

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGRO/2023

MÉMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MASTER

Domaine: SNV **Filière :** Sciences Agronomiques

Spécialité: PHYTOPATHOLOGIE

Présenté par:

AGGAD Amina

Thème

Étude des nématodes vecteurs des virus: cas du court-noué de la vigne

Soutenu le : 03/07/2023

Devant le jury composé de:

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>MEBDOUA S.</i>	<i>MCA</i>	<i>Université de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>MELOUK S.</i>	<i>MCA</i>	<i>Université de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>LAMINE S</i>	<i>MAA</i>	<i>Université de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire: 2022/2023

REMERCIEMENTS

Remerciements

Je tiens en premier lieu a remercier le dieu le tout puissant et miséricordieux , qui m’as donné la force et la patience d’accomplir ce modeste travail .

Mes vifs remerciements a ma promotrice Madame MELOUK pour son aide confiance et soutien qu’il ma accorder au long de ce travail .

Mes remerciements vont également a Madame MEBDOUAA qui généreusement acceptée de présider le jury de ma soutenance et Monsieur LAMINE Salim d’avoir accepté d’examiné ce travail et sa mise en valeur .

Je remercier profondément Monsieur SEMAHA ainsi Melle Amina pour leur aide tout au long de mon stage pratique au niveau de laboratoire de nématologie du l’INPV Alger .

Mes remerciement sont aussi adressés a Mme ZOUAI chef de service au niveau de l’INPV Alger, ainsi que mesdames BOUBETRA et MOHAMMADI pour leur accueil et aide dans la partie pratique de la partie virologie .

Je tiens a remercier Mr AGGAD. H de m’avoir soutenue tout au long de ce travail , sa dynamique sa confiance , sa disponibilité , ses compétences ,ses encouragements et son aide qu’il trouve ici l’expression de mes sincères et profond reconnaissance.

DÉDICACE

Dédicace

je dédie ce modeste travail :

à mes chers parents qui ont été toujours à mes côtés et m'ont toujours soutenu tout au long de ces longues années d'études.

A mes chers frères et ma sœur.

A toute ma famille Et a toutes mes amies, Et surtout, a tous les gens qui me connaissent et que je connais en particulier.

Et à tous ceux qui aiment le bon travail et ne reculent pas devant les obstacles de la vie.

RÉSUMÉ

Résumé

La maladie de court noué [Grapevine Fanleaf Nepovirus, (GFLV)], est classé parmi les maladies les plus répandues dans le monde et l'une des plus dommageables sur vigne. Ce virus est transmis par *Xiphinema index* et *X. italiae*. L'objectif de cette étude était la détection du virus de la vigne à l'aide de test sérologique ELISA, et l'étude des nématodes vecteurs. Cette étude a été effectuée au niveau d'un verger de vigne à Rouiba wilaya d'Alger qui présente quelques symptômes de cette maladie comme panachure, jaunissement, mauvaise qualité de rendement et rougissement. Les résultats des analyses des échantillons des sols ont vérifié la présence du genre *Xiphinema* nématodes connus vecteurs potentiel du GFLV dans la région étudiée.

Mots clés : Vigne, GFLV, Nématodes, *Xiphinema*, ELISA.

Summary

Grapevine Fanleaf Nepovirus (GFLV) is one of the world's most widespread and damaging grapevine diseases. This virus is transmitted by *Xiphinema index* and *X. italiae*. The aim of this study was to detect the grapevine virus using an ELISA serological test, and to study the nematode vectors. This study was carried out in a vineyard in Rouiba, wilaya of Algiers, which showed some symptoms of this disease, such as variegation, yellowing, poor yield and reddening. The results of soil sample analyses verified the presence of the genus *Xiphinema* nematodes, known to be potential vectors of GFLV in the region under study.

Key words: Grapevine, GFLV, Nematodes, *Xiphinema*, ELISA.

ملخص

من بين أكثر الأمراض انتشارًا، [Grapevine Fanleaf Nepovirus، (GFLV)] يُصنف مرض في العالم وواحدًا من أكثر الأمراض ضررًا على الكروم. ينتقل هذا الفيروس عن طريق مؤشر الهدف من هذه الدراسة هو الكشف عن فيروس العنب باستخدام *Xiphinema* و *X. italiae* المصلي ودراسة النيماطودا الناقلة. أجريت هذه الدراسة على مستوى بستان عنب ELISA اختبار بولاية الرويبة بالجزائر العاصمة حيث ظهرت بعض أعراض هذا المرض مثل التلون والاصفرار *Xiphinema* وضعف جودة المحصول والاحمرار. أكدت نتائج تحاليل عينات التربة وجود نيماطودا في المنطقة المدروسة GFLV النيماطودا المعروفة بالنواقل المحتملة لـ

الكلمات المفتاحية: Grapevine، GFLV، Nematodes، *Xiphinema*، ELISA.

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : SYSTÉMATIQUE DE VITIS VINIFERA.....	3
FIGURE 02 :MORPHOLOGIE GÉNÉRALE DE LA VIGNE	5
FIGURE 3 :CYCLE VÉGÉTATIF ET REPRODUCTEUR DE LA VIGNE	9
FIGURE 4 :PRODUCTION MONDIALE DE LA VIGNE	10
FIGURE 5 : ORGANISATION GÉNOMIQUE ET EXPRESSION DES ARN ₁ ET 2 DU GRAPEVINE FANLEAF VIRUS (GFLV) ISOLAT F ₃	16
FIGURE 6 :SYMPTÔMES DU COURT-NOUÉ DE LA VIGNE SUR LA PLANTE : LES FEUILLES (A ET B), LES SARMENTS (C), LES FRUITS (D)	18
FIGURE 7 : MORPHOLOGIE GÉNÉRALE D'UN NÉMATODE	19
FIGURE 8 :MORPHOLOGIE DE <i>XIPHINEMA INDEX</i>	23
FIGURE 9 : MORPHOLOGIE DE L'ESPÈCE <i>XIPHINEMA ITALIAE</i>	24
FIGURE10 : LA STRUCTURE ANTÉRIEURE DES LONGIDORIDAE	27
FIGURE11 : VERGER DE VIGNE ROUBA	43
FIGURE 12 :VERGER DE VIGNE	43
FIGURE 13 :ÉCHANTILLONNAGE ET BROYAGE DES ÉCHANTILLONS.....	45
FIGURE 14 : DÉPÔT DES ANTICORPS SUR LA PLAQUE ELISA	46
FIGURE 15 : INCUBATION DE LA PLAQUE	46
FIGURE 16 : LAVAGE DE LA PLAQUE ELISA	47
FIGURE 17 : DÉPÔT DES ANTIGÈNES SUR LA PLAQUE	47
FIGURE 18 : PLAN DU PLAQUE	48
FIGURE 19 : LAVAGE DE LA PLAQUE	48
FIGURE20 : DÉPÔT DE L'ANTICORPS SPÉCIFIQUE CONJUGUÉ	49
FIGURE 21 :AJOUT DE PNPP DILUÉ	49
FIGURE 22 : VERGER DE VIGNE	50
FIGURE23 : ÉCHANTILLONNAGE DE SOL ET ÉTIQUETAGE	51
FIGURE24 :SEAUX 1ET 2 ET PASSOIRE	51
FIGURE25 : TAMIS DE 40 µM	52

FIGURE 26 : MÉTHODE D'EXTRACTION DES NÉMATODES	52
FIGURE 27 :BOITES PÉTRIS CONTENANT LA BOUE RÉCUPÉRER	53
FIGURE 28 : OBSERVATION SOUS UNE LOUPE	53
FIGURE 29 : <i>XIPHINEMA INDEX</i>	53
FIGURE 30 :PARTIE BUCCAL DE NÉMATODE <i>X . INDEX</i>	53
FIGURE 31 : <i>X . INDEX</i> FEMELLE , PRÉSENCE DE LA VULVE	53
FIGURE 32 :SYMPTÔMES SUR GRAPPE	54
FIGURE 33 : SYMPTÔMES SUR SARMENT	54
FIGURE 34 :ROUGISSEMENT SUR LES FEUILLES	54

LISTE DES TABLEAUX

LISTES DES TABLEAU

TABLEAU 01 : LES PRINCIPALES MALADIES FONGIQUE DE LA VIGNE.	12
TABLEAU 02 : LES BACTÉRIES PATHOGÈNES LES PLUS COURANTES DE LA VIGNE SONT LES SUIVANTES.....	13
TABLEAU 3 :LES PRINCIPALES MALADIES VIRALES DE LA VIGNE	14
TABLEAU 4 :LES PRINCIPAUX NÉMATODES AFFECTENT LA VIGNE	21

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Liste des abréviations

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.

FAO OIV: Organisation Internationale de la vigne et du vin

ARN: Acide ribonucléique.

ARNsb: Acidenucléique 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 capsid.

DAS-ELISA: Double antibody sandwich-ELISA.

ELISA: Enzyme Linked Immuno sorbent Assay.

ArMV: Arabis Mosaic Virus

PNPP : Paranitrophénylphosphate

SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
I-GÉNÉRALITÉ SUR LA VIGNE	2
SYSTÉMATIQUE DE LA VIGNE	2
I-1-MORPHOLOGIE ET ANATOMIE DE LA VIGNE	3
ORGANES VÉGÉTATIFS.....	3
LES RACINES	3
LA TIGE	4
LES FEUILLES	4
LES VRILLES	4
LES BOURGEONS	4
I-2-LES ORGANES REPRODUCTEURS.....	5
LES FLEURS ET INFLORESCENCE	5
LE FRUIT	5
I-3-PHYSIOLOGIE DE LA VIGNE.....	6
I-3-1-LE REPOS HIVERNAL.....	6
I-3-2-PLEURS.....	6
I-3-3-BOURGEON ÉCLATÉ	6
I-3-4-AOÛTEMENT.....	6
I-3-5-LA CROISSANCE.....	7
I-3-6-DÉFEUILLAISSON (CHUTE DES FEUILLES).....	7
I-4-CYCLE REPRODUCTIF	7
I-4-1-INITIATION FLORALE	7
I-4-2-DIFFÉRENCIATION DES FLEURS	7
I-4-3-FLORAISON	8
I-4-4-POLLINISATION	8
I-4-5-FÉCONDATION	8
I-4-6-NOUAISSON	8

I-5-IMPORTANCE ÉCONOMIQUE DE LA VITICULTURE	9
I-6-LA VITICULTURE EN ALGÉRIE	10
I-7-EXIGENCES PÉDOCLIMATIQUES DE LA VIGNE	10
I-7-1-EXIGENCES CLIMATIQUES	10
I-7-2-TEMPÉRATURE.....	10
I-7-3-SOURCES HYDRIQUES	11
I-7-4-EXIGENCES ÉDAPHIQUES	11
I-8-MALADIE DE LA VIGNE	12
I-8-1-MALADIES FONGIQUES	12
I-8-2-MALADIES BACTÉRIENNES	13
I-8-3-MALADIES VIRALES	14
II-1-TAXONOMIE DES VIRUS DE LA VIGNE	13
LES VIRUS INFECTANT LA VIGNE APPARTIENNENT À DEUX GROUPES :	13
II-2-ÉTUDE DE VIRUS DU COURT-NOUÉ (GFLV)	13
II-2-1-DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE	14
II-2-2-VIRUS RESPONSABLES	14
II-2-3-CYCLE VIRAL DU GFLV	15
PROPRIÉTÉS BIOCHIMIQUES ET MOLÉCULAIRES	15
II-2-4- SYMPTÔMES	18
II-3-GÉNÉRALITÉ SUR LES NÉMATODES	19
II-3-1-DESCRIPTION.....	19
II-3-2-LIEUX DE PARASITISMES.....	19
II-3-3-CYCLE DE DÉVELOPPEMENT	20
II-3-4-ÉTUDE DES VECTEURS	21
II-3-4-1-BIOLOGIE DE XIPHINEMA INDEX	21
II-3-4-2-CLASSIFICATION DES NÉMATODES VECTEURS DU VIRUS COURT-NOUÉ	22
II-3-4-3-MORPHOLOGIE	22
II-3-4-4BIOLOGIE	24
II-3-4-5-CYCLE DE VIE.....	24

II-3-5-CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DE LA TRANSMISSION	25
III-1-DÉTECTION SÉROLOGIQUE.....	43
ÉCHANTILLONNAGE	43
CONSERVATION.....	43
DÉTECTION DE VIRUS PAR TEST ELISA	43
MATÉRIELS UTILISÉ	44
LISTE DES TAMPONS NÉCESSAIRES	44
III-2- EXTRACTION DU VIRUS.....	45
III-3- TEST ELISA	46
SENSIBILISATION DE LA PLAQUE	46
INCUBATION DE LA PLAQUE	46
LAVAGE.....	47
DÉPÔT DE L'ANTIGÈNE.....	47
INCUBATION	48
LAVAGE.....	48
INCUBATION.....	49
LAVAGE.....	49
DÉPÔT DU SUBSTRAT.....	49
INCUBATION.....	49
III-4- NÉMATODES	50
III-4- 1-ÉCHANTILLONNAGE	50
ÉTAPE 02 :LABO (EXTRACTION).....	51
MATÉRIELS UTILISÉ :.....	51
III-4- 2-PROCÉDURE :	52
III-4- 3-OBSERVATION :	53
OBSERVATION MICROSCOPIQUE	53
III-4-4- RÉSULTATS.....	52
NÉMATODES	52
III-4-5- RÉSULTAT DE TEST SÉROLOGIQUE	54

SYMPTÔMES OBSERVÉ SUR TERRAIN	54
III-4-6- RÉSULTAT TEST ELISA	55
PLAQUE 01	55
PLAQUE 02	56
III-4-7- DISCUSSION	57
DISCUSSION DU TEST DAS-ELISA.....	57
DISCUSSION DE L'ANALYSE NÉMATOLOGIQUE	58
CONCLUSION.....	78
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....	80

INTRODUCTION

Introduction Générale

La culture de la vigne remonte à environ quatre mille ans, ce qui en fait l'une des plus anciennes cultures de l'histoire. La vigne est une plante qui a la remarquable capacité de s'adapter à une grande variété de conditions pédoclimatiques. Elle est cultivée aussi bien dans des régions chaudes que dans des climats relativement froids (Reynier, 1989 ; Galet, 1998).

