 1977).

a

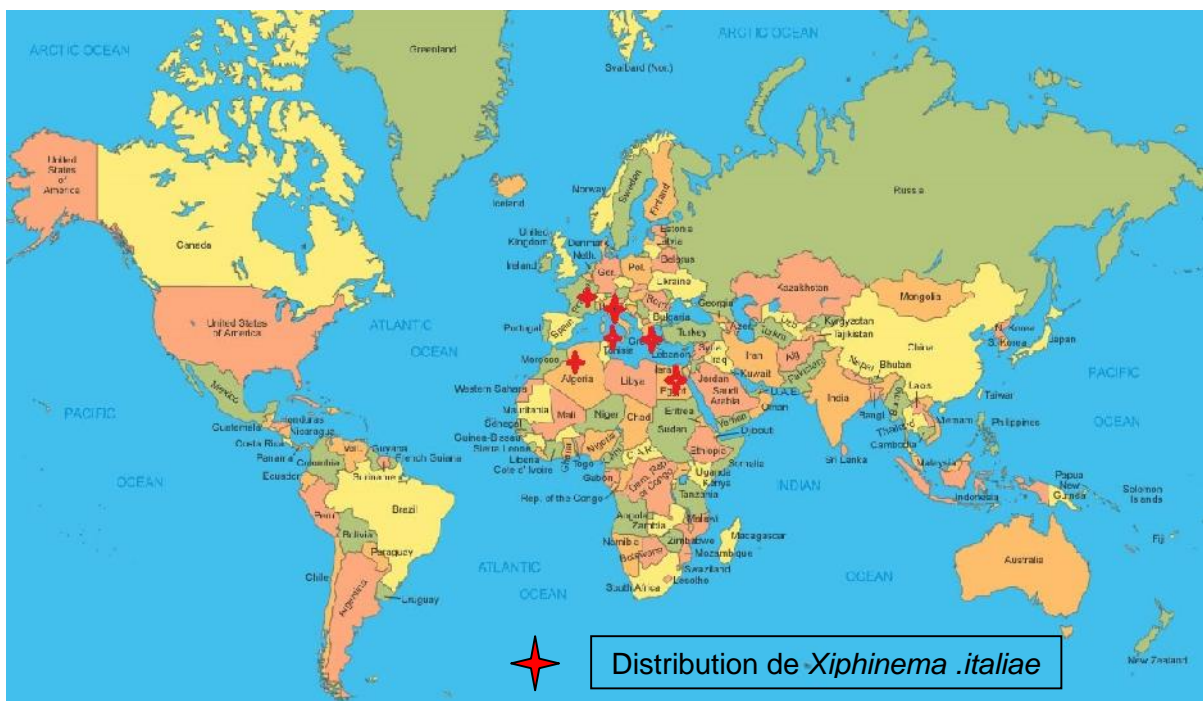


Figure 13 : Distribution de *Xiphinema.italiae* dans le monde (Google modifié).

3.6. Gamme d'hôte :

Le nématode *X. index*

Le *X. index* peut s'attaquer au figuier, qu'il utilise comme plante d'élevage réfractaire au virus du court-noué, rosier, murier, pommier, agrume, pistachier (HOWARD, 1999).

Le nématode *X. italiae*

Cette espèce a été retrouvée sur plusieurs espèces végétales : agrumes, prunier, olivier, pêcher, eucalyptus et la vigne (COHN, E. 1977).

3.7. Mécanisme d'association avec le vecteur :

Lors de la prise de nourriture, le nématode projette ses stylets à travers la paroi et la membrane cellulaire jusqu'au contact direct avec le cytoplasme de la cellule racinaire (Fig. 14). Il aspire alors la quasi-totalité du contenu cellulaire, y compris le virus quand la cellule est infectée. Lorsque virus et vecteur sont compatibles, le virus s'adsorbe très solidement sur la cuticule des stylets ou de la capsule buccale,

Partie bibliographique

probablement par des interactions de type électrostatique. Le relargage du virus est induit petit à petit par les sécrétions salivaires éjectées au cours de nouvelles piqûres. Après un repas d'acquisition, le virus peut être inoculé successivement à plusieurs plantes par le même vecteur, dans lequel il persiste de quelques mois à quelques années. Bien que le virus puisse persister aussi longtemps dans son vecteur, nous pensons que la stratégie utilisée est clairement la stratégie non-circulante. La persistance du virus dans le nématode résulte probablement d'une interaction très forte entre les deux et de la grande stabilité des virus considérés.

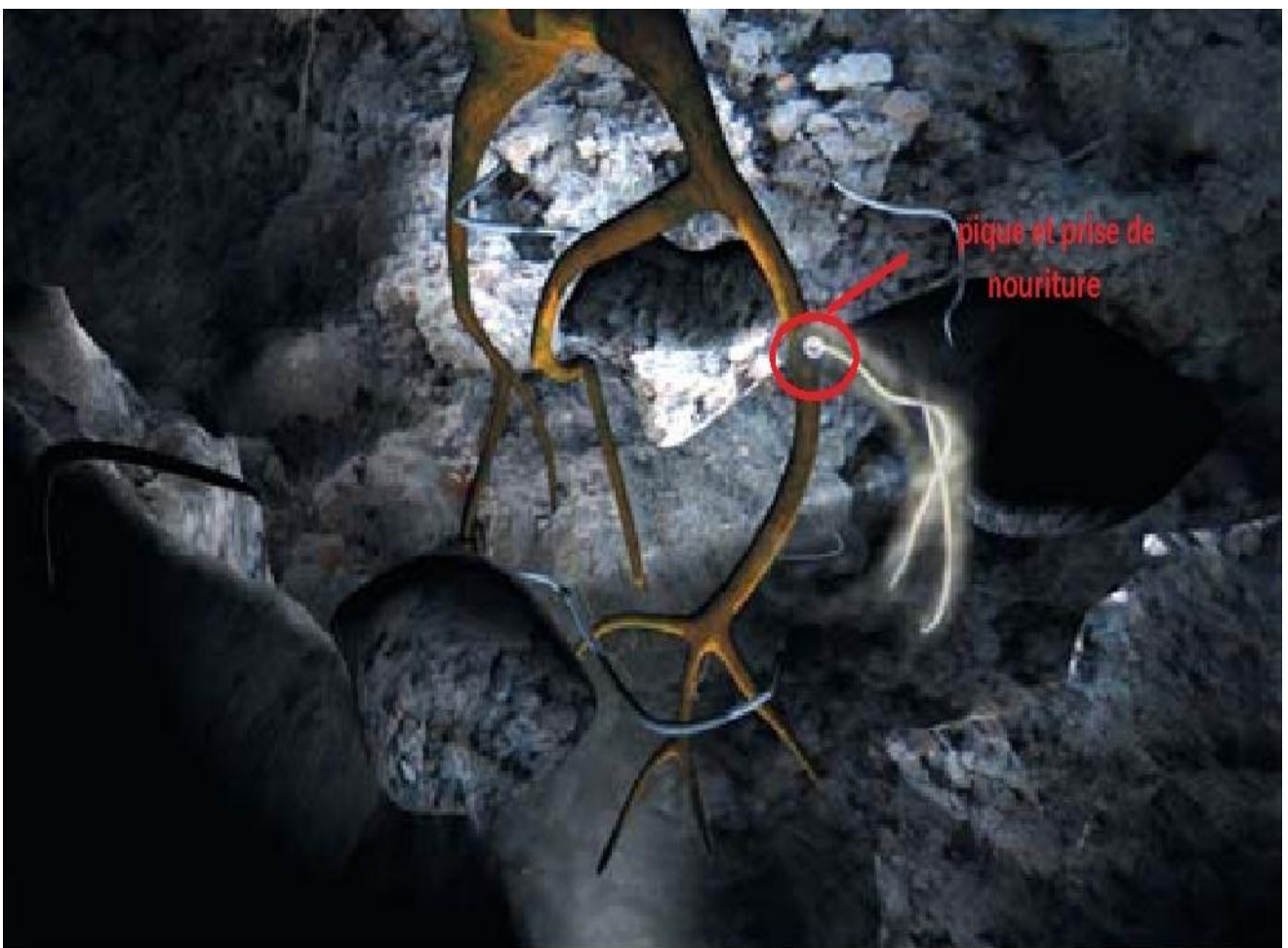


Figure 14 : mécanisme d'inoculation du virus par le nématode (ANONYME., 2010)

MATERIEL ET METHODES

1. Source d'inoculum ou vecteur :

Le *GFLV* a été extrait à partir d'échantillons collectés sur les vignobles durant les campagnes : 2004-2005 par Wahida LECHEB 2004-2005 Aicha TABOUCHE, 2013-2014 par KHENCHELAOUI et GUENANE, et étude de vecteur en 2001-2002 par MELOUK, 2014-2015 par BRADA et TAMAOUCHT

2. Sites prospectés :

2.1. Campagne 2001-2002 :

Les sites prospectés par Melouk étaient de 3 régions sur lequel les échantillons ont été prélevés :

Médéa : vignoble de l'ITAFV composé de 0.35ha, Chiffa : EAC N°6 d'ouest de Chiffa les 7 Chouhada composé de 0.50ha de porte greffe, 13.35ha de différents variétés

Blida : station de vigne de la station expérimentale de l'institut d'agronomie sa Superficie est de 0.53ha

2.2. Campagne 2004-2005 :

Le nombre de station prospectée par TABOUCHE 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.

Exploitation N°1 :

La superficie du vignoble d'OUEST de Chiffa les 7 Chouhada est composée de 0.05 ha de porte-greffe (P1) 13.35 ha de porte-greffe (P2), planté en ligne, et âgé de 25 ans. L'irrigation est basée sur le système traditionnel par rigole avec un système de conduite en palissage,

Exploitation N°2 :

Station de Tessalat El Mardja sa superficie est composée de 1.96 ha (P1) âgé de 20ans et 1.35ha (P2) âgé de 12ans planté en ligne, l'irrigation et basée sur le système en rigole et un mode de conduite en palissage.

Exploitation N°3 :

Le vignoble Station expérimentale du département biotechnologie ex Agronomie. Blida est de 0.35ha âgé de 10ans planté en ligne, le système d'irrigation est en rigole avec un mode de conduite en palissage.

Exploitation N°4 :

Le vignoble de la station agricole de Rebbah N°5 nord de Mouzaia est de 10ha âgé de 10ans planté en ligne, un système d'irrigation en rigole avec un mode de conduite en palissage. et La superficie de la station de Sidi Ben Aissa Est de Mouzaia est de 0.50ha âgé de 7ans planté en ligne,

Exploitation N°5 :

La superficie du vignoble Ouest Mitidja El Affroun est de 6ha, âgé de 8ans planté en ligne avec un mode de conduite en palissage.

Exploitation N°6:

La superficie du vignoble de la station privé de Bourroumi est de 2.67ha, âgé de 8ans planté en ligne avec un mode de conduite en palissage.

Exploitation N°7 :

La superficie du vignoble de la station privée d'Oued Ziboudj Hoceinia est de 1.50ha, âgé de 27ans planté en ligne avec un mode de conduite en palissage.

2.3. Campagne 2004-2005 :

La partie expérimentale a été réalisée par LECHEB au niveau de deux sites :

- Institut technique d'Arboriculture fruitière (I.T.A.F) de Tessalat-El-Mardja.
- La ferme pilote de Zerdali.Bourkika (Hadjout).

Les prélèvements d'échantillons ont été effectués sur trois parcelles différentes dans la station de Tessalat-El-Mardja (Parcelle ; Parc à bois-1-, Parcelle ; nouvelles variétés, Parcelle Parc à bois-2-) et sur deux parcelles, ils étaient basées sur l'observation visuelle des symptômes

2.4. Campagne 2013-2014 :

Le nombre de stations prospectées dans différents parcelles de vigne de différentes régions était de 6 : wilaya d'Alger, Boumerdes, et Médéa, où le choix de ces derniers a été motivé par la variabilité des conditions pédoclimatiques de ces régions et d'autre part par la variation des cépages et du porte-greffe.

Exploitation N° 1 :

La superficie du vignoble d'Ain banian Alger est de 3 ha de Cardinal et 3 ha de gros noir, planté en ligne, greffés sur SO₄ et âgé de 23 ans. L'irrigation est basée sur le système traditionnel par rigole avec un système de conduite en palissage, des traitements ont été effectués (Fig.15).



Figure 15: Vignoble d'Ain banian (Google earth, 2014).

Exploitation N°2 :

Ce vignoble est situé à Bentalha Alger et est d'une superficie de 4ha. Ce vignoble est composé de cardinal, planté en ligne, greffés sur SO₄ âgé de 4 ans. L'irrigation est basée sur le système traditionnel par rigole avec un mode de conduite en palissage. Ce vignoble était en jachère avant la plantation de la vigne. Des traitements ont été effectués (Fig.16).



Figure 16 : Vignoble de Bentalha (Google earth, 2014).