La vigne *Vitis vinifera* est une plante grimpante vivace de la famille des Vitacées, faisant partie de l'arboriculture fruitière. Sa durée de vie varie entre 30 et 50 ans. Cette plante possède des vrilles qui lui permettent de s'accrocher à différents supports et elle peut atteindre plusieurs mètres de longueur (Levadoux et al., 1962).

L'histoire de la culture de la vigne en Algérie remonte à l'Antiquité, à l'époque des Phéniciens et de l'Empire romain, où les premières traces de cette activité ont été découvertes. Cependant, c'est à partir de 1870 que la culture de la vigne en Algérie a connu un essor significatif. L'épidémie de phylloxéra en France a incité les colons à intensifier la plantation de différents cépages en Algérie (Caïd et al., 2019).

Dans les années 1930, la superficie des vignobles avait atteint 400 000 hectares, avec une production de 18 millions d'hectolitres de vin, faisant de l'Algérie le plus grand exportateur de vin avant la guerre. Cependant, après l'indépendance, une vaste campagne d'arrachage a été entreprise et les terres ont été réorientées vers d'autres cultures. Cela a entraîné une diminution significative de la superficie des vignobles, avec seulement 25 000 hectares réservés aux raisins destinés à la vinification (Caïd et al., 2019).

Grâce à ces nouvelles plantations, la production de fruits en Algérie a plus que doublé entre 2000 et 2011. Aujourd'hui, le vignoble algérien connaît un renouveau avec une superficie d'environ 77 000 hectares, malgré une diminution notable de la surface de vignes, l'Algérie a su maintenir sa position en tant que deuxième producteur de vin en Afrique (Belaid, 2017).

Toutefois, comme de nombreuses cultures, la vigne est vulnérable à de nombreux ravageurs et pathogènes. Certains parasites et agents viraux peuvent causer d'importantes pertes et représenter une menace pour la survie de l'ensemble d'un vignoble (Eldin et Milleville, 1998).

Le court noué est largement reconnu comme l'une des maladies virales les

plus dommageables pour la vigne, étant répandue à travers le monde. Elle a un impact significatif à la fois sur le rendement et la longévité des plants. L'infection par cette maladie peut conduire à une destruction rapide des plants affectés ou à un dépérissement progressif s'étalant sur plusieurs années (Bovey, 1973).

But de l'étude c'est de Caractériser les espèces de nématodes associées au court-noué de la vigne.

Les objectifs:

1. Echantillonnage de sol et de racine d'un vignoble qui présente des symptômes typiques du court noué pour l'analyse nématologique et identification des espèces de nématodes présentes.
2. Détection de la présence de virus du court noué (GFLV) a l'aide des méthodes sérologiques(test Elisa).

CHAPITRE I

I-Généralité sur la vigne

En 2018, la production mondiale de fruits a atteint un total de 868 millions de tonnes. Parmi les fruits les plus importants en termes de production, on retrouve les bananes, les agrumes, les melons, les pommes et les raisins, par ordre d'importance. Les autres types de fruits cultivés dans le monde ont représenté une production totale de 76 millions de tonnes, Concernant les raisins, la production mondiale en 2018 était largement dominée par l'Asie de l'Est, suivie de près par l'Asie du Sud. D'autres régions majeures productrices comprenaient l'Amérique du Sud, l'Asie du Sud-Est et l'Europe, Cette répartition géographique met en évidence l'importance de ces régions dans la production mondiale de raisins(FAO, 2021).

À partir des années 1990, l'Algérie a lancé de nouveaux projets de plantation, ce qui a entraîné une augmentation d'environ deux fois de la superficie consacrée à la culture des fruits. Ces plantations occupent désormais 10 % de la surface agricole utilisable du pays. L'introduction du Plan National de Développement Agricole (PNDA) en 2000 a insufflé une nouvelle dynamique à l'arboriculture fruitière en Algérie, avec de nouvelles plantations de vignobles et le rajeunissement des vergers existants. Entre 2000 et 2011, la production de fruits a plus que doublé grâce à l'amélioration des rendements. Cette augmentation de la production est principalement attribuable aux importantes plantations réalisées après 2002 (Agroligne, 2014).

La production de raisins de table a connu une croissance significative en termes de volume et une expansion notable en termes de superficie, avec un rythme de plantation moyen d'environ 54 hectares par an. À partir de 2001, une augmentation progressive de la superficie a été observée, atteignant finalement 40 943 hectares en 2004 (Sahli, 2009).

Systématique de la vigne

Les vignes cultivées font partie de la famille des *Vitaceae*, qui comprend 17 genres et regroupe plus d'un millier d'espèces réparties dans le monde entier. Ce sont des plantes adaptées à des environnements variés, pérennes et qui se présentent sous forme de lianes ou d'herbes. Elles sont principalement présentes dans les zones intertropicales (Levadoux et al., 1962). Le genre *Vitis*, quant à lui, est constitué d'environ 70 espèces, principalement localisées dans l'hémisphère Nord, sous des climats tempérés. Deux sous-espèces peuvent être distinguées : *Vitis vinifera* subsp. *silvestris* (Lambrusque), qui correspond au compartiment sauvage, et *Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*, qui constitue le compartiment domestiqué cultivé (Galet,

1988)

Selon Simon et al. (1992), la vigne appartient à :

- Embranchement : *Phanérogames* .
- Sous- Embranchement : *Angiospermes*.
- Classe : *Dicotylédones*.
- Sous-Classe : *Dialypétales*.
- Ordre : *Rhamnales*.
- Famille : *Vitacées*.
- Genre : *Vitis*.
- Sous-Genre : *Euvtis*.
- Groupe : *Européen*.
- Espèce : *Vitis Vinifera L*

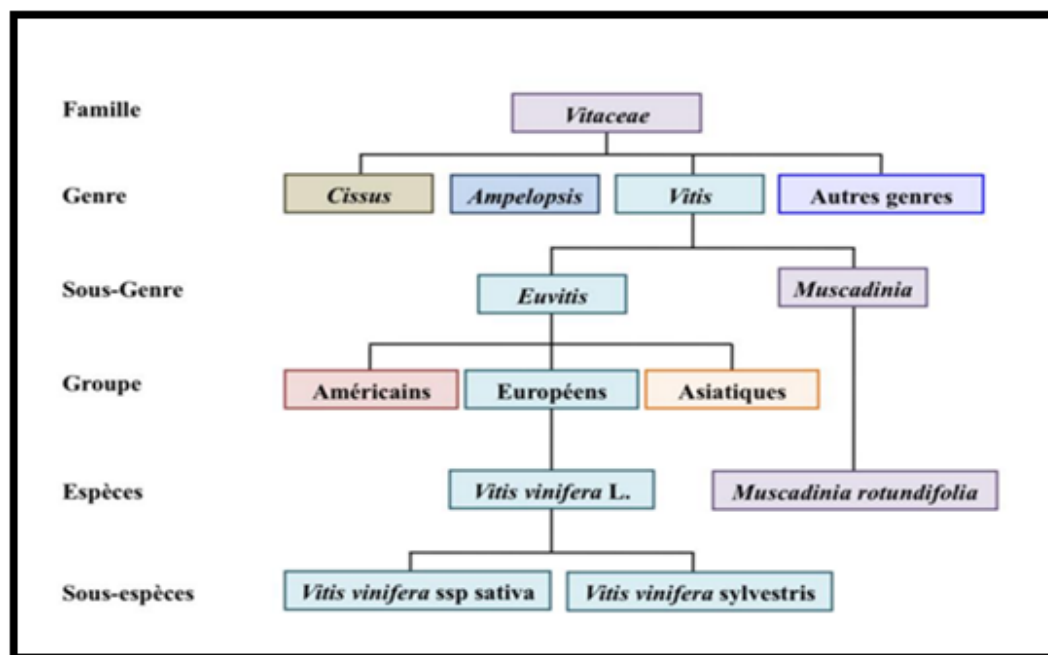


Figure 1 : systématique de vitis viniefera(Zah-Bi, 2014)

I-1-Morphologie et anatomie de la vigne

Organes végétatifs

Les racines

Le système racinaire des plantes issues de graines est généralement caractérisé par une racine pivotante, qui comprend une racine principale et des radicelles (Chauvet et Reynier, 1979 ; Amedjkouh, 2004).

La tige

Un plant de vigne, également appelé couramment pied ou cep, présente une grande variété de formes. Le tronc peut être plus ou moins tordu en raison du vieillissement de la vigne, et il est recouvert d'une écorce de plus en plus épaisse au fil du temps (Huglin, 1986 ; Amedjkouh, 2004).

Les feuilles

La feuille de vigne est caractérisée par sa simplicité, ses dents et la présence de sinus plus ou moins prononcés (Huglin, 1986). Ces caractéristiques font des feuilles de vigne un outil largement utilisé en ampélographie pour l'identification des cépages (Peynaud E et al., 1971).

Les vrilles

De manière générale, les vrilles de la vigne sont ramifiées, comprenant le pédoncule (Ribereau-Gayon J et al., 1971).

Les bourgeons

Ils se distinguent par leur capacité de croissance et d'extension (Amedjkouh, 2004).

I-2-Les organes reproducteurs

Les fleurs et inflorescence

Les fleurs de la vigne sont toujours disposées en grappes, formant des inflorescences. Le nombre de fleurs varie en fonction du cépage (Ribereau-Gayon J et al., 1971).

Le fruit

Les grappes de raisin se développent avec des vrilles qui sont positionnées en opposition aux feuilles (Amedjkouh, 2004).

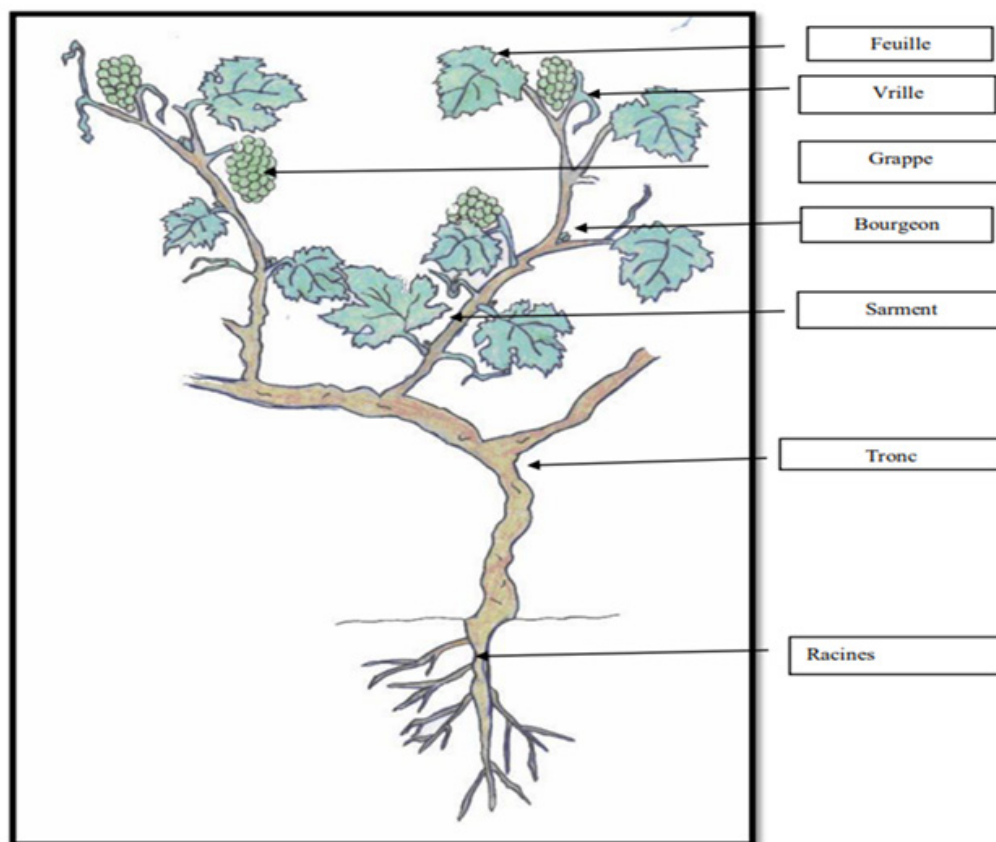


Figure 02 :Morphologie générale de la vigne (Amedjkouh, 2004).

I-3-Physiologie de la vigne

D'après Reynier (2016), les plantes vivaces ligneuses, telles que la vigne, maintiennent et développent leurs systèmes racinaires et continuent chaque année à développer leurs organes aériens à partir de pousses latentes portées par les parties vivaces de la plante. La vie d'une vigne est donc caractérisée par une série de cycles annuels interdépendants (Reynier, 2016).

I-3-1-Le repos hivernal

Cet état est également connu sous le nom de «dormance» et se caractérise par une absence de croissance des bourgeons, qui ne montrent aucun signe d'allongement visible (Huglin et Schneider, 1998).

I-3-2-Pleurs

Pendant la période hivernale, lorsque la vigne est en dormance, la circulation de la sève cesse, et c'est à ce moment-là que la taille de la vigne est effectuée. Lorsque les températures augmentent et que le sol se réchauffe, la sève recommence à circuler dans la plante, marquant ainsi le début du cycle végétatif de la vigne. À ce stade, la sève aqueuse s'écoule goutte à goutte à l'extrémité des sarments et des ceps qui n'ont pas encore cicatrisé après la taille. Cet écoulement de sève, visible après l'hiver sur les blessures causées par la taille, est communément appelé «pleurs». L'écoulement de cette sève est plus abondant lorsque la taille du cep est plus récente (Reynier, 2016).

I-3-3-Bourgeon éclaté

Chaque année, le débourrement des bourgeons latents de la vigne se produit une fois, et cela dépend grandement des conditions thermiques au début du printemps (Pouget, 1967).

Pendant la période pré-débourrement, qui précède l'éclatement des bourgeons, ceux-ci subissent une évolution physiologique progressive après avoir été exposés aux températures inductrices pour sortir de la dormance. Cette évolution se poursuit jusqu'à ce que les écailles des bourgeons se fissurent et que le débourrement se produise. La vitesse et l'intensité de cette évolution sont influencées par la température (Pouget, 1967).

I-3-4-Aoûtement

L'aoûtement est le phénomène qui se produit lorsque la vigne subit un changement d'apparence dû au dépôt d'amidon, qui se produit à la fin de la

croissance ou peu après. Cela se manifeste par une coloration brune et un flétrissement de l'écorce, principalement à la base des rameaux. Ce processus est associé à la formation du liège et à la lignification des rameaux, transformant ainsi les rameaux en sarments (Huglin et Schneider, 1998).

I-3-5-La croissance

La croissance de la vigne n'est pas linéaire et se déroule en plusieurs étapes distinctes. Après le débourrement, il faut plusieurs jours pour que la jeune pousse émerge des écailles. Ensuite, des feuilles rudimentaires apparaissent, et à un stade plus avancé, elles se déploient complètement. À ce stade, les grappes, encore à un stade précoce, commencent à se former à l'extrémité des rameaux. Au fur et à mesure que le temps passe, les grappes se développent davantage et s'éloignent progressivement de l'extrémité du rameau. Pendant l'été, la vigne poursuit sa croissance de manière continue (Huglin et Schneider, 1998).

I-3-6-Défeuillaison (chute des feuilles)

Au cours du cycle végétatif, les réserves d'amidon accumulées dans les feuilles se déplacent vers les sarments et les racines. Ce processus conduit finalement à la chute naturelle des feuilles (Huglin et Schneider, 1998).

I-4-Cycle reproductif

Le cycle de reproduction débute lorsque les inflorescences émergent des bourgeons. Le développement des organes reproducteurs commence en réalité dès l'année précédente, avec l'initiation des inflorescences dans les bourgeons latents (Louviaux, 2004).

I-4-1-Initiation florale

Le méristème du bourgeon principal de l'œil latent traverse successivement deux étapes distinctes : d'abord la phase végétative, où se forment uniquement les feuilles, puis la phase où l'apex devient inflorescentiel tout en maintenant une activité végétative. Les inflorescences et les feuilles apparaissent de manière rythmique (Galet, 2000). Les fleurs se manifestent sous la forme de petites masses globuleuses vertes ou rouges. Le nombre et la qualité des inflorescences produites reflètent la fertilité du cépage (Guillaume, 2001).

I-4-2-Différenciation des fleurs

Au printemps suivant, lorsque le bourgeon latent reprend son activité, la différenciation des fleurs de l'inflorescence débute. Toutes les fleurs d'une

inflorescence se différencient simultanément. Les organes de la fleur se développent successivement, après l'apparition des sépales. Les pétales s'élèvent, se courbent et se rassemblent pour former une corolle. Ensuite, les étamines et les carpelles se mettent en place, environ 3 à 5 semaines après le débourrement (Galet, 2000).

I-4-3-Floraison

La floraison représente le moment où la fleur s'épanouit grâce à l'ouverture de la corolle, qui se dessèche et tombe lors de la nouaison. Elle survient généralement en juin, mais la date peut varier en fonction de la variété et des conditions climatiques de l'année. Les fleurs situées à la base de l'inflorescence s'épanouissent en premier, tandis que les boutons à l'extrémité s'ouvrent en dernier (Galet, 2000).

I-4-4-Pollinisation

Les plants de vigne présentent trois types de fleurs : les fleurs hermaphrodites parfaites, les fleurs mâles et les fleurs femelles (Galet, 2000). La majorité des cépages commerciaux possèdent des fleurs hermaphrodites, ce qui leur permet d'accomplir la fertilisation par autofécondation ou fécondation croisée (Galet, 2000). Toutefois, d'autres cépages sont dioïques, ce qui signifie qu'ils nécessitent une pollinisation croisée pour produire des fruits (comme la vigne sauvage *Vitis Vinifera* Subsp. *sylvestris*). Il est largement reconnu que la pollinisation de la vigne se fait principalement par le vent, mais l'effet des insectes doit également être pris en compte (Galet, 2000; Munoz et al., 2011).

I-4-5-Fécondation

Le tube pollinique, qui se forme suite à la germination d'un grain de pollen, pénètre dans l'ovule par le biais du micropyle (Galet, 2000). Cette fécondation conduit à la formation d'un œuf qui se développe en un embryon entouré d'un albumen et de téguments, formant ainsi le pépin. Le reste de l'ovaire se transforme en fruit (Simon et al., 1992; Louviaux, 2004).

I-4-6-Nouaison

Suite à la fécondation, l'ovaire se développe et la graine se forme, ce qui entraîne la transformation de l'ovaire en fruit. Cependant, certaines fleurs non pollinisées et ovaires fécondés peuvent tomber, phénomène appelé coulure (Reynier, 2007).

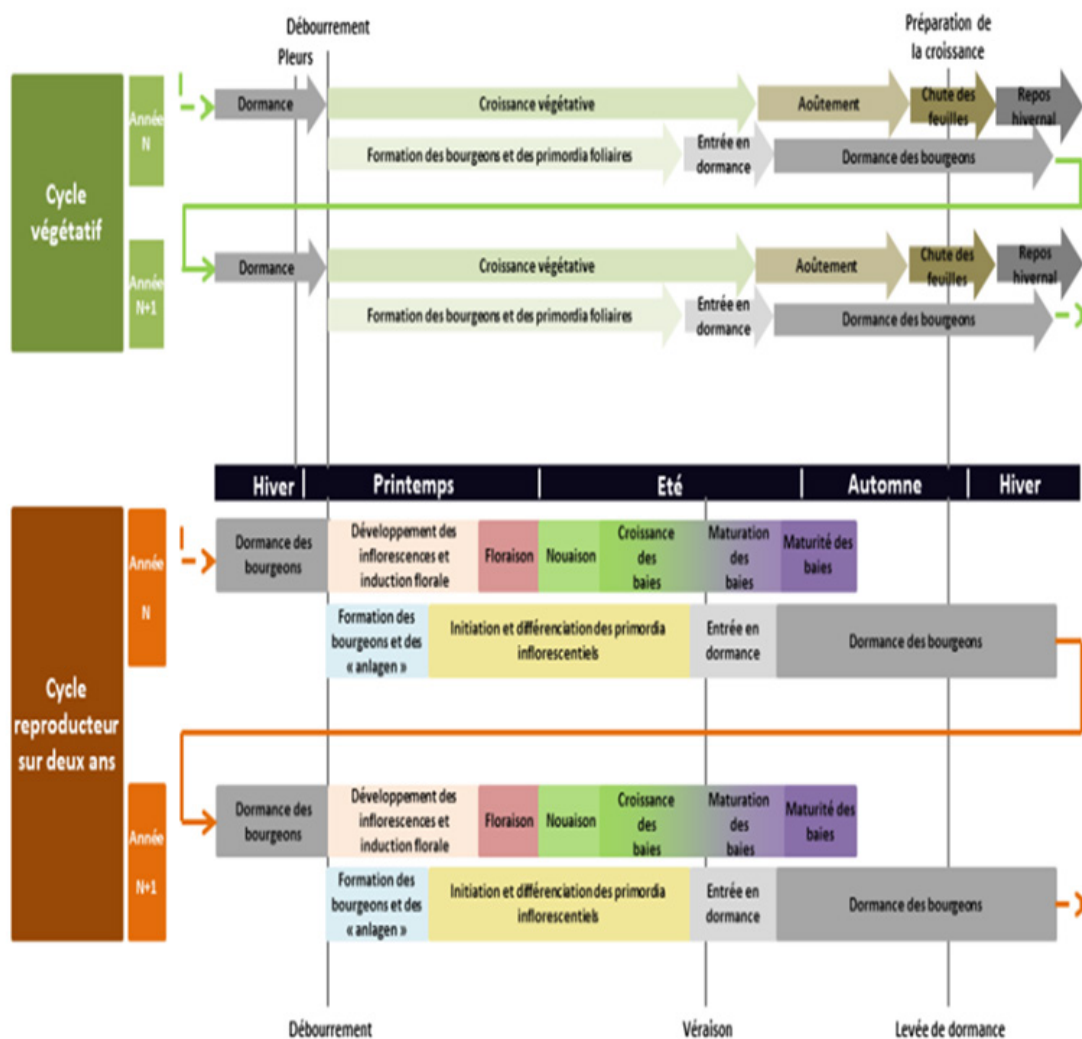


Figure 3 : Cycle Végétatif et reproducteur de la vigne (Carbonneau, 1992 ; Coombe et Iland, 2004 ; Carmona et al., 2008).

I-5-Importance économique de la viticulture

Les origines de la vigne, qui se retrouvent aujourd'hui dans le monde entier, sont censées se situer dans le nord-ouest de la Turquie, le nord de l'Irak, l'Azerbaïdjan et la Géorgie (Creasy et al., 2009 ; A. Lehad, 2012). La production viticole mondiale est principalement concentrée en Europe, avec l'Italie, l'Espagne et la France comme principaux producteurs. En Asie, près des trois quarts de la production mondiale sont représentés (figure 4)(Arezki, 2016). Selon Arezki (2016), la Chine occupe la première place en termes de production, suivie par l'Italie, les États-Unis et l'Espagne. En revanche, la production africaine ne représente que 5,8 % de la production mondiale, avec l'Afrique du Sud, l'Égypte, l'Algérie, le Maroc et la Tunisie comme principaux producteurs. L'Algérie est ainsi classée comme le troisième plus grand pays producteur de vin en Afrique (Arezki, 2016).

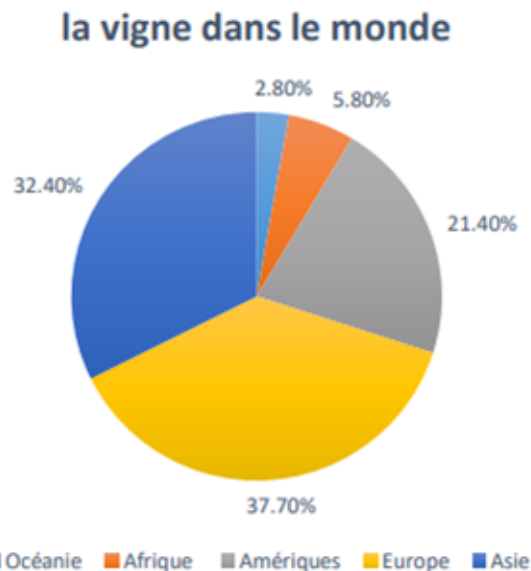


Figure 4 : Production mondiale de la vigne (Arezki, 2016).

I-6-La viticulture en Algérie

Selon A. Lehad (2012), la viticulture en Algérie a connu une croissance considérable pendant la période coloniale, avec une augmentation des superficies viticoles passant de 23 000 hectares à 123 000 hectares entre 1880 et 1896. Cependant, après l'indépendance, la culture de la vigne en Algérie a connu un déclin important en raison de facteurs politico-économiques et pédoclimatiques défavorables. Toutefois, à partir de l'année 2000, un programme de soutien a été mis en place pour revitaliser cette culture.

Dans le cadre du programme national de développement agricole (PNDA) lancé par l'État, l'agriculture, y compris la viticulture, a bénéficié d'un soutien important. Les superficies viticoles, qui s'élevaient à 56 000 hectares en 1998, ont augmenté pour atteindre 75 000 hectares en 2017 (Caïd et al., 2019).

I-7-Exigences pédoclimatiques de la vigne

I-7-1-Exigences climatiques

La vigne est une plante qui a des exigences climatiques spécifiques, ce qui signifie qu'elle doit toujours être cultivée dans des zones ensoleillées et chaudes (Briche, 2011).

I-7-2-Température

La température a un rôle crucial dans la physiologie de la vigne, en particulier lors de ses principales étapes phénologiques telles que le débourrement, la floraison et la véraison. Elle détermine la période d'apparition de ces étapes ainsi que leur

durée (Cleland et al., 2007). L'indice de Winkler (Amerine et Winkler, 1944) est largement utilisé pour évaluer l'impact thermique sur la vigne, en se basant sur une température-seuil de 10 °C, considérée comme le point de départ de la végétation, c'est-à-dire la température minimale nécessaire pour le développement végétatif. Des températures extrêmes inférieures à -2,5 °C peuvent provoquer le gel des bourgeons et des jeunes pousses, tandis que des températures supérieures à 42 °C peuvent brûler les grappes. La température affecte également la composition et la qualité des baies, la durée de maturation, le taux de sucre et d'acides, ainsi que l'arôme des fruits (Gorisse, 2017).

I-7-3-Sources hydriques

L'eau joue un rôle essentiel tout au long des différentes étapes de développement végétatif et reproductif de la vigne (Deloire, 2008). Un stress hydrique prononcé ou une disponibilité excessive en eau peuvent avoir des conséquences sur les rendements et la qualité des raisins. La vigne est particulièrement sensible à ses besoins en eau entre le débourrement et la floraison. Entre la véraison et la maturité, elle peut tolérer relativement bien un déficit hydrique modéré. Pendant la période de floraison et de nouaison, la vigne a besoin d'environ 400 à 500 mm d'eau. La sécheresse peut entraîner des pertes de rendement significatives (Cordeau, 1998).

I-7-4-Exigences édaphiques

Selon Huglin et Schneider (1998), la vigne possède une capacité d'adaptation à une large gamme de sols, incluant les sols secs, pauvres et argilo-calcaires. Toutefois, elle préfère les sols chauds, profonds et riches en substances nutritives. D'après Morlat et al. (2010), le transfert des éléments nutritifs entre le sol et la vigne est influencé par diverses conditions physico-chimiques, ce qui peut avoir un impact significatif sur la croissance et la production de la plante. La qualité des fruits dépend de l'état physiologique de la plante, qui est à son tour influencé par les conditions nutritionnelles (Cordeau, 1998).

I-8-Maladie de la vigne**I-8-1-Maladies fongique****Tableau 01** : Les principales maladies fongique de la vigne.