Exploitation N3 :

Ce vignoble se situe dans la commune de Dar el Beida Baghlia wilaya Boumerdes est de 2.1ha de Sabel greffés sur SO₄ et de 0.9ha de RED-GLOBE greffés sur 41B, planté en ligne avec un système d'irrigation goutte à goutte et un mode de conduite en pergola. Des traitements ont été effectués (Fig.17).



Figure 17: Vignoble de Baghlia (Google earth, 2014).

Exploitation N4 :

Ce vignoble est situé à Ain-Skhouna dans la Wilaya de Boumerdes. Sa superficie est de 6ha est composé de Cardinal greffés sur le SO₄ planté en ligne avec un

système d'irrigation en rigole et un mode de conduite en palissage. Des traitements ont été effectués (Fig.18).



Figure 18: Vignoble d'Ain Skhouna (Google earth, 2014).

Exploitation N°5:

Ce vignoble est situé à Benchicao (station d'ITAFV) dans la Wilaya de Médéa. Sa superficie est de 2.31ha est composé de Muscat et de Dattier de Bayrouth, planté en ligne avec un système d'irrigation en rigole et un mode de conduite en palissage. Des traitements ont été effectués

Exploitation N°6 :

Ce vignoble est situé à Naciria dans la Wilaya de Boumerdes, Sa superficie est de 2.5ha. Composé de Muscat planté en ligne avec un système d'irrigation en rigole et un mode de conduite en palissage. Un programme de traitement été effectués

2.5. Campagne 2014-2015 :

Le nombre de sites prospectés par BRADA et TAMAOUCHT est de 4 régions :

Exploitation N°1 : Tessalat El Mardja est de 1.48ha composé de 2 variétés Cardinal et Dattier de Bayrouth planté en ligne.

Exploitation N°2 : Affroun est de 9ha de Dattier de Bayrouth.

Exploitation N°3 : Benchicao composée de 3 variétés Muscat, Muscat italiae et Dattier de Bayrouth.

Exploitation N°4 : Ain Benian sa superficie est de 3ha de Cardinal.

3. Méthode d'échantillonnage :

Deux techniques d'échantillonnage ont été utilisées depuis la détection de cette maladie, il s'agit de l'aléatoire et la diagonale.

La méthode aléatoire :

Cette méthode consiste à prélever de 5 à 10 échantillons de vigne malade et 10 échantillons de vigne d'apparence saine aléatoirement dans les vignobles selon l'importance de la parcelle et la sévérité des symptômes, cette technique est appliquée durant les campagnes 2001-2002 par MELOUK, 2004-2005 par LECHEB, 2004-2005 par TABOUCHE et 2014-2015 par BRADA et TAMAOUCHT

La méthode de la diagonale :

Cette méthode consiste à délimiter une superficie de 1ha délimitée de la superficie globale. Les prélèvements des feuilles, sarment et sol ont porté uniquement sur 10 vignes avec symptômes type court-noué et 10 vignes sans symptômes. Or les vignes de la périphérie n'étaient pas concernées par cet échantillonnage, cette méthode a été appliquée par KHENCHELAOUI et GUENANE 2013-2014 (Fig.19).

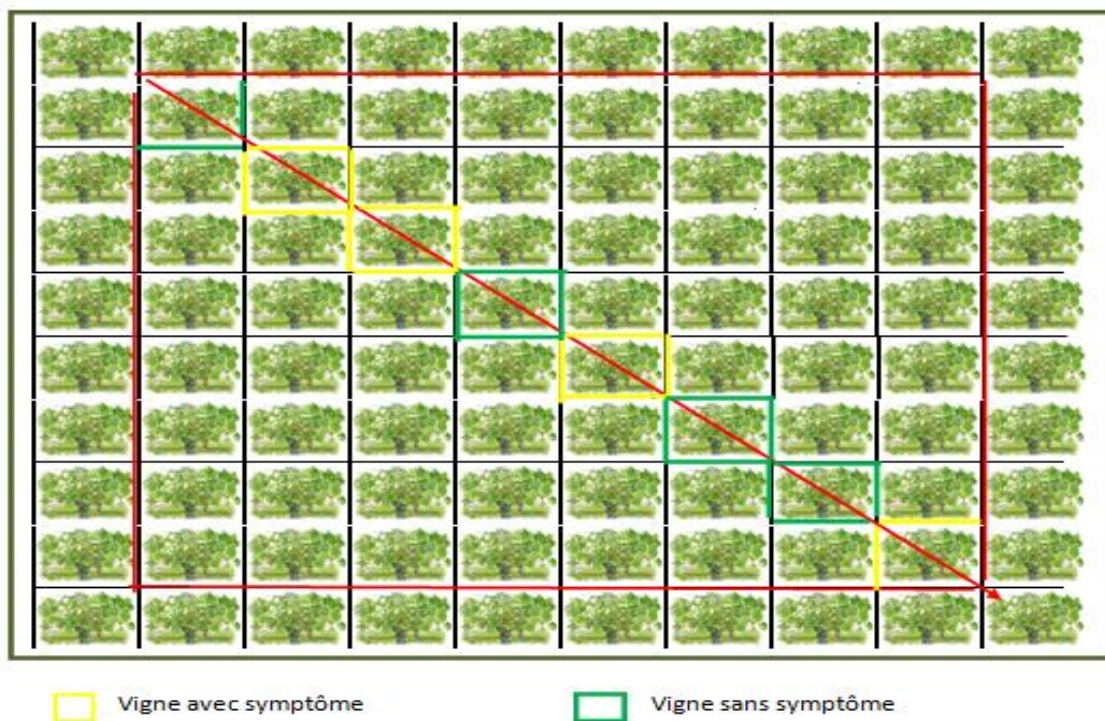


Figure 19 : Méthode d'échantillonnage en diagonale (KHENCHELAOUI et GUENANE, 2014).

a. Méthode de prélèvement des feuilles :

Selon le protocole de la diagonale (Fig.19). Les prélèvements concernant la partie aérienne ont porté uniquement sur les feuilles et entre-nœuds. Les échantillons prélevés sont mis dans des sacs en papier et conserver au froid à 4°C.



Figure 20 : Echantillons de feuilles et saremment prélevé (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

b. Méthode d'échantillonnage du sol :

Selon le protocole de la diagonale. Les prélèvements concernant la partie sous terrain ont été effectués à une profondeur de 10 à 70cm. Un poids de 200 g de sol est prélevé dans la rhizosphère des plants à l'aide d'une pioche ou une tarière. Les *Xiphinema* ont une grande longévité, tous les stades sont présents pendant toute l'année (PAYAN, 1984). Selon ESMENJAUD (1986), l'échantillon doit être au moins de 2kg 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 et parfois beaucoup moins). Les échantillons prélevés sont placés dans des sacs plastiques individuels et fermés pour éviter le dessèchement du sol. Les échantillons sont conservés au froid à 5°C afin d'éviter le dessèchement du sol et la mort des nématodes. Chaque sac contient des étiquettes mentionnant la date du prélèvement, la variété, nature de l'échantillon. (Fig.21).



Figure 21: Echantillons du sol prélevé (KHENCHECHELAOUI et GUENANE, 2014).

4. Détection du virus *GFLV* :

4.1. Diagnostic visuel direct :

Il est basé sur la recherche des symptômes typique du court-noué (aplatissement, raccourcissement des entre-nœuds, malformation des feuilles) Dans chaque vignoble prospecté nous avons recueilli des informations sur l'âge des ceps, l'encépagement, les modes de conduite, les traitements phytosanitaires effectués, en plus des conditions pédoclimatiques. Cette technique été utilisée depuis la détection de cette maladie 2001-2015.

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 (KIRALY et AL, 1974). Pour cela elles ont utilisées une plante herbacée de disponible, il s'agit du concombre *Cucumis sativus L* variété super maketer cette technique été utilisée par MELOUK en 2001, 2004 par TABOUCHE, 2015 par BRADA et TAMAOUCH



Fig. 22: Préparation des pots (BRADA et TAMAOUCHT, 2015).

Cette méthode permet la mise en évidence et l'étude des virus transmissibles mécaniquement sur une gamme d'hôtes herbacées, le semis à lieu directement dans des pots en plastique. Ces derniers sont remplis d'un mélange (1/3 sable, 1/3 terre et 1/3 tourbe). en 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 virosées ont été broyées dans un mortier à raison de 1g dans 4ml de tampon phosphate (0.1m, pH= 7.3) qui a pour effet de stabiliser le virus et d'une solution aqueuse de nicotine base (2.5%) qui permet la neutralisation des tanins et des polyphénols (VUITTNEZ, 1966). le charbon actif et le carborundum sont additionné au broyat. L'inoculation est effectuée par frottis avec l'index sur jeunes cotylédons, après 1 minute les feuilles sont rincées à l'eau du robinet, les plantes sont placées dans un phytotron à une température de 25°C (MELOUK, 2001, TABOUCHE, 2004) ou dans la serre du laboratoire de virologie département de biotechnologie à l'Université de Blida 1 par BRADA et TAMAOUCHT, 2015. Ensuite les observations de symptômes seront notées 14 jours après l'inoculation. (Fig.23).



Fig.23 : Les étapes d'inoculation mécanique à des hôtes herbacés (BRADA et TAMAOUCHT, 2015).

4.3. Détection sérologique :

4.3.1. Le principe du test ELISA :

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

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

4.3.2. DAS-ELISA :

a. Extraction du virus :

Tous les échantillons prélevés du terrain sont pesés individuellement et uniquement, 1g de feuille fraîche est broyé séparément à l'aide d'un mortier dans 5ml de solution tampon de broyage. Les jus sont récupérés des échantillons et ensuite mis dans des tubes et conservés à froid 4°C (Fig.24).



Figure 24 : Les étapes d'extraction (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

Il est souhaitable d'adopter un plan standard au niveau du laboratoire. Déposer chaque échantillon dans un puits et au moins répété 1 fois (2 puits) (Fig.25).

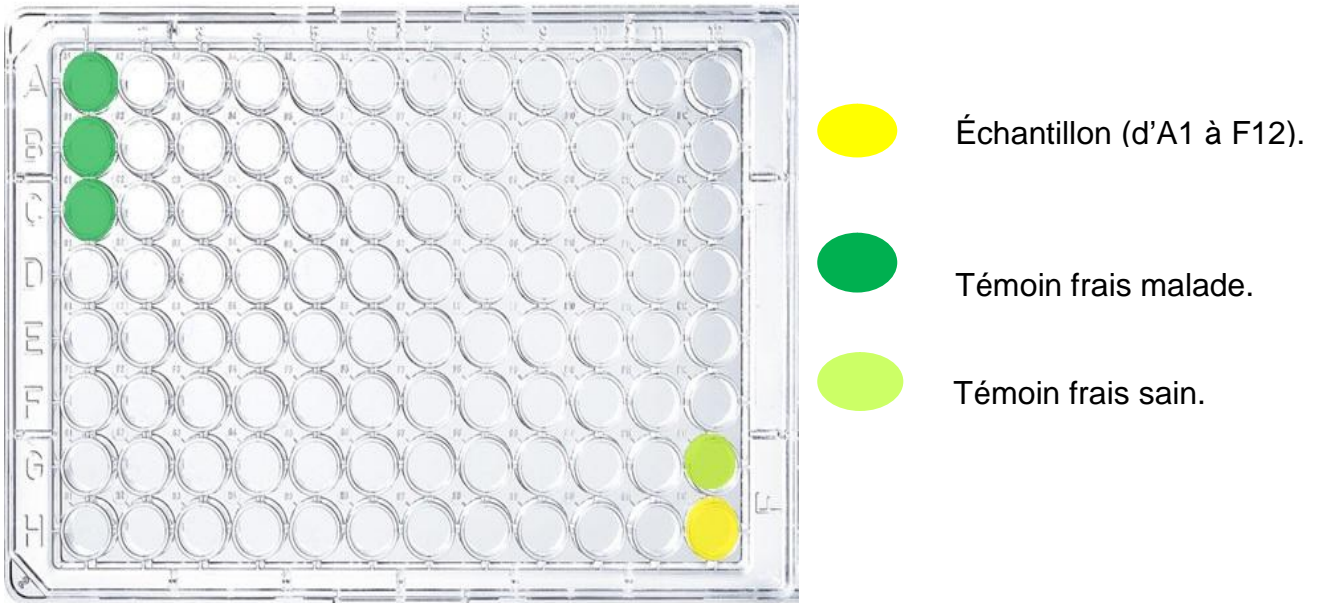


Figure 25 : Plan de la plaque ELISA (KHENCHECHELAOUI et GUENANE, 2014).

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

Etape 1 : Fixation des anticorps

Pour le dépôt des anticorps, 100 µl d'une solution d'anticorps diluée au 1/1000 dans le tampon anticorps sont déposés dans les puits des plaques ELISA (Fig.26).



1 : Préparation d'anticorps



2 : Dépôt d'anticorps.

Figure 26 : Fixation d'anticorps (KHENCHECHELAOUI et GUENANE, 2014).