Maladie	Nom scientifique	Dégâts	Références
Mildiou	<i>Plasmopara viticola</i>	Des taches huileuses caractéristiques peuvent être observées sur la face supérieure des feuilles, avec une poussière blanche correspondante qui peut également apparaître sur les grappes en cas de conditions humides, principalement sur la face inférieure des feuilles.	Boso, et al.,2014.
Pourriture grise	<i>Botrytis cinerea</i>	Nécroses étalées sur les bords des feuilles et des sarments leurs donnant un aspect brulé. Mauvais aoutement des sarments. Pourriture caractéristique sur les grains de raisin,	Zheng et al.,2011
Anthraxnose maculée	<i>Elsinoe ampelina</i>	Lésions caractérisées par la présence d'une zone centrale blanchâtre auréolée de noir sur les organes verts de la plante.	Gao et al.2012
oïdium	<i>Erysiphe necator</i>	Une poussière blanchâtre ou grisâtre peut être observée sur la face inférieure ou supérieure des feuilles, des tiges et des grappes.	Debieu et al.,1995; Délye Et al, 1998

I-8-2-Maladies bactériennes

Tableau 02 : Les bactéries pathogènes les plus courantes de la vigne sont les suivantes

Nécrose bactérienne	<i>Xylophilus ampelinus</i> Panagopoulos	Les symptômes courants de la présence de bactéries pathogènes sur la vigne comprennent l'avortement des bourgeons, des difficultés lors du débourrement, des nécroses avec un contour humide ou huileux sur les sarments, ainsi que des fissurations longitudinales libérant un grand nombre de bactéries. Des taches angulaires rougeâtres ou sombres peuvent également apparaître sur les feuilles, ainsi que des nécroses sur les rafles des grappes.	SERFONTEI Net al., 1997.
Crown-gall	<i>Agrobacterium</i> <i>spp.</i>	Tumeurs lisses ou rugueuse, isolées ou regroupées sur le collet, les racines et les sarments entraînant un développement réduit de l'ensemble de la plante	Tolba et Zaki,2011
Maladie de Pierce	<i>Xylella fastidiosa</i>	Chlorose sur les feuilles Petite taille et malformation des feuilles Sur les grappes, dessèchement des grappes de raisin Développement irrégulier et mauvais aoutement des sarments	Buzkanet al.,2005

I-8-3-Maladies virales

Tableau 3 :Les principales maladies virales de la vigne

Maladie	Agent causal	Symptôme	Vecteurs	Références
Court noué	<i>GFLV, ArMVa</i>	- Raccourcissent des entre-nœuds. Jaunissement des feuilles Les feuilles avec un aspect d'éventail Réduction en qualité ainsi qu'en quantité de la production en raisin.	Nématodes: <i>Xiphinema index, X. italiae</i>	Valatetal.2000; Agrios, 2005
Enroulement De la vigne	<i>Grapevine leafroll-associated viruses 1 à 9 (GLRaV-1 à 9)</i>	- Enroulement des feuilles Vers le bas Rougisement ou Jaunissement des tissus Foliaires entre les nervures. - Mauvais aoutement. - Incompatibilité entre le Greffe et le porte-greffe.	Certains insectes du genre <i>Pseudococcus</i>	Constable et Rodoni,2011; Jarugulaletal., 2010.,
Complexe Du bois strié	<i>Grapevine rupestris stem pitting-associated virus (GRSPaV), Grapevine virus A (GVA), GVB, GVC, GVD</i>	- Présence de rugosités sur Les sarments - Un mauvais aoutement Détachement de l'écorce des sarments chez certains cépages		MartellietGallitelli, 2008; Ryojietal., 2008.
Complexe Fleck	<i>Grapevine fleck virus (GFkV)</i>	- Éclaircissement des nervures secondaire des feuilles.		Haenni et Dreher,2008
La Nécrose des nervures	<i>Une souche Spécifique du GRSPaV.</i>	- Des nécroses sur les nervures principales et secondaires		Gombino et al., 2010.
Vein banding de la vigne	<i>Complexe de deux viroïdes: Grapevine Yellow speckle viroid 1 (GYSVd-1) et GYSVd-2</i>	- Sur les feuilles ,marbrure Jaunâtre autour les Nervures principales.		Hajizadeh et al., 2012.
flavescence dorée	<i>Phytoplasme: Flavescedorée (FD) phytoplasma</i>	- Jaunissement de l'ensemble du feuillage.	Cicadelle: <i>Scaphoideus titanus</i>	Cousin et Boudon-Padieu, 2002; Narayanasamy, 2011.

CHAPITRE II

Les maladies virales jouent un rôle crucial dans la viticulture, car elles peuvent causer des pertes de rendement et de durée de vie des vignobles à des niveaux parfois catastrophiques. Elles peuvent considérablement réduire la qualité et la quantité de la récolte, allant parfois jusqu'à 60 % (Martelli, 1987). Parmi les nombreuses viroses qui peuvent affecter la vigne, le court noué est l'une des plus répandues et dommageables. Cette maladie est présente dans les vignobles du monde entier et est causée par le virus GFLV, qui est transmis par des nématodes au niveau des racines. Ce virus provoque la dégénérescence infectieuse et est responsable du dépérissement des vignobles dans de nombreuses régions européennes, ainsi que dans les régions septentrionales de l'Amérique (Walter, 2000).

II-1-Taxonomie des virus de la vigne

Les virus infectant la vigne appartiennent à deux groupes :

- Le premier groupe de virus se compose de genres regroupés en cinq familles distinctes : Bunyaviridae, Bromoviridae, Closteroviridae, Comoviridae et Tombusviridae. Ces familles se caractérisent par la présence d'un unique brin d'ARN, soit de forme isométrique ou filamenteuse, et par un ARN simple brin non enveloppé. Les membres de la famille des Bunyaviridae se distinguent par leurs particules parasphériques enveloppées contenant de l'ARN monocaténaire (Martelli, 2000).
- Le deuxième groupe de virus est constitué de cinq genres qui ne sont pas assignés à des familles spécifiques. Les particules virales de ces virus peuvent être soit isométriques, filamenteuses ou en bâtonnets. Leur génome est bipartite, composé de deux brins d'ARN simples sans enveloppe (Van Regenmortel, 2000).

II-2-Étude de Virus du court-noué (GFLV)

Le virus Grapevine fanleaf appartient au genre des Nepovirus, qui est le genre le plus répandu dans le monde. Ces virus ont une importance économique considérable. Sur les vignes, les Nepovirus provoquent une irrégularité et un raccourcissement des entre-nœuds, ce qui entraîne des troubles tels qu'une réduction de la longévité, un dépérissement progressif et une perte de récolte pouvant atteindre 90 % (Walter, 2000). Les Nepovirus se transmettent par voie mécanique, notamment par greffage et inoculation mécanique. Ils ont également été expérimentalement transmis à 30 espèces différentes appartenant à diverses familles botaniques, telles que les Chénopodes, les Amarantes et les Cucurbitacées

(Galet, 1983). Les nématodes jouent un rôle de vecteur en transmettant le virus d'une plante à une autre. Deux espèces du genre *Xiphinema* sont connues pour être des vecteurs du virus du court-noué, à savoir *X. index* (Thorne et Allen, 1950) et *X. italiae* (Walter, 2000).

II-2-1-Distribution géographique

Le court-noué est une maladie largement répandue à travers le monde (Martelli, 1987). Outre les pays d'Europe du bassin méditerranéen, le court-noué a également été signalé en Afghanistan, en Algérie, à Malte, en Tunisie et en Turquie. Cette distribution géographique montre que le court-noué est présent dans plusieurs régions, tant en Europe qu'au-delà, ce qui souligne l'importance de sa surveillance et de sa gestion dans divers contextes agricoles (Walter, 2000).

II-2-2-virus responsables

La maladie du court-noué est largement répandue à travers le monde, dans toutes les régions où la vigne est cultivée, et elle est considérée comme l'une des maladies virales les plus préjudiciables pour l'industrie viticole. (Mekuria et al., 2009 ; Andret-Link et al., 2004a). Elle a été rapportée pour la première fois par Casalis-Alluten en 1865, et en 1883, Rathay a signalé que la transmission de la maladie était d'origine tellurique (Hewitt, 1950).

La maladie du court-noué chez la vigne est causée par seize espèces virales, dont quinze appartenant au genre *Nepovirus* (Walter, 2000 ; Martelli et Boudon-Padieu, 2006). Le Grape vine fanleaf virus (GFLV) est l'agent principal responsable de cette maladie, et il est répandu dans le monde entier. Il est exclusivement transmis de vigne à vigne par le nématode ectoparasite *Xiphinema index* (Fuchs, 2008). L'association entre le GFLV et *X. index* a été démontrée en 1958 par Hewitt et ses collaborateurs. En 1963, Dias et Harris ont réussi à isoler les particules virales du GFLV à partir de plants de vigne présentant les symptômes de la maladie du court-noué. Plus tard, Cohn et ses collaborateurs ont suggéré une autre espèce vectrice du GFLV, *X. italiae*, mais cela n'a pas été confirmé par d'autres études. Par conséquent, *X. index* est considéré comme le vecteur naturel exclusif du GFLV (Martelli et Taylor, 1990).

Un autre népovirus pouvant causer la maladie du court-noué chez la vigne est l'Arabis mosaic virus (ArMV). Il présente une relation sérologique avec le GFLV et provoque des symptômes similaires chez la vigne (Dias et Harrison, 1963). L'ArMV est largement répandu en Europe, mais on le trouve également

au Moyen-Orient, en Asie, au Japon, au Canada et aux États-Unis (Californie). Il présente une organisation génétique similaire à celle du GFLV. Cependant, il est spécifiquement transmis par *Xiphinema diversicaudatum*, et non par *X. index* (Wetzel et al., 2006).

II-2-3-Cycle viral du GFLV

Propriétés biochimiques et moléculaires

Le Grapevine fanleaf virus est un parasite intracellulaire. Les particules virales ont une structure isométrique et un diamètre d'environ 30 nm (Martelli, 1997). Son acide nucléique est constitué d'un ARN simple brin, linéaire, en sens positif. Le génome viral est bipartite, composé de deux molécules fonctionnelles d'ARN-1 et d'ARN-2, d'environ $2,4 \times 10$ et $1,4 \times 10$ respectivement (Quacquarelli, 1976 ; Pinck, 1988). Les caractéristiques des Nepovirus sont déterminées par l'ARN-1 et l'ARN-2 (Taylor, 1997). On observe la présence d'une protéine liée au génome, appelée virion protéine génome linked (VPg), composée de 24 nucléotides et ayant un poids moléculaire de 2,9 kDa. Cette protéine est covalentement liée à l'extrémité 5' terminale de l'ARN-1 et de l'ARN-2 (Pinck, 1988). De plus, une queue poly-adénosine (poly (A)) est liée à l'extrémité 3' terminale (Serghini, 1990 ; Taylor, 1997).

Le génome de l'isolat français F13 a été entièrement séquencé, ainsi qu'une partie de l'ARN-2 de l'isolat australien et californien (Serghini, 1990 ; Ritzenthaler, 1991 ; Brant, 1995 ; Sanchez, 1991). L'ARN-1, d'une longueur de 7342 nucléotides, contient un seul cadre ouvert de lecture (Open Reading Frame, ORF) s'étendant sur 6855 nucléotides, du 243e au 7097e nucléotide.

Selon Dalmaso en 1968 et 1971, la polyprotéine codée par cet ORF comprend 2284 acides aminés avec un poids moléculaire de 253000 Da. La structure primaire de la polyprotéine, de la région 3' à 5' terminale, est composée d'une protéine de type ARN polymérase (1E) d'un poids moléculaire de 92000 Da (Margis, 1991), suivie d'une protéase cystéine (1D) de 25000 Da. Les activités protéolytiques différentes des précurseurs et des formes matures de la région 1D protéinase aux sites de clivage Arg./Gly., Cyst/Ala et Gly/Glu ont été identifiées (Margis, 1994). La protéine VPg (1C) a un poids moléculaire de 29000 Da (Pinck, 1998) et est suivie d'une protéine 1B de 88000 Da contenant une chaîne de nucléotides attachée et une protéinase cofactorielle (Ritzenthaler, 1995). La protéine 1A, située à la partie N-terminale, a un poids moléculaire de 46000 Da (Margis, 1994). En ce qui concerne l'ARN-2, il a une longueur totale de 3774 nucléotides et code pour un seul produit d'un

poids moléculaire de 131000 Da (3330 nucléotides). Cette polyprotéine inclut une protéine capsidique (CP) 2C produite au site de clivage protéolytique Arg/Gly entre les nucléotides 680 et 681, et contient 504 acides aminés avec un poids moléculaire de 56019 Da (Serghini, 1990).



Figure 5 : Organisation génomique et expression des ARN1 et 2 du grapevine fanleaf virus (GFLV) isolat F3. (Anonyme, 2013).

Les deux ARN présentent une phase de lecture ouverte étendue, représentée par des rectangles ombrés. Les régions non codantes sont indiquées par des rectangles fins rouges aux extrémités de chaque phase codante. La protéine VPg est représentée par un cercle noir. Les sites de clivage des deux polyprotéines et leurs séquences correspondantes sont marqués par des triangles pleins et des lettres respectives. Les noms des protéines sont indiqués à l'intérieur de chaque protéine produite (Khenchelaoui, 2015).

La réplication biologique du GFLV ne peut se produire que lorsque les ARN-1 et ARN-2 sont inoculés ensemble chez des chénopodes quinoa. Dans ce cas, ils sont capables de se répliquer dans le protoplasme. Cependant, si seul l'un des ARN est inoculé chez une plante hôte, il ne sera pas détecté (Viry, 1993). Pour l'expression des gènes, le GFLV utilise la stratégie de la «polyprotéine» pour la traduction des deux ARN. La polyprotéine synthétisée est ensuite clivée par une protéinase présente dans l'ARN-1, générant ainsi des protéines individuelles (Pinck, 1998).

Dans l'isolat français F13 du GFLV, un ARN satellite linéaire (satRNA) a été identifié (Pinck, 1988). Le satRNA est composé de 1114 nucléotides qui codent pour un grand polypeptide hydrophile d'un poids moléculaire de 37275 Da. Il présente une structure terminale aux extrémités 5' et 3', identique à celle des ARNs génomiques (avec la même taille de VPg et de poly (A)). Les 14 premiers nucléotides contiennent une séquence consensus UG/UGAAAAU/AU/AU/A,

similaire à celle décrite dans les ARNs du génome du virus auxiliaire et dans plusieurs autres Nepovirus. Cette séquence est suivie d'une région 3' terminale non codante 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 par lui-même. Il dépend totalement des deux ARNs du virus auxiliaire pour sa réplication et son encapsidation (Pinck, 1988; Hans, 1996). Sa présence modère l'expression des symptômes chez *C. quinoa* (Fuchs, 1996). Le satRNA a été détecté par hybridation moléculaire dans 5 des 34 virus isolés dans différents emplacements géographiques (Saldarelli, 1993).