Incubation :

Un dispositif efficace doit être mis en œuvre pour éviter l'évaporation dans les puits lors des différentes phases d'incubation. Pour limiter ce phénomène on peut recouvrir la plaque de microtitration et les disposer dans l'étuve à la température de 30 C° pendant 4 h (Fig.27).



Figure 27: Incubation de la plaque pendant 4h à 30°C (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

➤ Lavage :

3 lavages avec du tampon PBS-TWEEN (Fig.28)

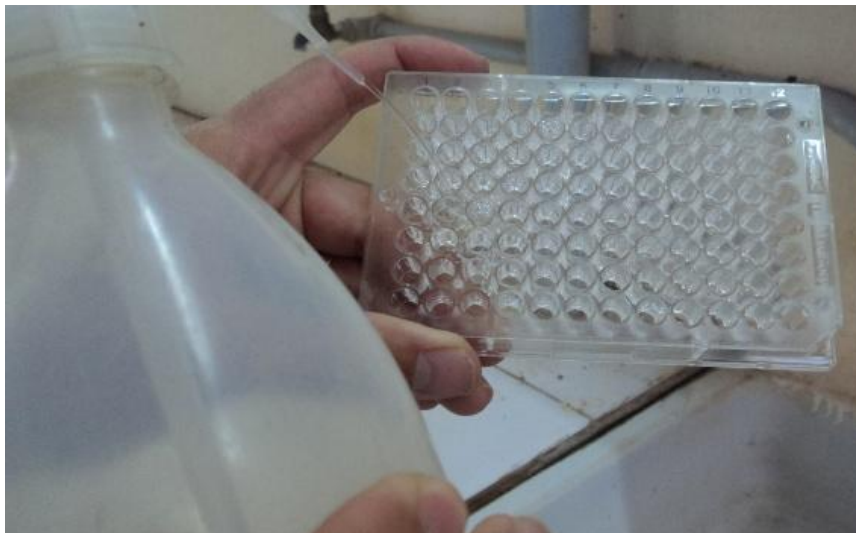


Figure 28 : Lavage avec du tampon PBS-TWEEN (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

Etape 2 : Dépôt des échantillons :

Remplir les puits de la plaque de microtitration à raison de 100 μ l /puits avec les extraits des échantillons selon le plan de plaque préalablement défini en utilisant une micropipette et en changeant de cône entre chaque extrait (Fig.29).

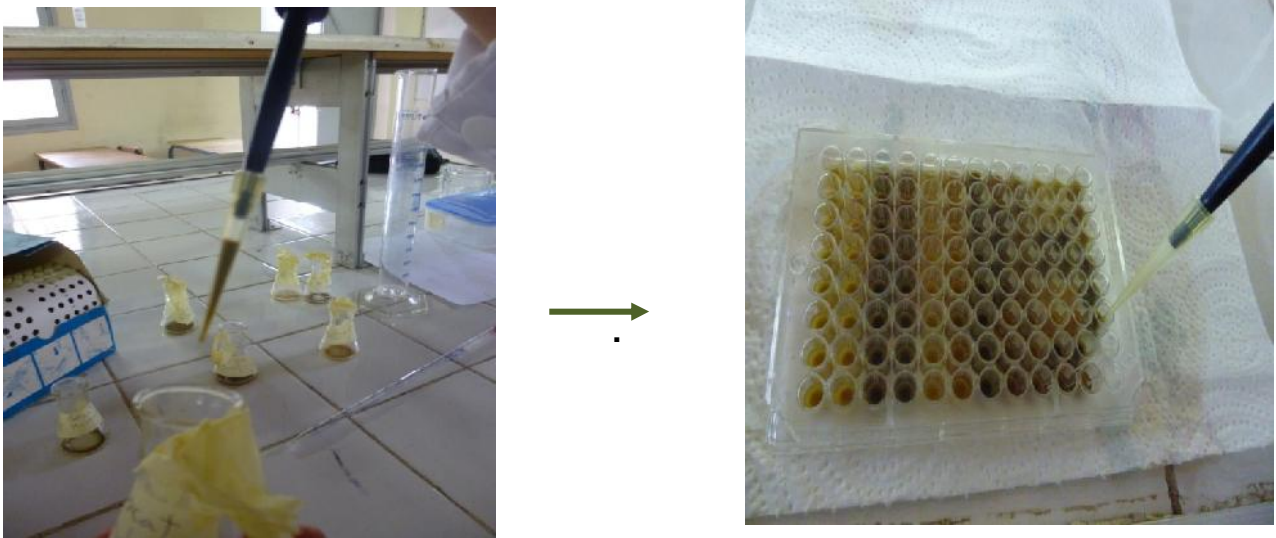


Figure 29: Dépôt des échantillons (KHENCHECHELAOUI et GUENANE, 2014).

- **Incubation** : 1 nuit à 4 C°.



Figure 30 : La plaque après 1 nuit (KHENCHECHELAOUI et GUENANE, 2014).

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

Etape 3: Dépôt des anticorps conjugués

Pour le dépôt des anticorps conjugués, 100 μ l d'une solution d'anticorps conjugué diluée au 1/1000 dans le tampon anticorps conjugués sont déposés dans les puits des plaques ELISA (Fig.31)



Figure 31 : Dépôt des anticorps conjugués (KHENCHECHELAOUI et GUENANE, 2014).

- **Incubation** : 5h à 30 C°.
- **Lavage** : 3 lavages avec du tampon PBS-TWEEN.

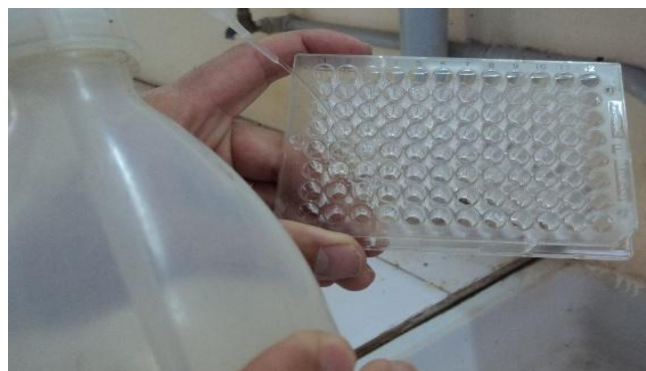


Figure 32 : lavages avec du tampon PBS-TWEEN. (KHENCHECHELAOUI et GUENANE, 2014).

Etape 4 : Dépôt du substrat

Le substrat est mis en solution extemporanément dans le tampon et homogénéisé avant distribution dans les puits. Les puits des plaques de microtitration sont rempli

selon le plan de plaque préalablement défini en utilisant une micropipette ou un distributeur à raison de 100µl /puits (Fig.33).



Figure 33 : dépôt du substrat (KHENCHECHELAOUI et GUENANE, 2014).

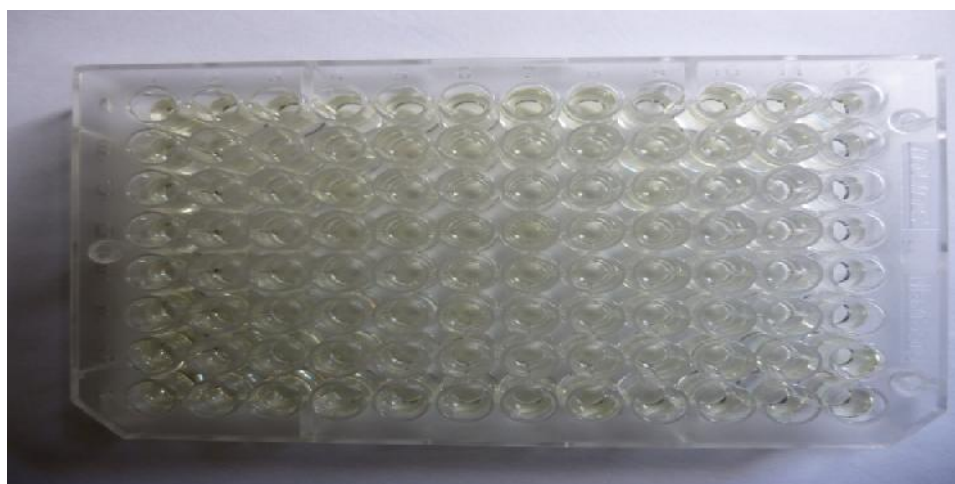
- **Incubation** : 30 min à 37 C° puis à température ambiante.
- **Lecture** : 30 min, 1h et 2h après dépôt de substrat.

Etape 5 : Lecture des résultats

Plusieurs lectures peuvent être réalisées à des temps différents. Le substrat de l'enzyme phosphatase alcaline est le 4-nitrophényl phosphate. La lecture se fait à 120 mn. Un échantillon est considéré positif lorsque sa couleur vire du blanc transparent au jaune.



1^{er} lecture après 30mn



2^{ième} lecture après 60mn



3^{ième} lecture après 120mn

Figure 34 : Lecture des résultats (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

Cette technique a été utilisée par (LECHEB, 2004), les échantillons testés proviennent des prospections effectuées sur différents stations Tesselat El Mardja et Bourkika ou le nombre total était 216 échantillons qui ont été testés de différentes variétés (*Alphonse lavallée, Muscat d'Alexandrine, Muscat de Hambourg, King's Ruby, Centenial, Cardinal, Dattier de Bayrouth, Merlot, Pinot noir*), et par (TABOUCHE, 2004), les échantillons testés proviennent des prospections effectuées sur différentes stations : Chiffa, Blida, Mouzaia, El Affroun, Hamr El Ain, Bourroumi et Hoceinia sur différentes variétés (*Muscat, Dattier de Bayrouth, Gros noir, port greffe SO₄*) le nombre total était 870 échantillons qui ont été testés. Durant la campagne 2013-2014 par (KHENCHELAOUI et GUENANE), les échantillons testés proviennent des prospections effectuées sur différentes régions : Boumerdes, Alger, Médéa sur différentes variétés (Gros noir, Cardinal, Dattier, Muscat, Sabel, Red-Globe) 90 échantillons qui ont été testés.

5. Analyse nématologique des parcelles :

L'analyse nématologique est nécessaire pour déceler la présence des nématodes vu leur responsabilité dans les dégâts observés, la détermination des espèces de nématodes comprend une série d'opérations

a. Méthodologie :

L'analyse nématologique est réalisée selon les étapes suivantes :

- Sortie sur terrain et prélèvement des échantillons du sol.
- Extraction des nématodes du sol par la méthode des seaux (DALMASSO, 1996).
- Dénombrement des nématodes.
- Fixation
- Montage et identification

b. Extraction et dénombrement :

i. Extraction :

L'extraction consiste à séparer les nématodes du sol et des racines pour les identifier et les compter, La méthode d'extraction utilisée est celle des seaux de (DALMASSO, 1966), dite méthodes de flottaison et sédimentation. Elle est basée sur les différences de densité entre les nématodes et les différentes particules du sol. Elle

nous permet d'extraire les nématodes de différente taille du sol en superposant des tamis à différentes mailles.

❖ Matériel : (Annexe A) (Fig.35).



Figure 35 : Matériel d'extraction des nématodes (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

❖ **Protocole** : Extraction des nématodes par la méthode des seaux DALMASSO ; 1968) (Fig.36).

- Homogénéisation des sols au laboratoire sur un plateau (Fig. A).
- Mettre 250ml de terre dans un bécher en suspension dans un seau en plastique, sous forme courant d'eau. (Fig.B).
- Ajouter l'eau de 6 à 7 litres dans le 1^{er} seau en mélangeant à l'aide d'un bâton (Fig.C, D).
- Laisser reposer de 30 s à 1min (Fig.D).
- Passer les nématodes à travers le tamis de 90 μ m (Fig.E).
- Récupérer successivement le contenu du tamis à l'aide d'un jet d'eau de pissette dans un cristallisoir (Fig.F).
- Répéter les opérations deux à trois fois, la plus grande partie des nématodes se trouve dans l'eau du 2^{eme} seau.
- Procéder à la purification par passage actif des nématodes car la solution obtenue après extraction est boueuse. Impossibilité d'observer les nématodes à ce stade.
- Préparer les tamis en plastique avec du papier hygiénique humidifié (Fig.G).
- Passer le contenu du cristallisoir pour chaque échantillon, à travers les tamis précédemment préparés celui-ci est placé au préalable dans des assiettes en plastiques (Fig.H).

- Laisser la diffusion pendant 3 jours (Fig.I).



Figure 36 : Etapes d'extraction des nématodes et le passage actif (KHENCHELAOUI et GUENANE, 2014).

Cette méthode a été utilisée par MELOUK, 2001 par TABOUCHE, 2004 par KHENCHELAOUI et GUENANE, 2014 et par BRADA et TAMAOUCHT, 2015.

ii. Dénombrement :

- ❖ matériel : (Annexe A)



Figure 37 : Matériels de dénombrement (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

❖ **Méthode :**

Pour évaluer la densité totale et celles des taxons dans nos échantillons et après avoir passé un délai de 3 jours, le contenu de chaque assiette est versé dans les tubes à essai de 50ml et laisser se décanter pendant 1 heure. Le contenu est réajusté à la graduation adéquate (25, 50,75 ou 100ml) en fonction de la densité des nématodes dans le tube. Après homogénéisation des tubes 5ml ont été prélevés et déposer dans la cellule de comptage pour le dénombrement et l'identification morphologique basée sur l'observation de certains caractères discriminants (longueur et forme du stylet, forme de la tête et de la queue, longueur du corps, disposition de la glande œsophagienne par rapport à l'intestin) sous loupe binoculaire(G). Les populations de nématodes du sol sont exprimées en nombre de nématode par dm^3 (N/dm^3), (MERNY & LUC, 1996). (Fig.38).



Figure 38 : Dénombrement et identification morphologique (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

iii. Pêchage et Fixation :

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

- ✓ Matériel : (Annexe A)
- ✓ Méthode de fixation :

Quelque goutte 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 24h. 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 d'alcool 95% sont déposées à 30 min d'intervalle entre la 1^{ère} goutte et la 2^{ème} goutte. L'opération doit se répéter 3 fois, ensuite les coupelles sont recouvertes avec de boîtes de pétri pour diminuer l'évaporation (TABOUCHE, 2004)

Cette méthode a été utilisée par MELOUK, 2001 par TABOUCHE, 2004 par, 2014 et par BRADA et TAMAOUCHT, 2015.

iv. Montage :

- ✓ **Matériel** : annexe A
- ✓ **Méthode** :

La suspension récupérée au bout de 24h à 48h 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 ongles afin de fixer la lamelle. Chaque lame est accompagnée des renseignements suivants : date, lieu de prélèvement, l'espèce (TABOUCHE, 2004)

Cette méthode a été utilisée par MELOUK, 2001 par TABOUCHE, 2004 et par BRADA et TAMAOUCHT, 2015 sur les différentes stations et cépages.

RESULTAT ET DISCUSSION

1. Aspect végétatif des vignobles :

Au cours des prospections effectuées durant les campagnes de 2001-2015, les observations générales dans les vignobles étudiés pendant la période printanière (mai, juin). Les symptômes du court-noué ont été clairement observés. D'une manière générale, nous avons noté :

- Une densité de plantation assez élevée ;
- Les viticulteurs arrachent les ceps au fur à mesure qu'ils observent des dépérissements, en procédant à leur remplacement par des jeunes plants (le cas de la station de Ain skhouna), provoquant une hétérogénéité végétative et un déséquilibre dans la production ;
- Le sol bien travaillé et entretenu surtout les stations de Ben talha, Ain skhouna et Naciria par contre les stations de Ain banian et Baghlia envahi par des adventices comme le *Papaver rhoeas* (coquelicot) et *Chenopodium Album* ;
- Un feuillage dense provoquant beaucoup d'ombre sur les feuilles inférieures, synonyme d'une faible activité photosynthétique due à une mauvaise exposition au soleil. Il est utile de rappeler que de telles conditions favorisent l'installation et le développement d'une multitude d'agent pathogènes.

1. Résultats de la symptomatologie :

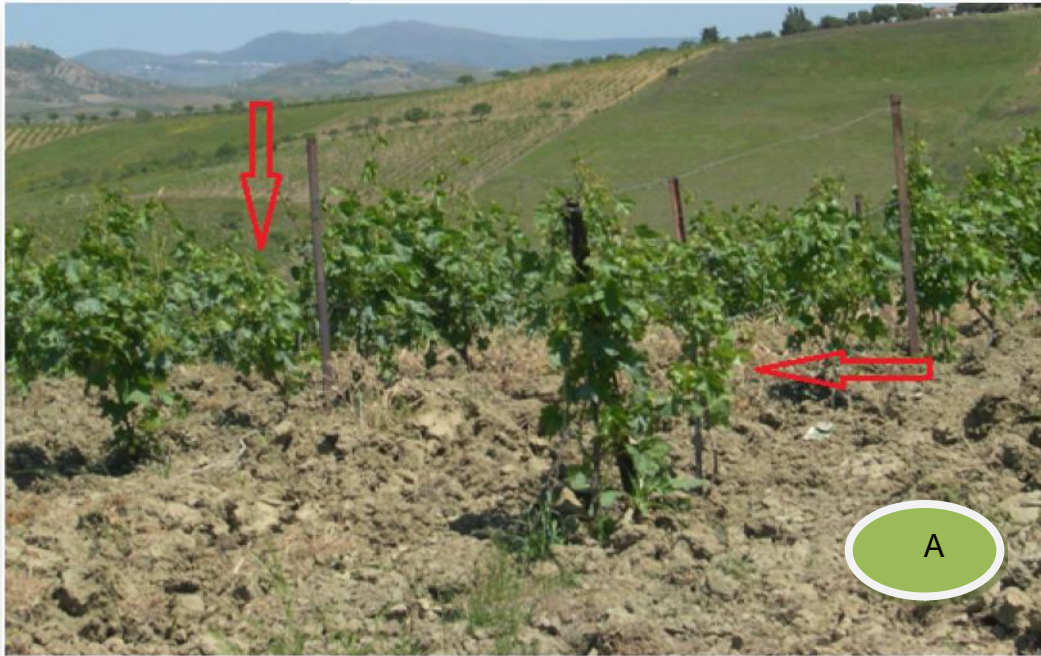
Nous avons pu déceler deux principaux type des symptômes typique du court-noué sur différents variétés de vigne : la malformation, et la panachure ordinaire.

➤ La malformation :

Plusieurs aspects de malformation

- Les ceps présentent un aspect, parfois buissonnant (Fig. 38).
- Une taille réduite et une morphologie déformée des feuilles (Fig39, 40, 41, 42).
- Un raccourcissement des entres nœuds provoquant un développement en touffe et la présence des doubles nœuds, croissance en Zigzag
- Un aplatissement des rameaux et même des pétioles.

- **Aspect buissonnant** : ce symptôme n'est pas très abondant sur tous les vignobles, il est présent uniquement sur les variétés Cardinal de Ain skhouna, et Grand-noir de Ain banian.(Fig.38)



A : Aspect buissonnant dans le vignoble d'Ain skhouna.



B : Aspect buissonnant du Grand-noir d'Ain banian.

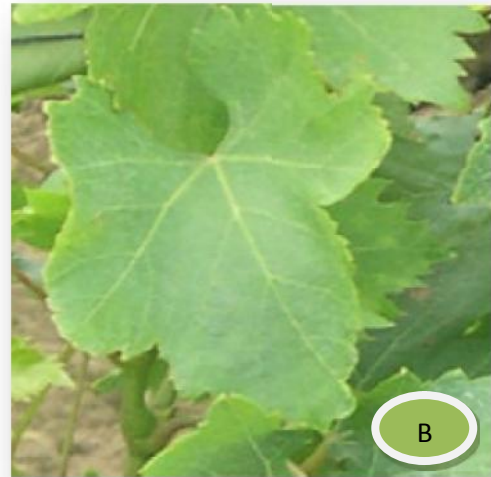
Figure 39 : Symptôme d'un aspect buissonnant (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

- **Sur feuille :**

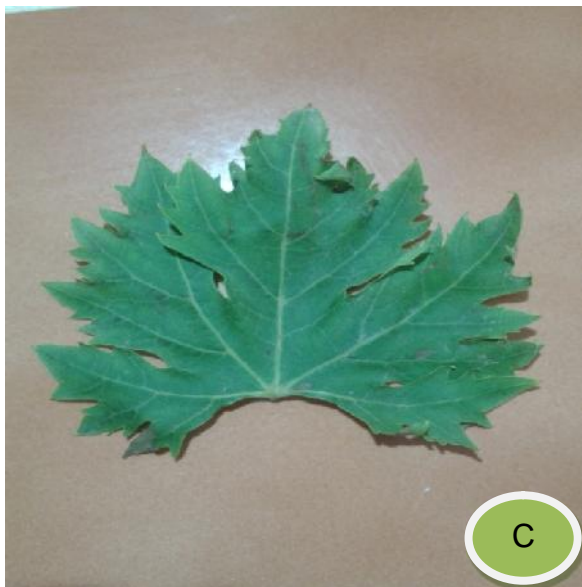
Le symptôme de malformation extériorisé par les feuilles était très fréquent dans le vignoble de Tademaït par rapport aux autres vignobles (Fig.31).



A : Limbe asymétrique et dentelure acérée de Muscat de Naciria



B) Limbe déformé de Cardinal de d'Ain banian.



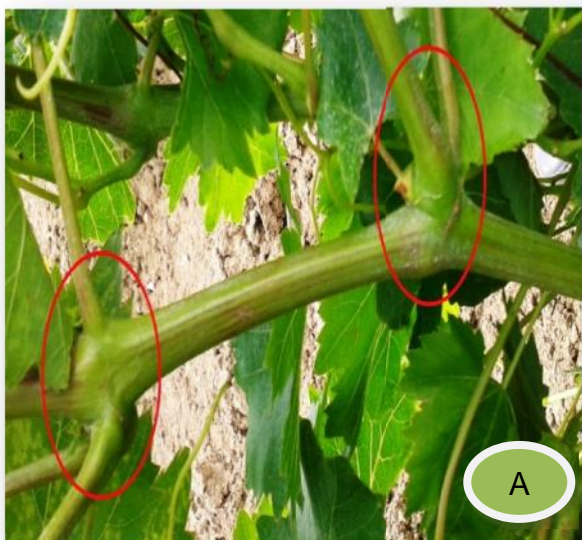
C : Feuille en forme d'un éventail



D : Rétrécissement du limbe sur Cardinal de Bentalha.

Figure 40 : Malformation des feuilles (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

- Sur rameaux :
 - **Double nœuds** : Ce symptôme est le plus fréquent dans tous les vignobles



C : Double nœud sur la variété Cardinal d'Ain skhouna.

D : Double nœuds sur la variété Grand noir d'Ain banian.



C : Sur Cardinal de Bentalha.

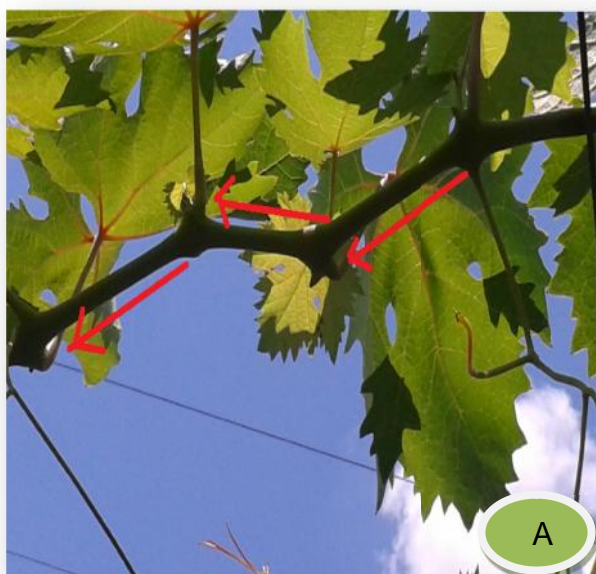
B : Sur Sabel de Baghlia

Figure 41 : Symptôme sur double nœud (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

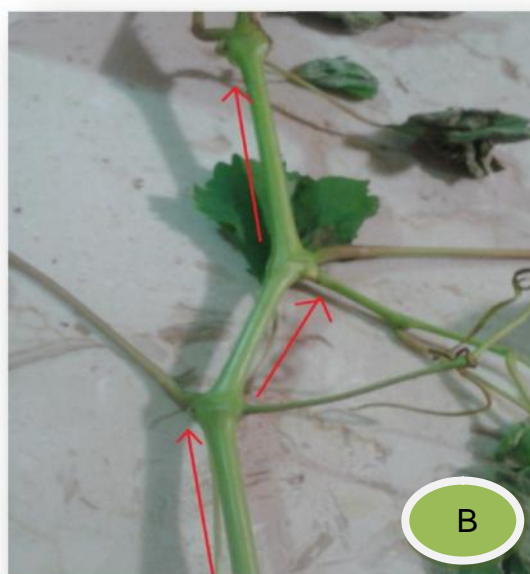
- Racourcissement des entre-nœuds et la croissance en Zigzag :



Figure 42 : Racourcissement des entre noeuds de la variété Red-globe de Baghlia (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).



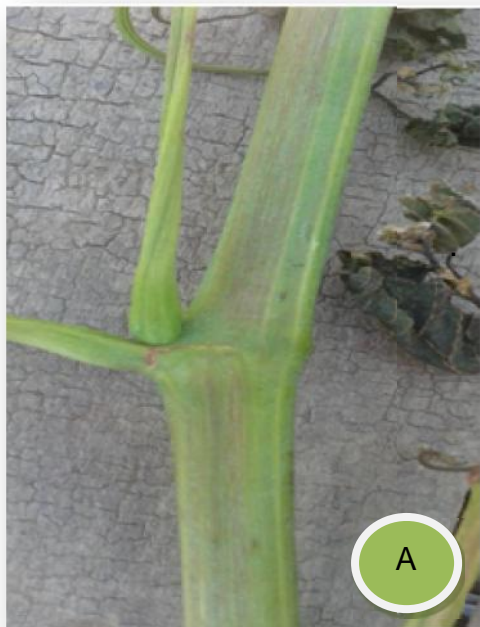
A : Rameau en Zigzag de la variété Sabel de Baghlia.