II-2-4- Symptômes

Sur les feuilles, les symptômes primaires de la maladie se manifestent par des décolorations telles que le jaunissement, la panachure et l'apparition de tâches annulaires. Des déformations du limbe peuvent également être observées. Les sinus pétiolaires sont élargis et les nervures primaires sont rapprochées. Une déformation des bords des feuilles peut également se produire, leur donnant une forme en éventail, d'où le nom de la maladie en anglais «fanleaf» (Tahirine, 2015). Au niveau des sarments, on observe fréquemment un raccourcissement des entre-nœuds, ce qui donne son nom à la maladie du court-noué. Des doubles nœuds et des symptômes de fasciations peuvent également être présents. Les vignes infectées peuvent subir, au fil des années, une réduction significative de leur vigueur végétative, ce qui peut entraîner des difficultés lors de la taille, notamment lorsqu'elle est mécanisée (Tahirine, 2015). Au niveau des grappes, on observe fréquemment une diminution du nombre et de la taille des grappes, ainsi qu'un retard de maturation des baies. L'infection virale entraîne des altérations du métabolisme de la plante, affectant notamment la photosynthèse, les processus respiratoires, les activités enzymatiques, les transports à longue distance par le phloème, les équilibres hormonaux et la nutrition minérale (Demangeat et al., 2005). Le GFLV provoque un affaiblissement progressif de la vigne, réduisant ainsi sa longévité et pouvant même entraîner sa mort (Tahirine, 2015). Ces effets cumulatifs entraînent des pertes de récolte pouvant dépasser les 80% et ont un impact sur la qualité du vin (Andret-Link et al., 2004).

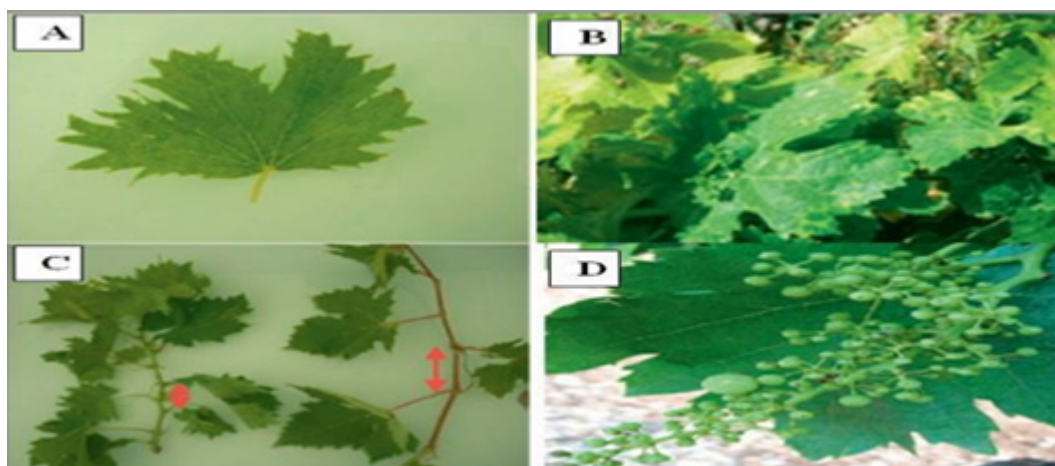


Figure 6 :Symptômes du court-noué de la vigne sur la plante : les feuilles (A et B), les sarments (C), les fruits (D) (Samaali et al.2015 ; Rahali, 2020)

II-3-Généralité sur les nématodes

II-3-1-Description

Les nématodes phytoparasites sont des parasites obligatoires biotrophes qui se nourrissent exclusivement du cytoplasme des cellules vivantes. Ils sont généralement des vers ronds non segmentés en forme d'aiguille, mesurant de 0,25 à plus de 1 mm, certains pouvant atteindre jusqu'à 4 mm (Coyne et al., 2010). Ils présentent une grande variabilité de formes et de tailles, mais ont généralement une morphologie effilée de la tête à la queue. En plus des systèmes circulatoire, respiratoire et digestif communs à d'autres espèces, les nématodes phytoparasites se distinguent par la présence d'une structure spécialisée appelée stylet. Ce stylet est utilisé pour injecter des enzymes dans les cellules et les tissus végétaux des plantes, et pour en extraire le contenu, de manière similaire aux pucerons (Coyne et al., 2010).

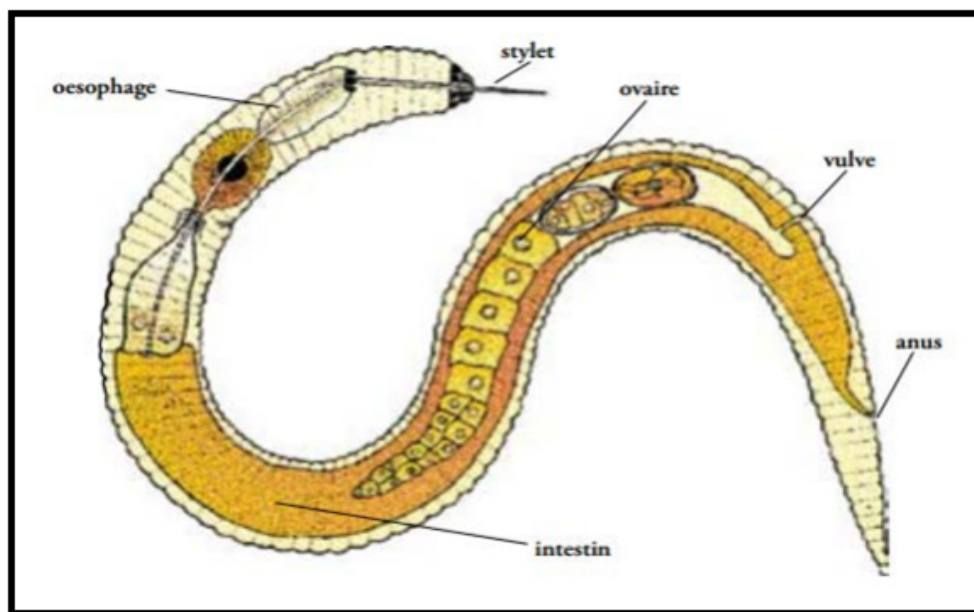


Figure 7: Morphologie générale d'un nématode (d'après R. Esser dans Coyne et al., 2010) .

II-3-2-Lieux de parasitismes

1. **Les nématodes ectoparasites :** Certains nématodes phytoparasites restent à l'extérieur des tissus des plantes hôtes et se nourrissent de la surface des racines ou des parties aériennes. Ils utilisent des structures buccales spécialisées (stylet) pour perforer les tissus végétaux et se nourrir de leurs contenus cellulaires. Leur présence en grand nombre peut être sans conséquence, mais ils peuvent également causer des dommages significatifs aux plantes qui sont déjà soumises à un stress biotique ou abiotique, tels qu'une attaque fongique

ou une faible disponibilité en eau. Parmi les genres couramment associés aux nématodes ectoparasites, on trouve *Tylenchus*, *Helicotylenchus*, *Dolichodorus*, *Xiphinema* et *Longidorus*. Il est également bien établi que certains nématodes ectoparasites jouent un rôle crucial dans la transmission de virus aux plantes, tels que *Xiphinema spp.*, *Longidorus spp.*, *Trichodorus* et *Paratrichodorus spp.* (Mukhaimar, 2016).

2. **Des nématodes semi endoparasites** : Les nématodes semi-endoparasites pénètrent partiellement à l'intérieur des tissus végétaux en insérant leurs structures buccales dans les cellules de la plante hôte. Ils se nourrissent des cellules végétales en extrayant les nutriments nécessaires à leur survie et à leur reproduction. Par exemple, les genres *Rotylenchulus* et *Tylenchulus* (Mukhaimar, 2016).
3. **Des nématodes endoparasites** ; Ce groupe peut être subdivisé en deux sous-groupes : les endoparasites sédentaires et les endoparasites migrants. Les endoparasites sédentaires se déplacent à l'intérieur des tissus racinaires de la plante, établissent un site d'alimentation permanent et cessent d'être mobiles. Ce sous-groupe comprend les nématodes à kyste (par exemple, *Globodera spp.*) et les nématodes à galles (*Meloidogyne spp.*). En revanche, les nématodes endoparasites migrants, à l'exception de l'œuf, restent mobiles à tous les stades et se nourrissent à l'intérieur des tissus racinaires des plantes. Les genres *Pratylenchus* et *Radopholus* sont des exemples de nématodes endoparasites migrants, et le genre *Ditylenchus* peut également attaquer les tissus des tiges (Perry & Moens, 2006).

II-3-3-Cycle de développement

Le cycle de vie des nématodes se divise généralement en 6 stades : l'œuf, quatre stades juvéniles et l'adulte. Il se déroule en 2 phases distinctes : la phase exophyte, qui se déroule à l'extérieur de la plante et commence avec la ponte de l'œuf, et se termine avec la pénétration d'un juvénile de stade 2 dans la racine de la plante ; et la phase endophyte, qui correspond à la phase parasitaire à l'intérieur de la plante. La durée de chaque stade et du cycle complet des nématodes varie en fonction des espèces et est influencée par des facteurs tels que la température, le taux d'humidité et la plante hôte (Coyne et al., 2010).

Tableau 4 :Les principaux nématodes affectent la vigne .

Ordres	Agent causal	Symptômes	Références
Tylenchides	- <i>Meloidogyne arenaria</i> . - <i>M.incongnita</i> . - <i>M.hapla</i> .	- Hypertrophie des cellules de l'écorce des racines Galle sur le système racinaire. - Croissance ralentis du fait de l'affaiblissement du système racinaire.	Mervat et al.,2012.
Dorylamides	- <i>Xiphinema</i> - <i>Trichodorus</i> - <i>Longidorus</i>	Dégâts directs peu importants allant de l'aspect coralliforme des racines au symptôme de «Balais de sorcières» sur les tiges .Dégâts indirectes d'importance majeure car ils transmettent des virus dangereux tell que le virus du court noué (GFLV).	Demangeat et al. 2004; Martelli et Uyemoto,2008.

II-3-4-Étude des vecteurs

II-3-4-1-Biologie de *Xiphinema index*

Selon Demangeat (2007), l'aire d'origine présumée de *Xiphinema index* se situe probablement au Moyen-Orient, où l'espèce semble avoir été largement disséminée en relation avec la culture de la vigne. Selon Cooper et ses collaborateurs (1975), le nématode *Xiphinema index* présente une gamme d'hôtes très étroite, étant étroitement associé à la vigne qui est également l'hôte naturel du Grapevine fanleaf virus (GFLV). Bien que le figuier puisse également être une plante hôte pour *X. index*, cette espèce végétale n'est pas un hôte du virus.

X. index préfère les sols lourds, car ils offrent une meilleure protection contre la dessiccation, à laquelle le nématode est sensible. Après l'éclosion des œufs qui sont pondus individuellement dans le sol, le nématode passe par quatre stades larvaires, selon Magunacelaya (2009) et Hübschen et al. (2004). Les adultes et tous les stades larvaires sont capables d'acquérir et de transmettre le GFLV, comme l'ont démontré Ziegler-Graff et Brault (2008).

Chez *X.index* ,les mâles sont très rares et ne participent que très occasionnellement à la reproduction qui est majoritairement de type

parthénogénique (Daijdasso, 1975 ;Hull,2002). Dans les conditions les plus favorables, le cycle complet (œuf à adulte) dure 2 à 3mois mais il peut être prolongé par des périodes de quiescence à n'importe quel stade de développement lorsque X.index rencontre des conditions très défavorables (Lee,2002;Esmenjaud et Bouquet, 2009).

L'analyse de la distribution verticale de X. index a été réalisée dans plusieurs parcelles de vignes naturellement infectées, ces analyses ont permis de montrer que X.index est souvent absent des horizons supérieurs et que les effectifs les plus importants sont retrouvés dans la rhizosphère des racines en croissance, c'est-à-dire entre 50 et 100 cm de profondeur (Pitcher, 1975; Wyss, 2002; Aballayet al., 2012; Askaryet al, 2012).

II-3-4-2-Classification des nématodes vecteurs du virus court-noué

D'après (Maggenti 1991) ces nématodes appartient à :

- Ordre : *Dorylaimida*
- Sous-ordre : *Dorylaiminae*
- Super famille : *Dorylaimidae*
- Famille : *Longidoridae*
- Sous-famille : *Xiphinematinae*
- Genre : *Xiphinema*
- Espèce : *Xiphinema index*
- *Xiphinema italiae*

II-3-4-3-Morphologie

Selon Taylor (1997), les nématodes du genre *Xiphinema* présentent un aspect vermiforme à tous les stades biologiques, et il n'y a pas une grande différence entre les adultes et les stades larvaires. Les espèces de ce genre sont caractériser par un corps allongé, mince et non segmenté, mesurant entre 3 et 5 mm de longueur. En position de fixation, leur corps adopte une forme en «c». Le stylet, long et mince, présente un «anneau de guidage» situé au milieu ou après la base du stylet (Dalmasso, 1968), tandis que le bulbe médian est absent (Taylor, 1968). Les femelles peuvent avoir 1 ou 2 ovaires, et la vulve se situe à environ 30% de la longueur du corps. La queue présente une forme plus ou moins arrondie (Taylor, 1997). Les larves possèdent un odontostyle supplémentaire logé plus postérieurement dans

la paroi de l'œsophage, qui remplace le premier odontostyle lors de la mue. La longueur de l'odontostyle varie en fonction du stade du nématode et de l'espèce à laquelle il appartient (Lorrain, 1997). Le dimorphisme sexuel est peu marqué, se limitant à quelques caractères somatiques primaires ou accessoires. Ainsi, l'aspect du mâle diffère légèrement de celui de la femelle, mais ces variations liées au sexe sont très limitées (Dalmasso, 1968).

Pour *X. index*, les femelles mesurent entre 2,9 et 3,3 mm, tandis que les mâles sont rares. La région céphalique n'est pas individualisée et l'appendice caudal est petit et largement fusionné avec la queue (figure 8) (Dalmasso, 1968; Siddiqi, 1974) .

Selon Taylor et al (1997), *Xiphinema italiae* présente une taille corporelle de 3,3 à 3,5 mm. La région céphalique est clairement structurée, tandis que le corps est mince et élancé. La queue est conique et allongée. On note l'absence de l'organe Z dans l'utérus, et les mâles sont rares. La longueur de l'odontostyle est de 98 μm (figure 9).