B : Rameau en Zigzag de la variété Cardinal Bentalha.

Figure 43 : Symptôme de racourcissement des entre-nœuds la croissance en Zigzag (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

▪ Aplatissement :



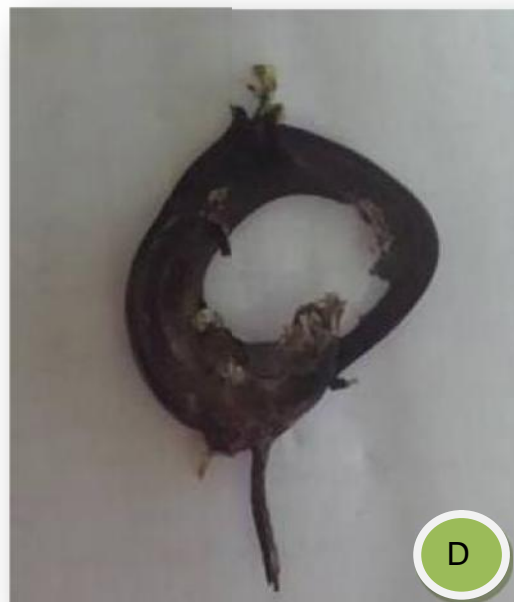
A : Sur Sabel de Baghlia



B : Sur Cardinal d'Ain banian.



C : Sur Muscat de Tademaït.



D : Sur Cardinal d'Ain

Aplatissement

Figure 44 : Symptôme d'aplatissement sur différents variétés (KHENCHECHELAOUI et GUENANE, 2014).

Bifurcation :



A : Sur Sabel de Baghlia



B : Sur Muscat de Tademaït

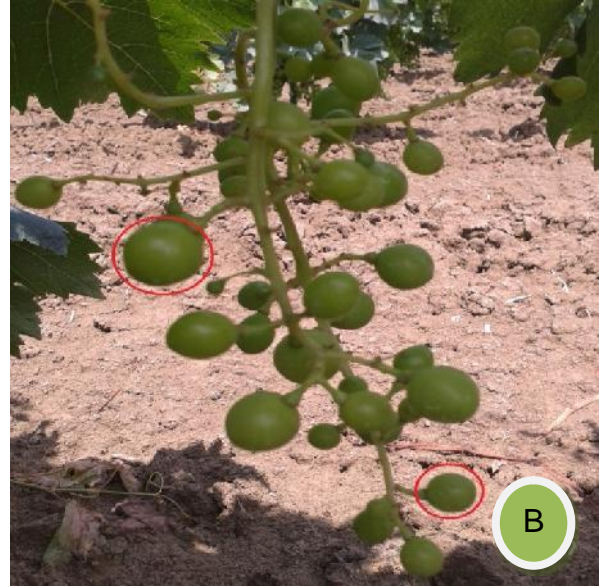
Figure 45: Symptôme de bifurcation (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

▪ Sur grappe :

Des anomalies observé pratiquement sur tous les vignobles prospectés, la réduction de la taille des baies, réduction du qualibre des baies.



A : Sur Cardinal d'Ain banian



B : Sur Cardinal d'Ain skhouna



C : Sur Cardinal d'Ain skhouna. (Personnelle 2015)

Figure 46 : Réduction du calibre des baies ((KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014 ; Personnelle, 2015).

- **Panachure ordinaire :**

Ce symptôme est très rare dans tous les vignobles, nous avons décelé la Panachure ordinaire dans le stade primaire de la variété Cardinal d'Ain skhouna, les infections avec ce symptôme provoque un jaunissement du limbe



Figure 47 : Panachure ordinaire du limbe(KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

- **Jaunissement partiel du feuillage :**



Cardinal d'Ain skhouna

Grand noir d'Ain banian



Figure 48 : Symptôme de jaunissement partiel des ceps (KHENCHECHLAOUI et GUENANE, 2014).

Discussions :

D'après nos observations en plein champ, nous avons remarqué que les symptômes observés rappellent ceux provoqués par le *GFLV*. Les symptômes caractéristiques du court-noué observé sur tous les vignobles étaient de faible densité et, consiste à un aspect d'éventail, taches jaunes de forme irrégulière disséminées sur limbe et aux niveaux des sarments, entre nœuds courts, aplatissement et croissance en zigzag, raccourcissement des entre nœuds et présence de doubles nœuds. Ces symptômes ont été observés par MELOUK, 2001 par TABOUCHE, 2004 par LECHEB, 2004 par KHENCHELAOUI et GUENANE, 2014 par Brada et TAMAOUCHT, 2015, KHENCHELAOUI, 2015 et signalés par Martelli (1985) dans les vignobles algériens.

➤ Campagne 2001-2002 :

Les symptômes sont dispersés de la manière suivante dans les parcelles observées :

- Pour la station1 de Chiffa (les porte-greffes), les pieds malades sont disposés au hasard.
- C'est le cas aussi de la parcelle de la station de biotechnologie ex Agronomie (site 4) mais ces symptômes sont moins prononcés que les autres parcelles.
- Par contre les autres parcelles présentent des symptômes groupés formant un ou plusieurs taches qui sont plus ou moins circulaires.

➤ Campagne 2004-2005 :

D'après les observations de LECHEB en plein champs au niveau des deux stations :

- La station de Tessalat El Mardja, les symptômes les plus caractéristiques du court-noué, consistent en un développement en zig-zag des sarments, raccourcissement des entre-nœuds et présence de doubles nœuds, les feuilles en éventail ou en palmettes, ces symptômes ont été signalés par MARTELLI, 1985.
- A la station de Bourkika, les symptômes observés sont moins caractéristiques et ne ressemblent pas à ceux de Tessalat-El-Mardja.

Donc il existe une différence d'expression entre les deux stations. Cette différence peut s'expliquer par :

Soit le fait que c'est de nouvelle souche dans la station de Bourkika, soit par la différence des conditions climatiques.

➤ **Campagne 2004-2005 :**

Durant cette campagne TABOUCHE a remarqué que les stations prospectées présentaient les symptômes typiques du *GFLV*.

La sévérité des symptômes était marquée au niveau des stations de Bourroumi et de Hamr El Ain, et qu'elle était modérée dans les stations de Chiffa et Mouzaia.

Les symptômes étaient variables d'une station à une autre, la sévérité dans les stations de Chiffa et Mouzaia où TABOUCHE a remarquée des malformations des feuilles et des rameaux, très fortes au niveau de la station de Bourroumi et de Hamr El Ain où il y avait une abondance de symptômes de panachure et de malformation des rameaux

Dans la station Chiffa et de Mouzaia le symptôme le plus fréquent était le dépérissement. Celui ci était fort par rapport a celui de la station d'El Affroun. Pour les deux stations de Blida et Hoceinia, la sévérité était faible.

Cependant cette symptomatologie directe ne nous a pas permis de nous prononcer de façon certaine sur la présence du *GFLV*, en raison de l'existence des confusions possible entre ce dernier et autres maladies relatives aux autres pathogènes ou facteurs abiotiques. Dans de telles conditions la confusion de l'origine du dépérissement entre *GFLV* et *Eutypa lata* devient très complexe et difficile, un suivi symptomatologique s'impose, puisque cause un dépérissement progressif des ceps, donnant des sarments rabougris très semblables à ceux infectés par une forme très virulente de court-noué (BOVEY et al. 1980).

Résultats du test biologique :

Les symptômes de la maladie ont été observés le 7^{eme} jour après inoculation de l'indicateur herbacé. Ils sont généralement de type systémique caractéristique pour la famille des Cucurbitacées de type éclaircissements des nervures et ou un

jaunissement total durant les campagnes 2001-2002 par MELOUK, 2004-2005 par TABOUCHE, 2014-2015, par BRADA et TAMAOUCHT.

2. Résultats et discussion du test DAS-ELISA :

2.1. Résultats :

Ce test a permis la détection du virus *GFLV* au niveau des différents sites prospectés pour les campagnes 2004, 2004-2005, 2013-2014. La plupart des cépages ont répondu positivement à la DAS-ELISA mais avec un taux d'infection qui diffère d'un site à un autre sur tous les cépages sauf la station de Bourkika durant la campagne 204-2005 par LECHEB.

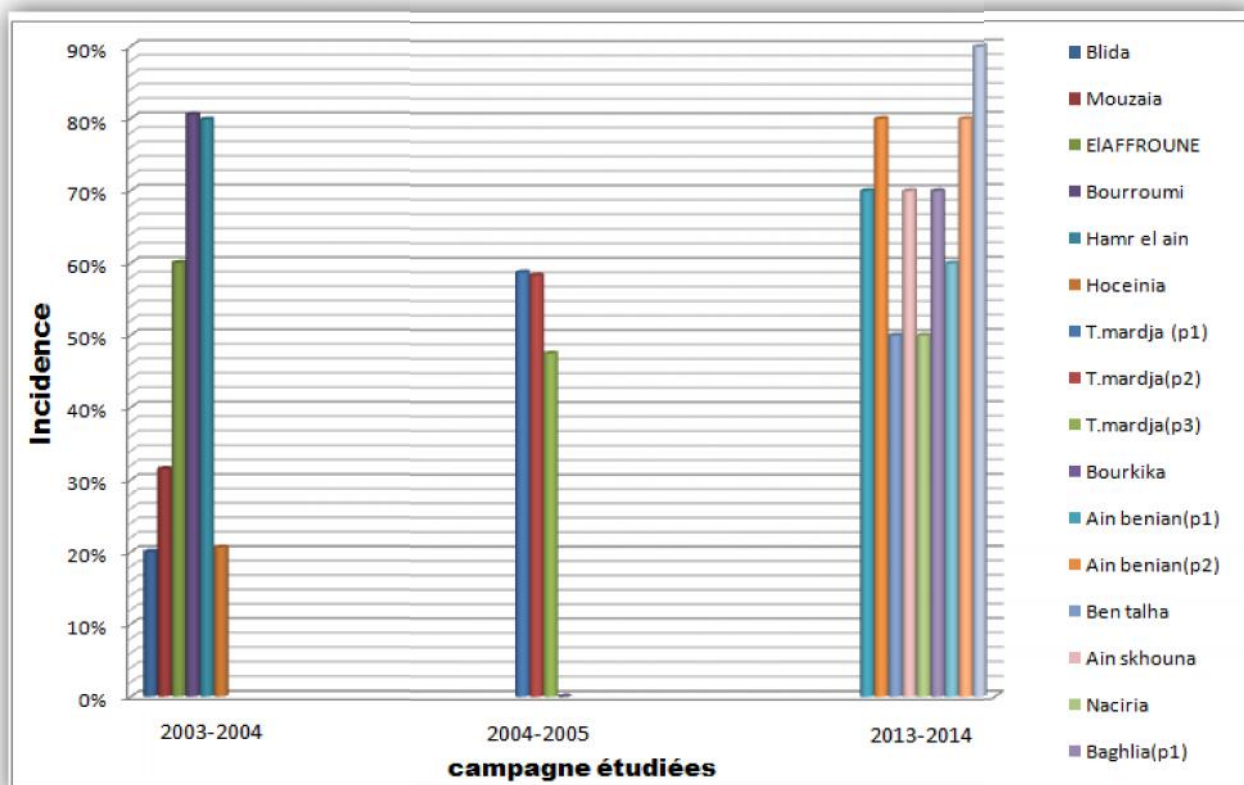


Figure 49 : Taux d’infection de différents cépages étudiés par test DAS-ELISA

• **Discussion du test DAS-ELISA :**

Pour l’étude de TABOUCHE en 2004, sur les 870 échantillons (feuilles et rameaux) de vigne prélevés au cours des prospections menées dans différents sites (Chiffa, Blida, Mouzaia, El Affroune, Bourroumi, Hamr el ain, Hoceinia) ont été testés par la technique DAS-ELISA, uniquement 395 ont répondu positivement, ce qui correspond

à un taux de 45.40%. 216 échantillons prélevés durant la campagne 2005, sur 150 échantillons testés de Tessel el Mardja uniquement 79 ont répondu positivement par contre 40 ont répondu négativement ou le pourcentage d'infection été de 52.66% ou la parcelle 2 et 1 s'est montrée plus infectées que la parcelle 3, et 36 échantillons testés de la parcelle de Bourkika aucun échantillon n'as donnée une réponse positive. L'absence du virus au niveau de cette parcelle peut être due à un bon entretien du vignoble ou il faut passer par un autre test TAS-ELISA. Concernant la campagne 2014, 180 échantillons prélevés de différents sites, cépages, type de sol et climat (Alger, Boumerdes, Médéa) dont 90 ont été testé et seulement 62 ont des réponses positive qui correspond a un taux d'infection 68.88% ou la région de ben chicao la plus sensible.