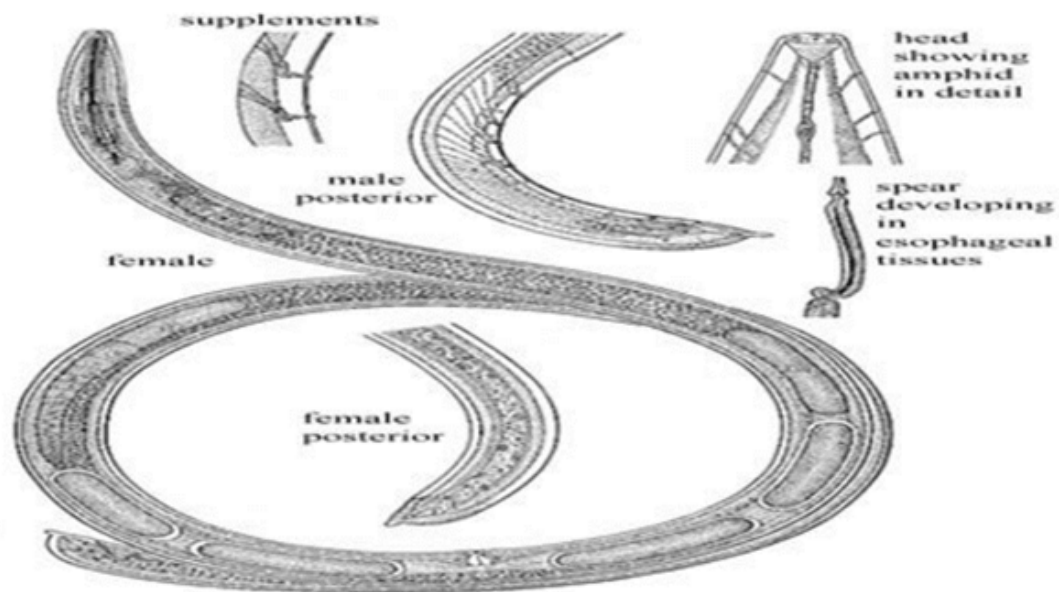


Figure 8 :Morphologie de *Xiphinema index*(Anonyme).

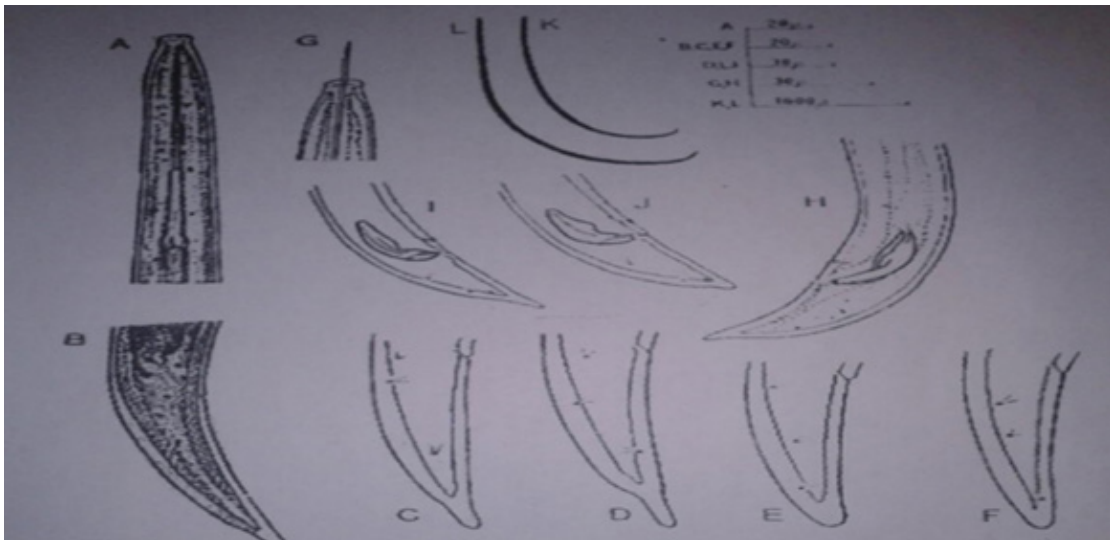


Figure 9: Morphologie de l'espèce *Xiphinemaitaliae* (COHN, 1970). A : Région antérieure de la femelle ; B : Gonade postérieure de la femelle ; C-F : Forme de la queue de la femelle ; G : Région céphalique ; H : Région postérieure du mâle ; I-J : Taille de la queue du mâle

II-3-4-4 Biologie

Selon Galet (1991), les espèces de *Xiphinema* sont des nématodes migrateurs qui vivent en tant qu'ectoparasites du système racinaire, se nourrissant principalement des radicelles et de leurs extrémités. Leurs déplacements dans le sol sont généralement limités horizontalement, avec une moyenne de 30 à 50 cm par an, mais peuvent atteindre jusqu'à 2 mètres par an dans les sols sableux. Leur développement est lent dans des conditions naturelles, passant par cinq stades larvaires avant d'atteindre le stade adulte, et ces stades coexistent tout au long de l'année. Les espèces de *Xiphinema* se reproduisent par parthénogenèse, mais ce processus est lent car ces nématodes ont une faible dispersion loin des racines. Les mâles sont rares, et les femelles pondent principalement leurs œufs en avril-mai (Howard, 1999). Le nombre d'individus dans une population varie en fonction du climat, des températures, du taux d'humidité, mais surtout de la présence de la plante hôte. On sait que *Xiphinema* peut persister sur les racines profondes d'une vigne arrachée, avec un nombre pouvant aller d'un à plusieurs dizaines d'individus par kilogramme de terre. Les analyses ont montré que les populations ne sont jamais homogènes, mais se répartissent sous forme de foyers groupés autour des racines nourricières (Lorrain, 1997).

II-3-4-5-Cycle de vie

Chez *X. index*, la durée de vie peut varier en fonction des conditions

environnementales et de la localisation géographique. Par exemple, en Californie à une température de 24°C, la durée de vie de *X. index* est d'environ 27 jours. En Italie, dans des conditions de serre avec une température de 20 à 22°C, la population de *X. index* peut compléter son cycle de vie en 2 à 4 mois en se maintenant sur le figuier (Thorne et Allen, 1950).

En ce qui concerne *X. italiae*, la durée du cycle de vie sur vigne varie également en fonction de la température. À une température de 28°C, le cycle de vie de *X. italiae* sur vigne dure environ 6 mois. À une température de 24°C, ce cycle de vie peut s'étendre jusqu'à 12 mois (Cohn, 1977) .

II-3-5- Caractéristiques générales de la transmission

Les népovirus sont des virus non enveloppés, d'un diamètre d'environ 30nm. Le virion est composé d'une seule protéine de capsid (CP) avec un génome bipartite à ARN simple brin de polarité positive, la transmission se fait selon un mode semi-persistant. Le terme « nepovirus » désigne les virus icosaédriques transmis par nématode, puisque nepovirus provient de l'abréviation de « nematode-transmitted polyhedral particles virus », cependant, la plus part des virus regroupés dans ce genre ne sont pas effectivement transmis par nématode (Schellenberger et al., 2010; Sastry, 2013).

En effet, beaucoup de nématodes ne transmettent que 2 ou 3 espèces virales différentes. C'est le cas pour *X. diversicaudatum* qui transmet l'ArMV et le SLRV (Adekunle et al., 2006). Le niveau de spécificité peut même aller jusqu'au niveau de l'isolat : les isolats écossais et anglais du Raspberry ringspot virus (RpRSV) sont transmis spécifiquement par *Longidorus elongatus* et *L. macrosoma*, respectivement (Scott et al., 2000).

Ainsi, la transmission des Nepovirus par nématodes selon le mode semi-persistant non circulant est très spécifique. Cette particularité reflète une interaction de haute affinité entre les virus et les sites de rétention au niveau de l'appareil alimentaire du vecteur. La deuxième singularité de cette association nepovirus/nématodes est le temps de rétention extrêmement long du virus chez les *Xiphinema*. Ces derniers sont capables de rester vrillifères pendant de longues périodes : neuf mois pour *X. americanum*, deux ans pour *X. rivesi*, et probablement au moins quatre ans pour *X. index* (Wyss, 1975 ; Sanfaçon, 2008 ; Wilson et Wilson, 2014). Malgré la grande période de rétention observée, qui pourrait suggérer un mode de transmission circulant, il n'y a jamais eu aucune évidence de répllication des virus dans les nématodes. De plus, le caractère virulifère du nématode est

perdu après la mue et il n'y a pas de passage transovarien (Hull, 2014).

Xiphinema comporte un odontostyle, aiguille creuse aux bords non soudés de 60 à 250 µm de long qui permet au nématode de se nourrir en pénétrant la paroi végétale pour atteindre le cytoplasme des cellules végétales. Suit l'odontophore, deuxième pièce creuse connectant l'odontostyle à l'œsophage. Des muscles rattachés à la base et aux cotés de l'odontophore, permettent de rétracter ou protracter l'odontostyle du corps du nématode. L'odontophore est prolongé par l'œsophage qui est un tube flexible et étroit. L'œsophage se termine par le bulbe œsophagien. Ce bulbe assure le rôle de pompe refoulante et aspirante. Il est associé à des glandes salivaires qui déversent leurs productions dans la lumière du bulbe œsophagien. Il est contrôlée par sa rétraction ou dilatation, respectivement l'injection de la salive dans les cellules végétales ou la ponction du cytoplasme digéré de la cellule. Enfin, l'intestin est la partie la plus longue de l'appareil alimentaire, il s'étend jusqu'au scrotum (Tahirine ,2015).

Les particules virales sont adsorbées en une monocouche à la surface du tractus alimentaire du nématode, mais le site de rétention diffère suivant le genre de nématode vecteur (Tayloret Robertson, 1975). Pour les vecteurs du genre *Longidorus*, les virus sont retenus dans le lumen de l'odontostyle, mais également entre l'odontostyle et la membrane guide. Chez les *Xiphinema*, les virus sont adsorbés depuis le début de l'odontophore jusqu'à la fin du bulbe œsophagien, alors que pour les *Trichodorus*, la rétention est faite tous le long de l'appareil buccal(Figure 10).

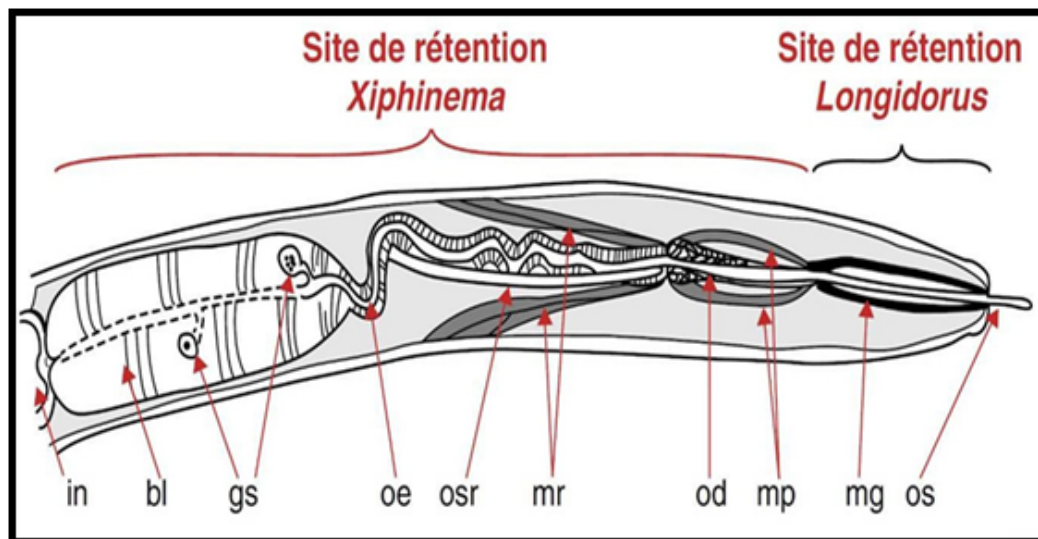


Figure10 : la structure antérieure des Longidoridae (Demangeat,2007).in : intestin ; bl : bulbe muscloglandulaire ; gs : glandes salivaires ; oe: oesophage ; osr :odontostyle de remplacement ; mr : muscle rétracteur ; od : odontophore ; mp : muscle protracteur ; mg: membrane guide ; Os: odontostyle.

L'accolade noire indique la localisation des particules virales chez les Longidorus et l'accolade rouge celle chez les Xiphinema au niveau de l'appareil alimentaire du nématode (Demangeat,2007).

Cette adsorption des Nepovirus est un phénomène sélectif, qui implique certainement des molécules spécifiques du nématode. Dans le cas de *X.diversicaudatum*, il a peut-être démontré que la capacité du nématode à retenir le virus peut être héritée génétiquement. En1986, une étude a montré que le croisement entre une population de *X. diversicaudatum* transmettant efficacement l'ArMV et une autre ne la transmettant qu'occasionnellement, générant des nématodes «hybrides» transmettant l'ArMV avec une efficacité intermédiaire (Tahirine 2015). La nature biochimique des sites de rétention pourrait être des molécules polysaccharidiques (Murant et al., 1996; Sastry,2013).

Chez *X. diversicaudatum*, le site de rétention des particules virales répond positivement au marquage pour les carbohydrates - composé polysaccharidique -, alors que le même site chez *L.elongatus*, vecteur du RpRSV et du TBRV, n'est pas marqué, ni d'ailleurs l'odontostyle de *X. diversicaudatum* et de *X. index* (Demangeat et al.,2005;Demangeat,2007).

CHAPITRE III

III-1-Détection sérologique

Échantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé dans la wilaya d'Alger commune Rouiba domaine Ahmed MEDGHRI(Fig11). La prise des échantillons de feuilles est faite en suivant les diagonales de la parcelle sur les plants présentant des symptômes de jaunisse, nanisme, ou aspect anormal des feuilles. Le nombre d'échantillons est 30 échantillons de feuille,



Figure11 : Verger de vigne Rouiba (google earth , 2023)



Figure 12 :Verger de vigne (originale) .

Conservation

Les échantillons sont conservés dans des sacs en papier ,avec une étiquette mentionnant l'origine de l'échantillon, le cépage et la date de prélèvement. Au laboratoire ,les échantillons sont conservés à 4°C(réfrigérateur).