Les résultats obtenus en DAS-ELISA confirment ceux obtenus par MALOUK (2002) et TABOUCHE (2004) dans la région de Médéa, HADJI (1991), MORSELI (1995) dans la région de Benchicao, et pour les mêmes variétés (muscat et dattier) d'une part et vérifient la présence du GFLV dans les régions d'Alger (Ain banian et Bentalha) et Boumerdes (Ain skhouna, Baghlia et Naciria) d'autre part. Les résultats de la DAS-ELISA ont confirmé que les symptômes (panachure ordinaire, jaunissement, des déformations des feuilles, un raccourcissement des entres nœuds, un double nœud, une bifurcation et un aplatissement) relevé sur vignes des différentes stations (Ain banian, Bentalha, Ain skhouna, Baghlia, Naciria, et Benchicao, Tessel el Mardja, Bourkika, Bourroumi, Blida, Affroune, Mouzaia, Hamr el ain) et variétés (Cardinale, Gros noir, Sabel, Red-Glob, Dattier de Beyrouth et Muscat) sont produits par le *GFLV* et sont comparables à ceux décrits par MARTELLI, en (1992) et DIGIARO en (1997).

3. Résultats et Discussion de l'analyse nématologique :

3.1. Résultat :

- **Campagne 2001-2002 :**

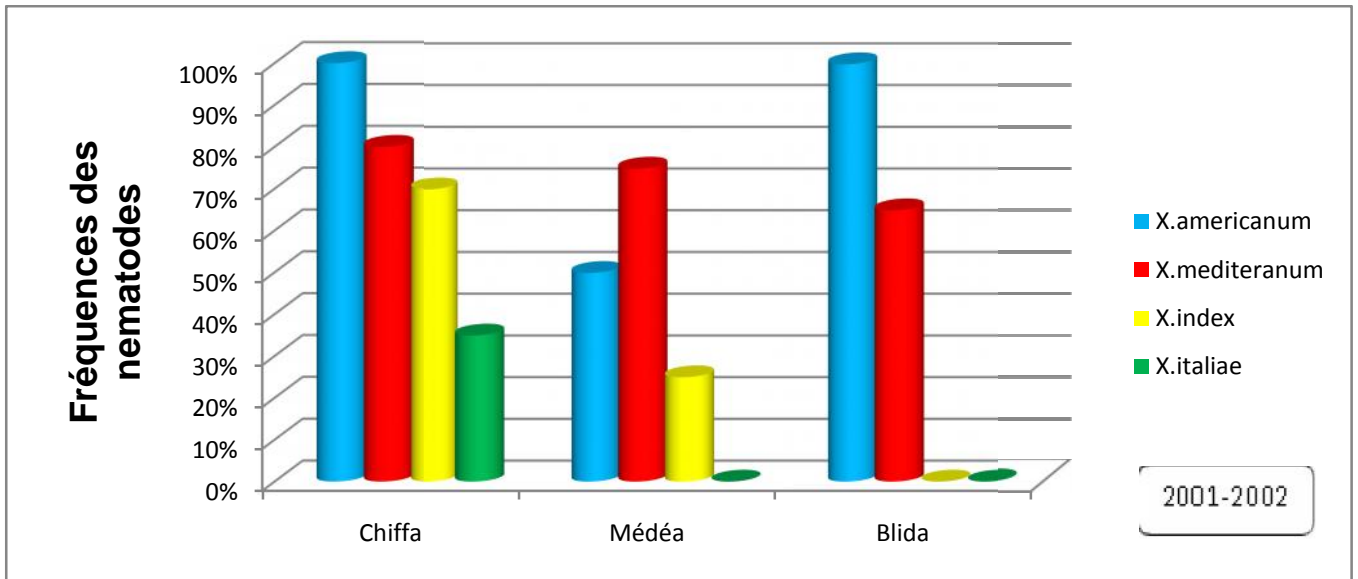


Figure 50 : Fréquences de différents nématodes en fonction des sites prospectés.

Discussion :

Pour l'analyse nématologique faite par MELOUK, 2002 durant la campagne 2001-2002 la présence des vecteurs du *GFLV* qui sont *X.index* et *X.italiae* confirme les observations des symptômes sur vignes dans les différents sites prospectés (Chiffa, Médéa, Blida) et le test biologique.

La présence des deux espèces vectrices du court-noue, l'âge et le mal entretien des vignobles explique probablement le grand nombre et la dispersion des ceps malades, dans la région de Chiffa la présence de *X.americanum* et *X.mediterraneanum* est plus fréquente que *X.index* et *X.italiae* par contre la région de Médéa MELOUK a noté la présence de *X.index* avec une moyenne fréquence et l'absence de *X.italiae*, dans la région de Blida MELOUK a marqué la présence du genre *Xiphinema spp* qui ressemble à l'espèce *X.index* et une forte fréquence de *X.americanum* et *X.mediterraneanum*.

- **Campagne 2003-2004 :**

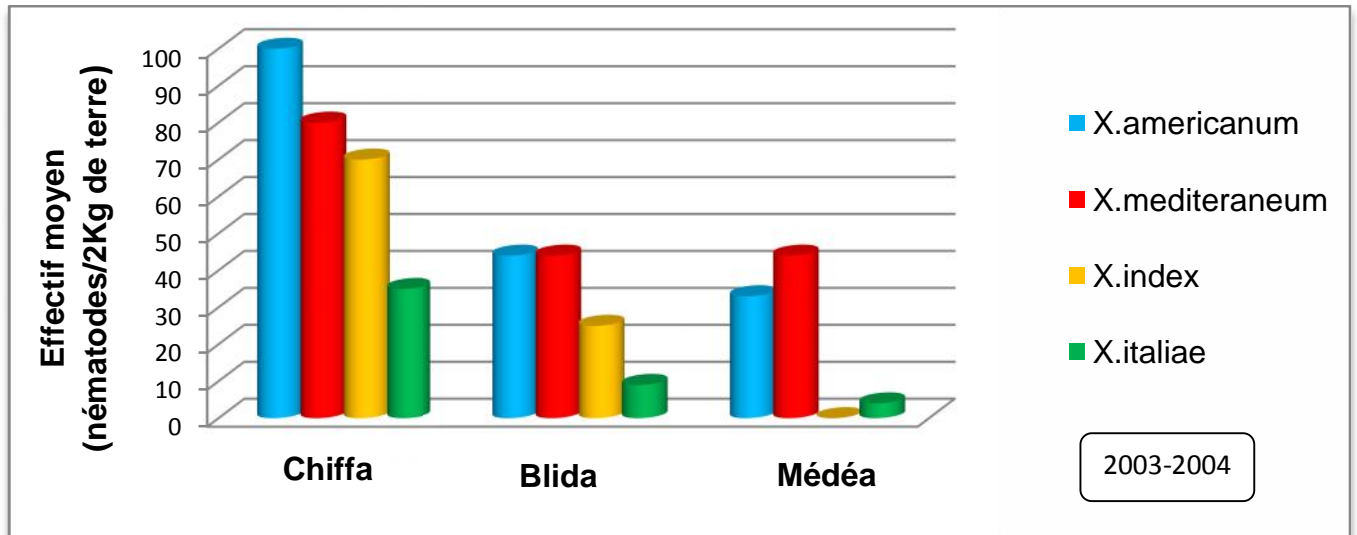


Figure 51 : Effectif moyen des espèces de *Xiphinema* dans les sites prospectés

Discussion :

L'étude de la nématofaune réalisée par TABOUCHE des différents sites (Chiffa, Médéa, Blida) a relevé la présence des deux vecteurs potentiels du court noué *X.index* et *X.italiae* avec des effectifs moyens différents d'un site à un autre. D'autres espèces du genre *Xiphinema* ont été identifiées (*X.americanum*, *X.mediterraneum*).

Dans la région de Chiffa l'effectif moyen de *X.index* *X.italiae* été remarquable ainsi que *X.americanum* et *X.mediterraneum* avec un effectif plus élevé, alors que dans la région de Blida été moins fréquente et dans la région de Médéa, absence total du *X.index* et un faible effectif de *X.italiae*.

- **Campagne 2014-2015 :**

D'après BRADA et TAMAOUCHT, les résultats nématologiques montrent la présence du genre *Xiphinema* dans les cépages (Muscat, Dattier de Beyrouth, Cardinal, Muscat italiae) sauf le Gros noir, où l'abondance de *X.index* dans le cépage Dattier de Beyrouth et Muscat été très élevé par rapport au Cardinal et Muscat italiae, d'une part, et au *X.italiae* d'autre part.

Elles ont notées la présence de *X.americanum* avec une grande abondance dans le Dattier de Beyrouth et une faible densité dans le Muscat et Muscat italiae son absence dans Cardinal

Absence total du genre *Xiphinema* dans le cépage Gros noir.

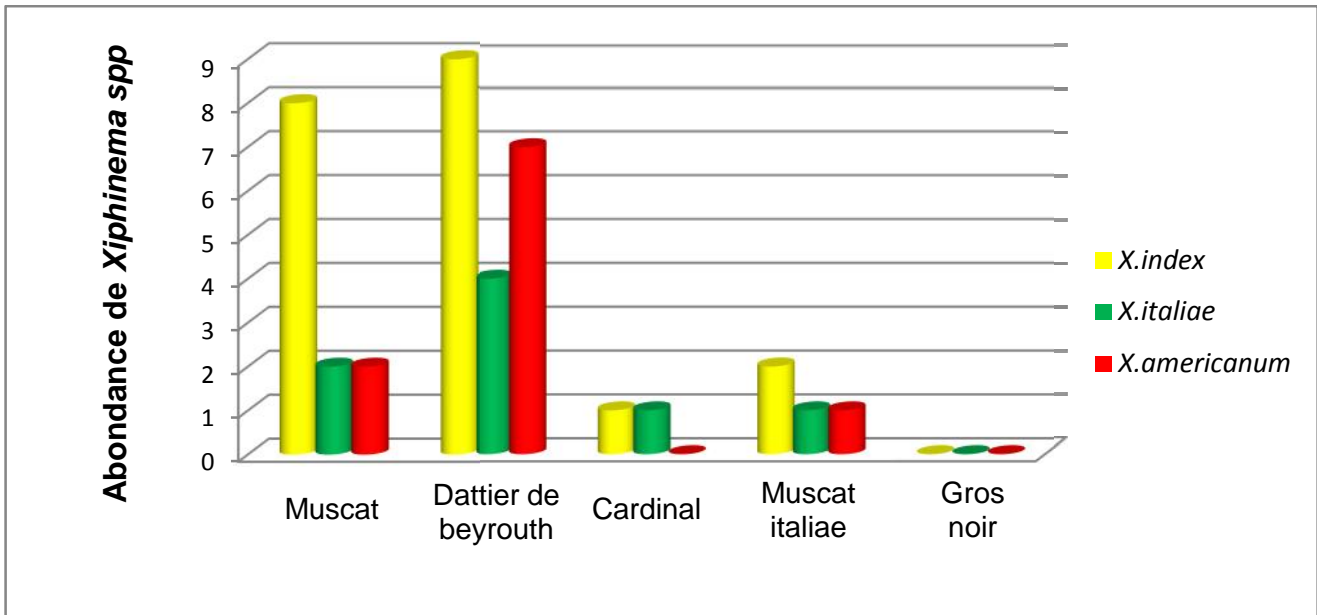


Figure 52 : Abondance des espèces de *Xiphinema spp* en fonction des cépages.

Les analyses nématologiques effectuées durant la campagne 2001-2002 par MELOUK, 2003-2004 par TABOUCHE, 2013-2014 par KHENCHELAOUI ET GUENANE, et 2014-2015 par BRADA et TAMAOUCHT expérimentales nous permis de mettre en évidence la présence de genre *Xiphinema*, et autres espèces phytophages et non phytophages. La nématofaune rencontrée dans les différents échantillons des sols, se compose du genre *Xiphinema*.et espèce *X.index* et *italiae*

En outre, il faut souligner que le genre identifié et ses espèces ont déjà été signalés à l'occasion d'analyse faites ultérieurement par plusieurs auteurs en Algérie :

- DALMASSO ET CUARRY (1969) ont mentionné la présence de *X.italiae* dans les vignobles algériens (BEN ABBAS, 1987).
- KADDA BEN CHIHA (1977), lors de son étude relative aux espèces vectrices de virus responsables de la dégénérescence infectieuse de la vigne dans la région de Mostaganem.
- BOUSALEM (1981) a signalé la présence de *X. index*, *X. mediterraneum* de *X. turcium*, *X. italiae*, et *X. sahlense*, lors de son étude faite sur l'importance de la transmission par le sol de la dégénérescence infectieuse en Algérie.
- BEN ABBAS (1987) : identifie *X. index* sur vigne et *X. pachtacum* sur oranger.
- MEKHUKH (1989) a rapporté la présence de *X. mediterraneum* dans le Mitidja.