Détection de virus par test ELISA

Le test ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) est une méthode sérologique qui repose sur la réaction entre un antigène et un anticorps. Dans notre

cas, nous avons utilisé la variante DAS-ELISA. Dans cette méthode, l'anticorps spécifique est couplé à une enzyme appelée phosphatase alcaline. Lorsque le substrat PNPP (para-nitrophénylphosphate) est ajouté, l'enzyme déclenche une réaction d'hydrolyse qui génère une réaction colorée. Cette réaction permet de détecter la présence ou l'absence du virus ciblé. Pour notre étude, nous avons utilisé le sérum du Kit BIOREBA comme source d'anticorps.

Matériels utilisé

- Plaque Elisa.
- Broyeur de tissus végétaux broyeur à billes (Homex /Bioreba).
- Sachets de broyage.
- Micropipette.
- Incubateur.
- Bécher.
- Lecteur.
- Balance.
- Spectrophotomètre.

Liste des tampons nécessaires

- Tampon d'extraction (broyage).
- Tampon coating.
- Tampon conjugué.
- Tampon du substrat.
- Tampon de lavage.

III-2- Extraction du virus

Tous les échantillons prélevés du terrain sont pesés individuellement et uniquement à l'aide d'une balance, 1g de feuille pour chaque sachet qui contient les information de l'échantillon (numéro, lieu, variété et date) et on ajoute 15ml de tampon de broyage pour chaque sachet est broyé séparément à l'aide d'un Broyeur, eton les conserve dans un réfrigérateur à 4°C .

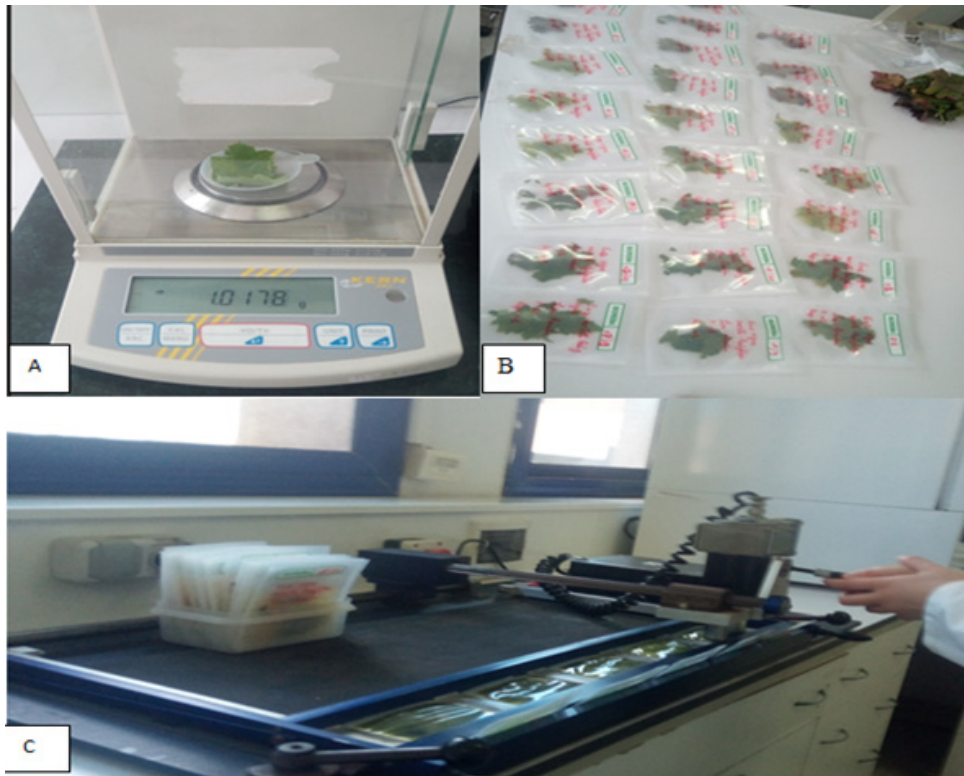


Figure 13 :Échantillonnage et broyage des échantillons(originaire).

A : pesé de 1g de feuille,**B :** conservation dans des sacs, **C :** Broyage des échantillons.

III-3- Test Elisa

Sensibilisation de la plaque

Dépôt de l'anti corps spécifique dilué dans le tampon coating et remplissage de la plaque avec les anticorps 200µl /puit

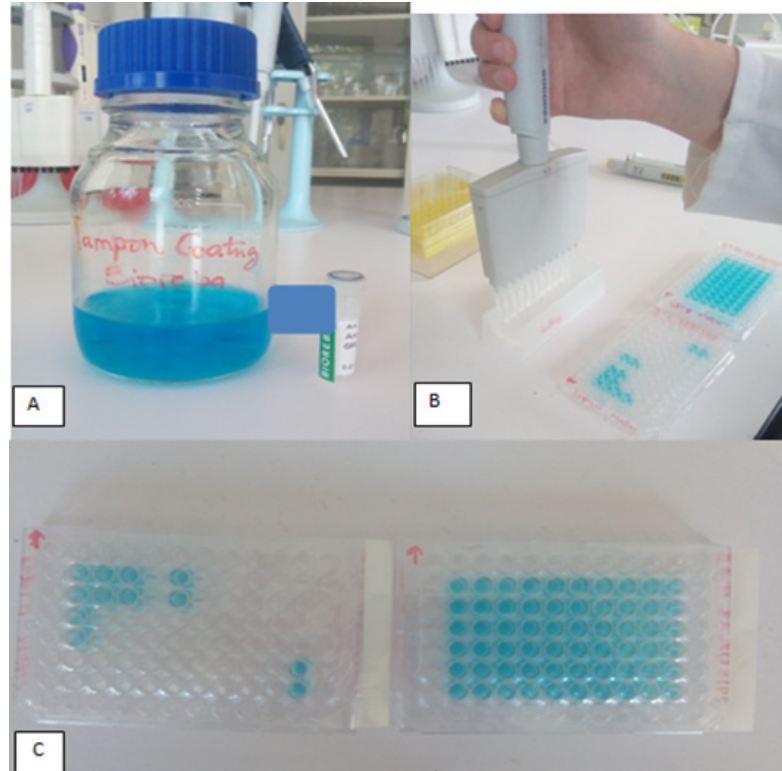


Figure 14 : Dépôt des anticorps sur la plaque ELISA (originale).

Incubation de la plaque

2 heures à 37°C ou une nuit à 4°C .



Figure 15 : Incubation de la plaque (Originale)

Lavage

2 fois 5 minutes avec le tampon de lavage.

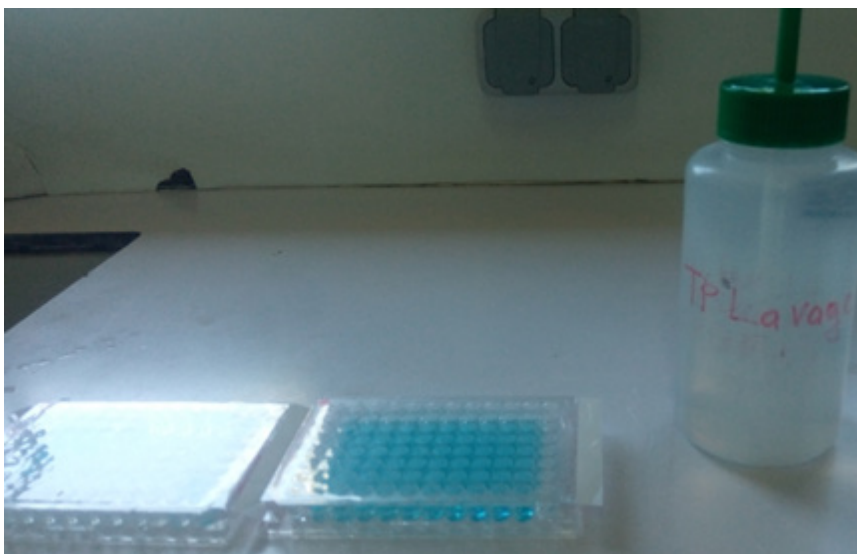


Figure 16: Lavage de la plaque Elisa (originale)

Dépôt de l'antigène

Dépôt de jus extrait des feuilles broyer, et on ajoute des témoins (2 T sain, 2 T malade, 2 T blanc) on dépose 200 μ L (Fig 17) pour chaque puits selon le plan de plaque (Fig 18)

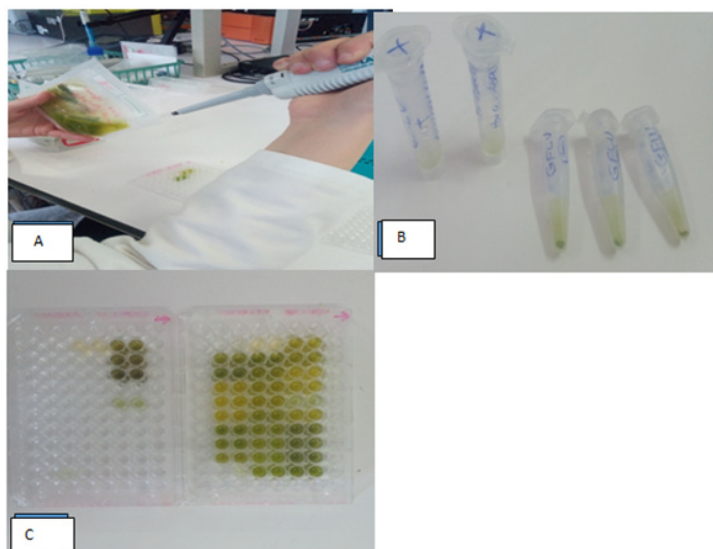


Figure 17 : Dépôt des antigènes sur la plaque (Originale)

A : extraction des antigènes, **B :** témoins négatif et positif, **C :** dépôt des Antigènes et des témoins.

PLAN DE PLAQUE DAS-ELISA

Schéma de plaque N°1 (échantillons 1 à 26)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU
B	SUBSTRAT	Ech 01	Ech 02	Ech 03	Ech 04	TS1	Ech 05	Ech 06	Ech 07	Ech 08	Ech 09	EAU
C	SUBSTRAT	Ech 01	Ech 02	Ech 03	Ech 04	TS1	Ech 05	Ech 06	Ech 07	Ech 08	Ech 09	EAU
D	SUBSTRAT	TB	Ech 10	Ech 11	Ech 12	Ech 13	Ech 14	Ech 15	Ech 16	Ech 17	Ech 18	EAU
E	SUBSTRAT	TB	Ech 10	Ech 11	Ech 12	Ech 13	Ech 14	Ech 15	Ech 16	Ech 17	Ech 18	EAU
F	SUBSTRAT	TS2	Ech 19	Ech 20	Ech 21	Ech 22	Ech 23	Ech 24	Ech 25	Ech 26	TM	EAU
G	SUBSTRAT	TS2	Ech 19	Ech 20	Ech 21	Ech 22	Ech 23	Ech 24	Ech 25	Ech 26	TM	EAU
H	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU

Schéma de plaque N°2 (échantillons 27 à 52)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU
B	SUBSTRAT	Ech 27	Ech 28	Ech 29	Ech 30	TS1	Ech 31	Ech 32	Ech 33	Ech 34	Ech 35	EAU
C	SUBSTRAT	Ech 27	Ech 28	Ech 29	Ech 30	TS1	Ech 31	Ech 32	Ech 33	Ech 34	Ech 35	EAU
D	SUBSTRAT	TB	Ech 36	Ech 37	Ech 38	Ech 39	Ech 40	Ech 41	Ech 42	Ech 43	Ech 44	EAU
E	SUBSTRAT	TB	Ech 36	Ech 37	Ech 38	Ech 39	Ech 40	Ech 41	Ech 42	Ech 43	Ech 44	EAU
F	SUBSTRAT	TS2	Ech 45	Ech 46	Ech 47	Ech 48	Ech 49	Ech 50	Ech 51	Ech 52	TM	EAU
G	SUBSTRAT	TS2	Ech 45	Ech 46	Ech 47	Ech 48	Ech 49	Ech 50	Ech 51	Ech 52	TM	EAU
H	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU

Schéma de plaque N°3 (échantillons 53 à 78)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU
B	SUBSTRAT	Ech 53	Ech 54	Ech 55	Ech 56	TS1	Ech 57	Ech 58	Ech 59	Ech 60	Ech 61	EAU
C	SUBSTRAT	Ech 53	Ech 54	Ech 55	Ech 56	TS1	Ech 57	Ech 58	Ech 59	Ech 60	Ech 61	EAU
D	SUBSTRAT	TB	Ech 62	Ech 63	Ech 64	Ech 65	Ech 66	Ech 67	Ech 68	Ech 69	Ech 70	EAU
E	SUBSTRAT	TB	Ech 62	Ech 63	Ech 64	Ech 65	Ech 66	Ech 67	Ech 68	Ech 69	Ech 70	EAU
F	SUBSTRAT	TS2									TM	EAU
G	SUBSTRAT	TS2									TM	EAU
H	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU	EAU

Figure 18 : Plan du plaque (originale) .

Incubation

2 heures à 37°C.

Lavage

3 fois 5 minutes avec le tampon de lavage .

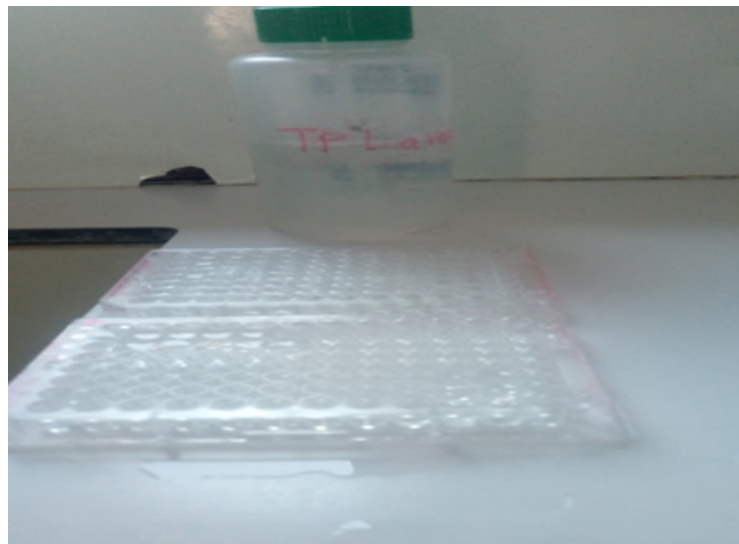


Figure 19: Lavage de la plaque (Originale) .