Les symptômes type du *GFLV* (malformation des feuilles, panachure ordinaire, fasciation, bifurcation, aplatissement, entre-nœuds courts, double nœud et croissance en zig-zig) observés dans les vignobles (Ain Benian, Ain skhouna, Baghlia, Naciria et Ben chico) sont dus à la présence du nématode vecteur *X.index* et *X.italiae* qui était virulifère donc porteur du virus. La présence de ce dernier a été détectée par la DAS-ELISA à partir des échantillons avec symptômes (feuilles et entre-nœud) prélevés dans ces stations dans la campagne 2003-2004 par TABOUCHE, 2004-2005 par LECHEB, 2013-2014 par KHENCHELAOUI et GUENANE.

Par ailleurs les vignes ayant extériorisé des symptômes type de *GFLV* observés dans les vignobles Ben talha sont probablement dus à la transmission du *GLFV* par greffage vu l'absence du nématode vecteur. La présence du *GFLV* a été confirmée par la DAS-ELISA.

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Conclusion et perspectives

La culture viticole a longtemps représenté la richesse de l'Algérie, elle occupe la 5^{ème} place dans la production nationale agricole et la 20^{ème} place dans la production viticole mondiale. La vigne est très sensible aux maladies et agents pathogènes.

Le court-noué ou dégénérescence infectieuse apparait comme une maladie la plus dommageable pour la vigne et entraîne d'importantes pertes de rendement et une mortalité précoce des ceps atteints. Car il n'existe pas de moyens de lutte efficaces permettant de le contrôler. De plus les viticulteurs n'ont pas pris conscience de l'importance de la gravité de cette maladie qui semble affecter le patrimoine viticole et qui peut engendrer des pertes quantitatives et qualitatives allant jusqu'à 60%. Le *GFLV* est transmis naturellement de vigne à vigne par le nématode ectoparasite *Xiphinema index* et *Xiphinema italiae*.

Les prospections effectuées sur les vignobles Algériens dans différentes régions viticoles et variétés durant les campagnes 2001-2002 par MELOUK, 2003-2004 par TABOUCHE, 2004-2005 par LECHEB, 2013-2014 par KHENCHEAOUI et GUENANE, 2014-2015 par BRADA et TAMAOUCHT.

Les résultats symptomatologiques ont révélés la présence de diverses catégories de symptômes typiques du *GFLV* tel que déformation foliaire, raccourcissement des entre-nœuds, double nœuds, aplatissement des rameaux, croissance en zig-zig, bifurcation anormale.

L'étude de la nématofaune des différentes stations prospectées durant toutes les années étudiées ont relevés la présence du genre *Xiphinema* pendant l'année 2013-2014 par KHENCHEAOUI et GUENANE. Le nématode vecteur du *GFLV* était enregistrée dans toutes les régions et variétés prospectées à l'exception de la région de Ben talha sur la variété Cardinal. L'espèce *X.index*, *X.italiae* pendant les années (2001-2002 par Melouk, 2003-2004 par TABOUCHE, 2014-2015 par BRADA et TAMAOUCHT) était enregistrée dans toutes les régions et variétés prospectées.

Le test DAS-ELISA a confirmé les observations directes des symptômes et la présence du virus recherché. Nous avons enregistré des réponses positives dans toutes les régions et variétés prospectées durant 2003-2004, 2004-2005, 2013-2014

Conclusion et perspectives

a l'exception de la parcelle de Bourkika durant 2004-2005 par LECHEB. Et cela peut être dû à un bon entretien du vignoble.

Dans le cadre de lutte contre cette maladie, il est difficile de contrôler le vecteur donc il faut procéder :

- L'utilisation de greffons et de porte-greffe exempts de virus est le meilleur moyen de lutte contre la dissémination du *GFLV*.
- Utilisation de la thermothérapie lorsque les vignes sont complètement virosées : Les vignes en pots doivent être traitées au moins un mois à une température 37°C à 38°C.
- Le repos du sol : les expériences ont montrés que la jachère du sol pendant au moins 8 à 10 ans peut diminuer considérablement les réinfections de la vigne ou, cultiver des plantes dont les nématodes sont pas friands (luzerne, lupin, céréales, plante aromatiques ou médicinales) 7 à 10ans selon le niveau de contamination (population de nématode) et la nature du terrain (sablonneux, sablonneux limoneux, argileux).
- La plantation des vignes ne doivent pas être dans les bas fonds pour éviter le regroupement des nématodes vecteur du virus *GFLV*.
- Désinfection des outils de travail lors de la taille et le greffage.
- Lors d'un arrachage : extirper très soigneusement toutes les racines et dévitaliser les éventuelles repousses.

Toutefois notre travail reste une ébauche. Il est souhaitable de compléter cette étude par l'utilisation d'autres méthodes comme, utilisation de la TAS-ELISA afin d'identifier avec rigueur les souches du *GFLV* présent en Algérie, lutte biologique contre le vecteur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. **AGGAD, (1988).**, Matériel, méthodes et techniques de détection des maladies à virus sur la vigne. Rapport de stage pratique. Italie. 22p.
2. **ALAIN CARBONNEAU, ALAIN DELOIRE ET BENOIT JAILLARD, 2007.** La vigne physiologie, terroir, culture, Dunod, Paris, vol.1, 441p.
3. **ANONYME,** http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/note_nationalev8_cle44dadf.pdf.
4. **ANONYME, 2010.**, les pistes explorées par l'INRA pour lutter contre le court-noué.
5. **ANONYME, 2011.**, Situation du secteur vitivinicole mondiale, OIV. 1-70p.
6. **ANONYME, 2012_(a).**, Ministère de l'agriculture et de développement rural. Direction des statistiques.
7. **ANONYME, 2012_(b).**, Bases de données du Réseau Français des conservatoires des vignes INRA. En ligne sur : http://bioweb.ensam.inra.fr/collection_vigne/Charte.html.
8. **ANONYME, 2013_(a),** Statistiques agricoles FAO, FAOSTAT, En ligne sur : <http://faostat.Fao.org/desktopDefault.aspx?pageID=567&lang=fr#ancor>.
9. **ANONYME, 2013_(b),** Statistiques agricoles FAO, FAOSTAT En ligne. Sur : <http://faostat.fao.org>.
10. **ANONYME, comar 1 & 2 juillet 2013.**, la vigne et ses virus : une recherche alsacienne, de la virologie moléculaire fondamentale à l'épidémiologie des viroses et leurs impacts INRA.
11. **ANONYME,** Nemachile (laboratorio de analysis), <http://www.nemachile.cl/xiphinema.html>.
12. **ANONYME., 1984**
13. **AOUANE, (2005).**, Réglementation vitivinicole Algérienne, journées scientifique et technique sur la viticulture, Tessalat El Merdja, 5p.
14. **BACARELLA A. et FARDELLA G., 1992.** Les problèmes spécifiques aux filières des différents produits méditerranéens dans les échanges internationaux : le raisin de table. Options méditerranéennes, Sér. A /n°19, 211-217p.

Références bibliographiques

15. **BELIN P, SCHMITT A.C, GAIRE, WALTER, DEMANGEAT G, et PNCK L., 1995.** "Involvement of RNA-2 capsid proteins in the specific transmission of grapevine fanleaf virus by its nematode vectors *Xiphinema index*" J.Gen, Virology, N°80, 1347p. Th.ing.Agro. INA El Harrach, 47p.
16. **BEN ABBAS R. 1987.** Contribution à l'inventaire des nématodes phytophages des arbres fruitiers et de la vigne dans la plaine de la Mitidja,
17. **BIREBENT., 2001.** La vigne en Algérie. Titre du périodique [en ligne].afn-collection, n°28 juillet, 727-763p.
18. **BLOK V.C, FURGETTE MJ.MS, et TRUDGILL D.L., 1993.** "Inter and intra species relationships in root knot nematodes, *Meloidogyne sp*". Ann, Repot, Scottish, Cop, research, Inst, 114-116p.
19. **BOSCIA D, MARTELLI G.P, et VUITTENEZ A., 1997.** « Protocols for the detection of virus and virus like diseases », 129p, in sanitary selection of the grapevine (**WALTER B., Ed.**), les colloques INRA.PARIS, N°86, 304p.
20. **BOUSSALEM M. 1981.** Contribution à l'étude du court-noué dans les pépinières de l'Algérois. Th.ing.Agro. INA El Harrach, 125p.
21. **BOVEY R, GARTEL W, HEWITT W.B, MARTELLI G.P, ET VUITTENEZ A., 1988.** « Virus and virus-like diseases (PEARSON R.C and GOHEEN A.C., Eds). American Phytopathological Society Press, St Paul, Minnesota, 93p.
22. **BOVEY R., 1987.** Progrès récents dans l'étude des virus de la vigne et l'amélioration de la sélection clonale de la vigne de la vigne. Nyon-changins (Suisse). 1-4, Septembre, 1986: 303-306.
23. **BRANT S, ET HIMMLER G., 1995.** "Detection of grapevine fanleaf virus (GFLV) from woody material by using immunocapture polymerase chain reaction" Vitis, N°34. 127p.
24. **BUBOS B., 1999.** « Les maladies cryptogamiques de la vigne champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne » Ed Ferret, 175p.
25. **BUNOWS P.R, SMOKER M, et GRISI M.E.S., 1995.** "Sequence and genomic organization of novel repetitive DNA element from potato cyst nematode *Globodera pallid*, Mol, Bioc, Parasitol, V. 75°, 1/2, 245-248p.
26. **COHN E, TANNE E, et NITZANY FE., 1970.** « *Xiphinema italiae* a new vector of grapevine fanleaf virus. Phytopathology, V.60, 181-182p.
27. **CRESPY A., 1992.** "Viticulture d'aujourd'hui" 2^{ième} édition. Ed Tec et Doc Lavoisier. 240p.

Références bibliographiques

- 28. DALMASSO A, et CUANY., 1969.** « Importance de la transmission par le sol de la dégénérescence infectieuse de la vigne dans l'Algérois ». Bull. phytosanitaire, FAO., V.17, 3p.
- 29. DALMASSO A., 1968.** « Etude anatomiques et taxonomiques des genres *Xiphinema*, (*Nematoda*, *Dorylaimida*) » *Ann.App. Zool.*, N°61, 33-82p.
- 30. DALMASSO A., 1971** « Etude anatomique et taxonomique des genres *Xiphinema*, *Longidorus* et *Paralongidorus* (*Nematoda*, *Dorylaimidae*) ». *Men, Mus, hist.Nat, Paris série A, Zoologie*, N°61, 32-33p.
- 31. DAVIS M, et CLARK M.F., mars 1999.** « Arabis mosaic virus ». *Prog.Agric. et vitis*. N°22. 913-916p.
- 32. DIAS H.F., 1950.** "Chlorose infecciosa da videira (panachure ou mosaic branco)". *Comunçoes 13o Congreso Luso-Espagnol sobre Progreso Scientifico*, 167p.
- 33. DIEMER A., 2011.** « Institution et institutionnalisation du courant néolibéral français : Le vignoble Algérien des années « coloniales », Greqam, Aix-Marseille, 26p.
- 34. DUNEZ J., 1998.** « Maladie à virus et de type viral des arbres fruitières à noyaux. Cours international de la protection des cultures fruitières méditerranéennes ». *IAM*, Bari, 64p.
- 35. ESMENJAUD D, WALTER B, VALENTIN G, GUO Z.T et CLUZEAU D., 1992.** "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 region of France". *Agronomie*, N°12, 395-399p.
- 36. ESMENJAUD D, WALTER B, MINOT J.C, VOISIN R, ET CORNUET P., 1993.** "Biotinavidin ELISA detection of grapevine fanleaf virus in the vector *Xiphinema index*". *J, Nematol*, N°25, 401-405p.
- 37. FUCHS M, PINCK M, SERGHINI M.A, RAVELONANDRO P, WALTER B, et PINCK L., 1989.** "The nucleotide sequence of satellite RNA in grapevine fanleaf virus strain F13". *J.Gen, Virology*, N°70, 155-161p.
- 38. GAIRE P, SCHMITT A.C, STUSSI-GARAUD C, PINCK L, et RITZENTHALER C., 1999.** "PROTEIN A2 of grapevine fanleaf Nepovirus implicated in replication and collocation with the replication" *Virology*, N°264. 25-36p
- 39. GALET P., 1977.** *Les maladies dues à des végétaux (champignons, Bactéries, Virus et Phanérogames)*. Imprimerie de payon du Midi, Montpellier, 1876p.

Références bibliographiques

- 40. GALET P., 1982.** Les maladies dues à des végétaux (Champignons, Bactéries, viroses, et Phanérogames). Imprimerie de payon du Midi, Montpellier. 1876p.
- 41. GALET P., 1983.** "Précis de viticulture". Ed. Tec. et Doc, Paris, 582p.
- 42. GALET P., 1991.** « Précis de pathologie viticole ». Ed, Tech et Doc. Paris, 264p.
- 43. GALET P., 1995.** « Précis de pathologie viticole », Imp. JF Impression, Montpellier, 246p.
- 44. GALET P., 1999.** « Précis de pathologie viticole, 3^{ième} ed, Lavoisier (Tec et Doc). 246p.
- 45. GALLET P., 1988_(a)** cépages et vignobles de la France tome 1 : Les vignes américaines Ed.c.Déhan Montpellier, 660p.
- 46. GEROLA F.M, BASSI M, ET BELLI G., 1969.** "An electron microscope study of different plants infected with grapevine fanleaf virus". Gio.Botan.Italiano, V.103, 271p.
- 47. HANS J.H, UWE S, et HARALD P., 1996.** "Variation of viriod profiles in individual grapevine fanleaf virus by using cDNA probes". Phytopatholog, V81, N°5, 559p.
- 48. HEWIT W.B., 1970.** Pierce's disease of vitis species in: vitis diseases of small fruits and grapevine .Univ.clatif. Press, Berkeley, 196-200p.
- 49. HOWARD A., 1999.** « *Xiphinema index*, description of morphology ». In TABOUCHE A., 2004 Mémoire de magister, 29p.
- 50. HUNT D.J., 1993.** "Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae: their systematic and bionomics". CAB international, Wallingford, 352p.
- 51. HUSS B, MULLER S, SOMMERMEYER G, WALTER B, et VAN REGENMORTEL M.H.V., 1987** "Grapevine fanleaf virus monoclonal antibodies: their use to distinguish different isolates" J.Phytopathol, N°119, 358p.
- 52. HUSS B, WALTER B, ETIENNE L, et VAN REGENMORTEL M.H.V., 1986.** « Grapevine fanleaf virus detection in various grapevine organs using polyclonal antibodies Vitis, N°25, 178p.
- 53. ISNARD H., 1947.** vigne et colonisation en Algérie (1880-1947).Annales : Economies, Sociétés, Civilisation. Vol2, N°3 .288-300p.
- 54. JOHNSON H., 1990.** Une histoire mondiale du vin de l'antiquité à nos jours, Hachette,
- 55. KADDA BENCHIHA A. 1976.** Contribution à l'étude des nématodes du genre *Xiphinema cobb*, 19713 Vecteur de viroses dans la région de Mostaganem. Th. Ing.I.N.A., El-Harrach, Alger, 67p.

Références bibliographiques

- 56. KALASJAN J.A, LITVAK L.A, et MARINESKU V.G., 1979.** "Tubulure strukturen in gewebe der weinrebenach infektion mit dem virus der reisighrankheit (grapevine fanleaf virus) ". Arch, Phytophatol, Pflanzenschutz, N°15. 373-376p.
- 57. KRIMI et BENKACIMI., 2007.** Détection d'*Agrobacterium vitis* dans le matériel de multiplication de la vigne, laboratoire de phytobacteriologie, département des sciences agronomiques, Université SAAD DAHLAB, Blida. Algérie, 3p.
- 58. LAMBERTI F, MARTELLI G.P., 1965.** "On the distribution of *Xiphinema index* Thorne and Allen in some appulian vineyards». Proceedings of the International Conference on virus and vector on Perennial Hosts, with Special Reference to Vitis, 353p.
- 59. LARBI D., 1983.** Influence du choix de bourgeon sur la réussite au greffage et le développement des plants viticoles en pépinière. mem.ing-INES n, 87p.
- 60. LEUTY T et KER K., 1997 :** Phylloxera de la vigne. Phytoma-La défense des végétaux N°482, pp. 12-17.
- 61. LORRAIN., 1997.** Les nématodes vecteurs de la dégénérescence infectieuse de la vigne de l'utilisation d'une analyse nématologique, Pro, Agri, et Viti, N°15-16, 338-341p.
- 62. MARGIS R, VIRY M, PINCK M, BARDONNET N, et PINCK L., 1994.** "Differential proteolytic activities of precursor and mature forms of the 24K proteinase of grapevine fanleaf *NEPOVIRUS* "Virology, N°200, 79p.
- 63. MARGIS R, VIRY M, PINCK M, et PINCK L., 1991.** "Cloning and in vitro characterization of the grapevine fanleaf virus proteinase ciston" Virology, N°285, 779-787p.
- 64. MARTELLI G, P., 2000.** "Classification and nomenclature of virus", Arch Virol., 124-185.
- 65. MARTELLI G.P, 1997_b.** "Maladies à virus de la vigne ". Département patho. Végétal de l'université de Sassari. Ed centre international des hautes études agronomiques méditerranéens, 39p.
- 66. MARTELLI G.P., 1985.** Virus and virus like diseases of grapevine in Algeria Rapport to the government of Algeria.FAO.Rome, 53p.
- 67. MARTELLI G.P., 1997_a.** « Classification systématique des virus de la vigne ».patho, vege, de l'université de Bari. Ed. centre international des hautes études agronomiques méditerranéen. 17p.

Références bibliographiques

- 68. MARTELLI, G.P., DIGIARO.,M.,** « Proceeding of the Mediterranean Network on grapevine Closterovirus 1992-1997. And the virus like diseases of the Grapevine a bibliographic report. 1985-1997”, Ed.CIHEAM, Bari, (1999); p 47-45.
- 69. MARTIN P.A et VOISIN G., 2006** Rapport d’information d’une assemblée nationale N°3435, sur la situation de la viticulture, France .pp.1-26.
- 70. MEKHOUKH. A. 1989.** Contribution à l’aide d’un inventaire des nématodes phytophages des cultures ornementales et florales. Mem.Ing.Agro.Blida, (1989), 57p.
- 71. PANTANELLI G.P., 1910** « Sui caratteri morfologici e anatomoci del roncet delle viti americane in sicilia » Rendiconti Regia Accademia dei Lincei, N°19(S.V.I sem), 395-402p.
- 72. PENA, IGLESIAS, et RUBIO, HUERTOS., 1971.** « Ultra structure de hogas de *Chenopodium quinea* willd, infectada con el virus enrrenudo corto infeccioso de la vid ». Micr, Espanola, N°24. 184-190p.
- 73. PERTI., 1918.** « Nuove vedute sulle cause dell arricciamento dela vite ».Rendiconti Regia Accademia dei Lincei, N°27(S.V.I sem) 271p.
- 74. PFEIFFER, RITZENTHALER, GAIRE, SCHMITT C, ROHFRITSCH L, PINCK L, ET STUSSI-GARAUD., 2001.** Grapevine fanleaf virus replication occurs on en doplasmic reticulum-derived Membranes Extended Abstracts of the 13th Meeting of ICVG, Adelaide, 63p.
- 75. PINCK L, FUCHS M, PINCK M, RAVELONANDRO M, WALTER B., 1988.** “Satellite RNA in grapevine fanleaf virus Strain F13”. J. Gen. Virology, 69, 233-239.
- 76. PINCK L., 1998.**”Grapevine fanleaf Nepovirus systelic proteinase”.719p, in **Handbook of proteolytic enzyme** (BARRETT A, J et WOSSER J.F., Eds).London. 987p.
- 77. QUACQUARELLI A, GALLITELLI D, SAVINO V et MARTELLI G.P., 1976** « **Propriétés grapevine fanleaf virus** ». J.Gen Virology, N°, 349-360.
- 78. RASKI D.J., 2000.** « La protection phytosanitaire en viticulture ». Rev.Sui.Vit.Arbo.Hortic, N°1, 16-20p.
- 79. RIBAUT J., 2003.** Le vin. Une histoire de goût, Gallimard.
- 80. RITZENTHALER C, PINCK M, et PINCK L., 1995.**”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, 907-915p.

Références bibliographiques

- 81. RITZENTHALER C, SHMIT A.C, MICHLER P, STRUSSI- GARAUD, et PINCK L., 1995.** "Grapevine fanleaf Nepovirus p38 putative movement protein is located on tubules *in vivo*" *Mol, Plant, Microbe, interact*, N°8. 379-387p.
- 82. RITZENTHALER C, VIRY M, PINCK M, MARGIS R, FUCHS M et PINCK L., 1991.** "Complete nucleotide sequence and genetic organization of grapevine fanleaf RNA-1". *J.Gen Virology*, N°72. 2357-2365p.
- 83. RIVES M., 1971.** « Maladies à virus de la vigne, traité d'ampélogie science et technique de la vigne »V.2. Ed. DUNOD, Paris, 67p.
- 84. ROWHANI A, MANINGAS M.A, LILE L.S, DAUBERT S.D, ET GLINON D.A., 1996.** "Developpement of a detection system for viruses of woody plants based on PCR analysis of immobilized virions". *Phytopathology*, N°85, 347-352p.
- 85. SALDARELLI P, MINAFRA F, et WALTER B., 1993.** « Impiego di ribosomi chemiluminescenti nella certificazione sanitaria del pomodoro ». *Vitis*, N°32, 99p.
- 86. SANCHEZ F, CHAY C, BORJE MJ, REWHANI A, ROMERO J, BRUENING G, ET PONZ F., 1991.** "cDNA sequence of capsid protein gene and 3' untranslated region of a fanleaf isolate of GFLV". *Nucleic Acid Res.*, 19, 5440p.
- 87. SARIC A, ET WRISCHER M., 1975.** "Fine structure changes in different host plants induced by grapevine fanleaf virus". *Phytopathol*, N°84. 97-104P.
- 88. SAVINO V, BOSCIA D, et MARTELLI G.P., 1985.** "Incidence of some graft-transmissible virus-like diseases of grapevine in visually selected and beat treated from southern Italy». *Proceedings of the 8h Meeting of ICVG, BARI, SASSARI, Research*, 251p.
- 89. SCOTTI E., 1987.** petite histoire du vignoble en Algérie (1830-1962) *L'Algérieniste* n°38 de juin 1987, pp 1-9.
- 90. SERGHINI M.A, FUCHS M, PINCK M, REINBOLT J, WALTER B et PINCK L., 1990.** "RNA-2 of grapevine fanleaf virus: sequence analysis and coat protein cistron location " *J.Gen Virology*, N°71, 1433p.
- 91. SIDDIQI M.R., 1974.** "*Xiphinema index*", CIH description of plant parasitic nematode set 3. N°45. Common with agricultural bureau, England, 4p.
- 92. TAYLOR C.E, ET BROWN D.J.F., 1997.** "Nematode Vectors of plant Viruses". CAB International, Wallingford, 286p.
- 93. THORNE et ALLEN 1950)** et *X. italiae* (MEYL).
- 94. VAN REGRNMORTEL, M.H, FAUQUET, CM, BICHOP, DHI, CARSTENTS, E.B, ESTES, M.K, MANILOFF, J, MAYO, A.M, GEOCH, D.J, PRINGLE, C.R, R.B, et**

Références bibliographiques

- WICHMER, R.B., 2000.** "The classification and nomenclature of viruses". The serenth report of international committee on taxonomy of viruses (book). Academie press, Sendiego, 1167p.
- 95. VIALA., 1893.** «Les maladies de la vigne ».Ed.G.Masson, Paris, 183p.
- 96. VIRY H, SERGHINI M.A, HANS F, RETZENTHALER C, PINCK M, et PINCK L., 1993.**"Biologically active transcripts from cloned cDNA of genomic grapevine fanleaf virus RNAs".J.Gen, Virology, N°74. 169-174p.
- 97. VIVIER M.A ET PRETORIOUS I.S., 2002.** Genetically tailored grapevine for the wine industry. Trends Biotechnol. (20) 472-478p.
- 98. VRAIN T.C, WABARCHUK D, et HAMILTON R.I., 1990.** "A ribosomal DNA probe from *Xiphinema bricolensisii* to identify *Xiphinema* species". Nematologica, N°36, 399p
- 99. WALTER B, et ETIENNE L., 1987.** « Indagini sulla biologica di *Xiphinema index* Thorne et Allen in vegneti ». J. Phytopathol., N°120, 355-364p.
- 100. WALTER B, VUITTENEZ A, KUSZALA J, STOCKY G, BURCKARD J, et VAN REGENMORTEL M.H.V., 1984.** « Détection sérologique des virus du court-noué de la vigne par le test ELISA ». Agronomie, N°4, 527-534p.
- 101. WALTER B., 2000.** Sanitary selection of the grapevine. Ed INRA France. 225p.

ANNEX

ANNEXE A

1. Echantillonnage du sol :

➤ Matériel :

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

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

2. Extraction des nématodes :

➤ Matériel :

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

3. dénombrement :

➤ matériel :

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

4. Fixation et p chage :

➤ Matériel :

- ❖ Le fixateur de Grisse, il est composé de :
 - 133 ml de formol   30%.
 - 10 ml de gly rol.
 - 857 ml d'eau distillée.
 - Il doit être ajusté pH = 7
 - La déshydratation se fait dans deux solutions
- ❖ Solution (S1) composée de :
 - 200 ml d'alcool 95% ;
 - 10 ml gly rol;
 - 790 ml d'eau;
- ❖ Solution (S2) ;
 - 950 ml d'alcool 95% ;
 - 50 ml gly rol.

5. Montage :

➤ Matériel :

- ❖ Loupe binoculaire ;
- ❖ Lames et lames ;
- ❖ Un cil monté sur un support ;
- ❖ Gly rine ;
- ❖ Morceaux de laine de verre de la taille des nématodes ;
- ❖ Du « Zut », « Glyceel » ou « Vernis   ongle » pour luter les montages sur lame.