Dépôt de l'anticorps spécifique conjugué à l'enzyme phosphatase alcaline

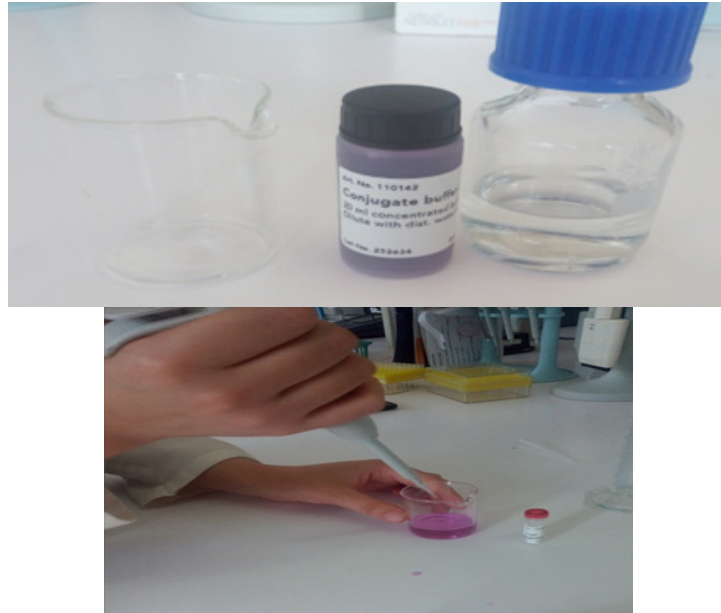


Figure20 : dépôt de l'anticorps spécifique conjugué (Originale)

Incubation

2 heures à 37°C.

Lavage

2 fois 5 minutes avec le tampon de lavage .

Dépôt du substrat

PNPP dilué (0,6,mg/1ml) dans du tampon diéthanolamine .



Figure 21:Ajout de PNPP dilué (originale)

Incubation

A température à 37 °c pendant 2heure

Lecture à Spectrophotomètre ,1^{ère} lecture au bout de 30 minutes d'incubation.

III-4- Nématodes

III-4- 1-Échantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé dans la wilaya d'Alger commune Rouiba domaine Ahmed MEDGHRI (Fig11). La prise des échantillons de sol est faite en suivant les diagonales de la parcelle sur les plants présentant des symptômes de jaunisse, nanisme, ou aspect anormal des feuilles. Le nombre d'échantillons est 9 échantillon de sol .

Étape 01: Observation sur terrain de symptômes donnant lieu à suspicion de présence de Nématode.



Figure 22: Verger de vigne (originale) .

Recueillement dans des sacs d'échantillons de terre (figure) , en différent endroit et étiquetage des échantillons comportant (Figure) :

- Un numéro.
- Le lieu.
- La date de prise.
- Identification de la variété du végétal en place .

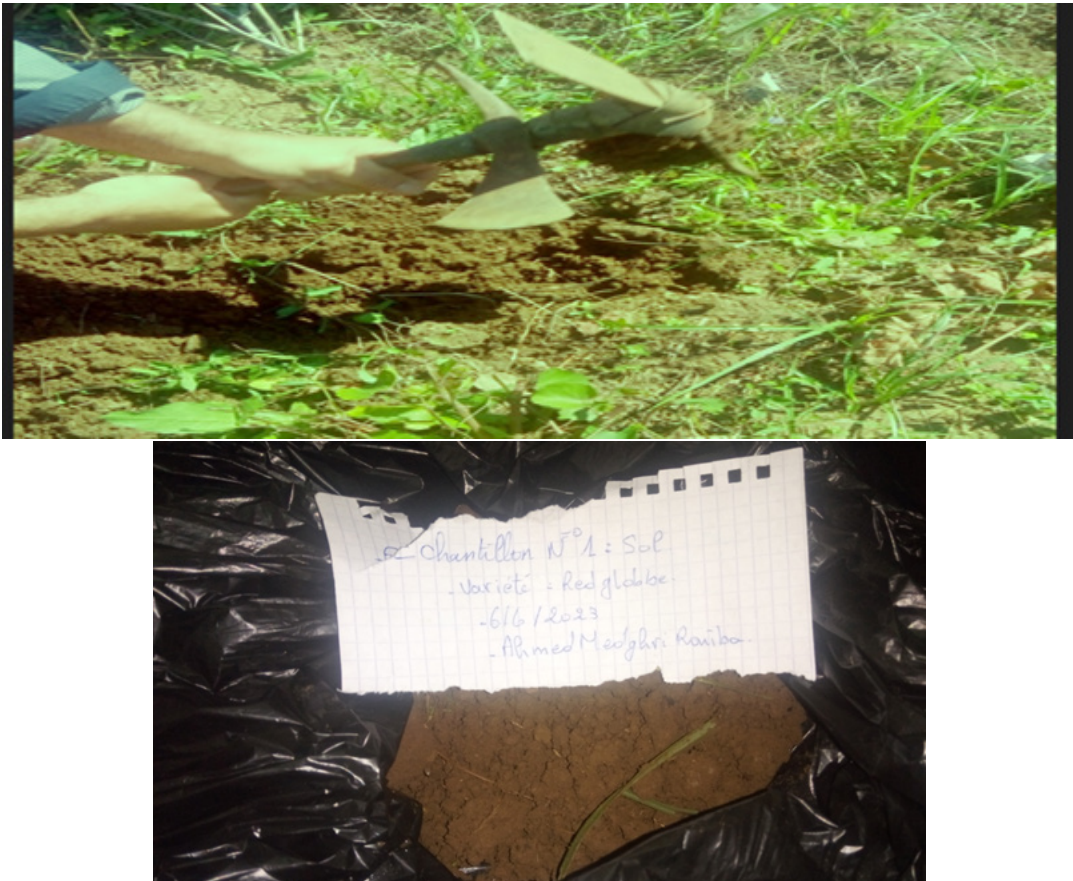


Figure23 : Échantillonnage de sol et étiquetage (originale).

Étape 02 :Labo (extraction)

Matériels utilisé :

- 02 seaux .
- 01 passoire .
- 01 tamis de 40 μm .
- 01 cuillère .
- 01 manche (pour l'agitation) .



Figure24 :Seaux 1 et 2 et passoire (originale).



Figure25 : Tamis de 40 μm (originale).

III-4- 2-Procédure :

Déposer l'échantillon dans le seau A, et versement d'une quantité d'eau, remuer a l'aide d'une manche de façon a obtenir une bouillie (fig 26) .

Saisir ce coulis et le verser dans le seau B sur lequel on place une passoire de façon a la débarrasser de tous les débris.

Faire passer cette solution dans un tamis de 40 μm de manière à laisser passer la majeure partie d'eau qu'elle renferme,

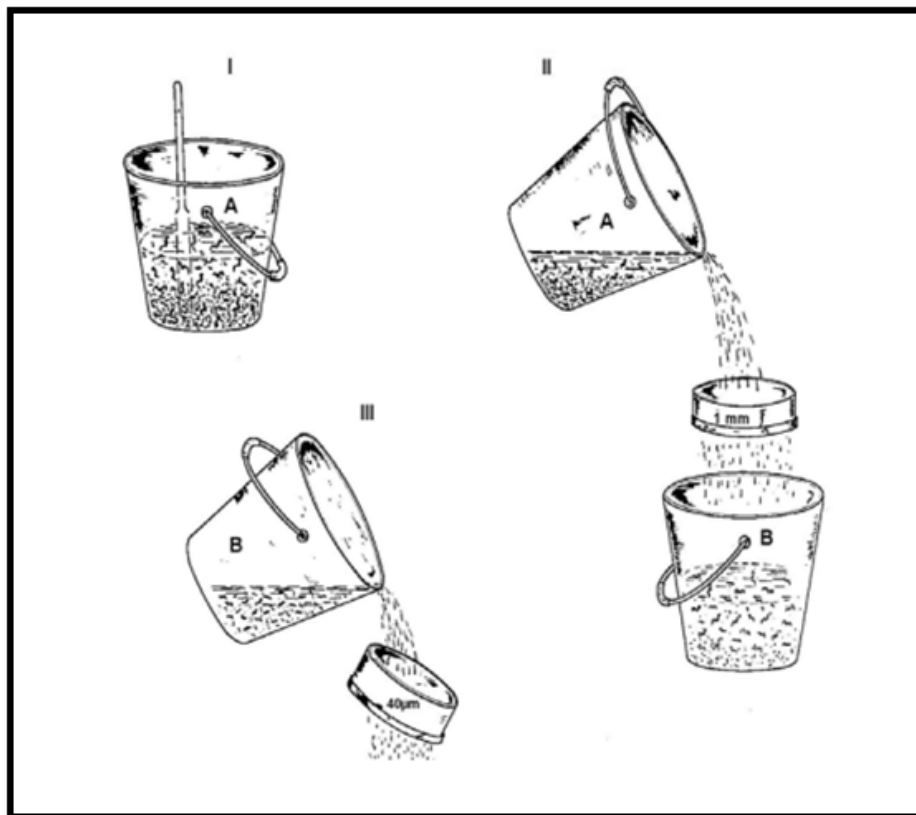


Figure 26 : Méthode d'extraction des nématodes (Méthode Cobb ,1918)

À l'aide d'une cuillère, saisir une quantité de cette boue qu'on place sur du papier absorbant lequel sera placé dans une boîte pétri contenant un support, on y verse une quantité d'eau et on laisse au repos 24H de façon permettre la chute d'éventuels nématodes dans l'eau.



Figure 27 : Boîtes pétris contenant la boue récupérée (Originale) .

III-4- 3-Observation :

On passe à l'observation sous une loupe binoculaire, dans le cas de présence des nématodes il sera procédé à leur repêchage à l'aide d'une épingle .



Figure 28 : Observation sous une loupe (Originale) .

Observation microscopique

Après avoir pêché le nématode on le met sur une lame qui contient une gouttelette d'eau pour l'observation microscopique qui permettra une identification de l'espèce de nématode présent.

CHAPITRE IV

III-4-4- Résultats**Nématodes**

Les espèces des nématodes trouvés dans les 9 échantillons

N° d'échantillon	<i>Longidorus spp</i>	<i>Xiphinemaamericanum</i>	<i>Xiphinema index</i>
01	+ 6 femelles	+9 femelles	+2 femelles
02	+8 femelles	+6 femelles	+1 femelles
03	+2 femelles		+1 femelles
04	+6 femelles		
05			
06			
07			
08	+1 femelles	+2 femelles	+2 femelles
09	+14 femelles	+1 femelles	

(+): présence.

(-): absence .



Figure 29 : *Xiphinema index* (originale) .



Figure 30 :Partie buccal de nématode *X . index*(originale) .



Figure 31 : *X . index* femelle , présence de la vulve (originale) .

III-4-5- Résultat de test sérologique**Symptômes observé sur terrain**

Figure 32 :Symptômes sur grappe (originale) .



Figure 33 : Symptômes sur sarment (panachure et jaunissement des feuilles)
(originale) .



Figure 34 :Rougissement sur les feuilles (originale) .

III-4-6- Résultat test Elisa

La lecture des résultats est effectuée à l'aide d'un lecteur de plaques ELISA en utilisant une spectrophotométrie à une longueur d'onde de 405 nm.. Les échantillons sont incubés pendant 30 minutes, suivies d'une incubation supplémentaire d'une heure à température ambiante. La moyenne de lecture pour chaque échantillon est comparée à un seuil de détection (SD) calculé pour chaque plaque.

Plaque 01

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.007	0.01	0.007	0.008	0.008	0.006	0.005	0.006	0.006	0.005	0.005	0.005
B	0.102	0.758	0.42	0.368	0.356	0.219	0.358	0.368	0.352	0.353	0.317	0.006
C	0.124	0.332	0.334	0.36	0.375	0.228	0.359	0.369	0.348	0.319	0.305	0.004
D	0.101	0.349	0.677	0.527	0.351	0.348	0.337	0.325	0.384	0.31	0.264	0.007
E	0.081	0.371	0.547	0.381	0.332	0.329	0.335	0.345	0.335	0.326	0.239	0.007
F	0.087	0.21	0.262	0.292	0.318	0.307	0.298	0.286	0.298	0.319	3.089	0.005
G	0.098	0.313	0.284	0.286	0.322	0.346	0.296	0.283	0.303	0.289	0.202	0.005
H	0.007	0.008	0.007	0.008	0.007	0.006	0.008	0.006	0.008	0.004	0.002	0.003

On calcule la moyenne des témoins négatifs

$$M^{\circ}T^- = 0,219 + 0,228 / 2 = 0,2235$$

$$S1 = 0,2235 * 2 = 0,447$$

$$S2 = 0,2235 * 3 = 0,6705$$

Si la moyenne de lecture pour chaque échantillon et moins S1 donc les résultats est négatifs

Si la moyenne de lecture pour chaque échantillon et plus S2 donc le résultat est positif (présence de virus)

Plaque 02

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.006	0.007	0.006	0.007	0.007	0.007	0.006	0.006	0.007	0.004	0.005	0.006
B	0.105	0.183	0.259	0.249	0.132	0.142	0.111	0.005	0.006	0.006	0.006	0.006
C	0.115	0.188	0.175	0.204	0.13	0.139	0.118	0.006	0.006	0.005	0.006	0.007
D	0.122	0.152	0.006	0.006	0.007	0.005	0.005	0.006	0.006	0.007	0.006	0.008
E	0.115	0.133	0.007	0.006	0.006	0.004	0.007	0.005	0.005	0.007	0.007	0.008
F	0.12	0.085	0.006	0.007	0.006	0.007	0.006	0.005	0.006	0.005	3.393	0.007
G	0.121	0.101	0.006	0.005	0.006	0.004	0.004	0.005	0.006	0.007	0.138	0.008
H	0.006	0.007	0.008	0.009	0.007	0.006	0.007	0.007	0.007	0.007	0.006	0.007

On calcule la moyenne des témoins négatifs

$$M^{\circ}T^- = 0,142 + 0,139 / 2 = 0,1405$$

$$S1 = 0,1405 * 2 = 0,281$$

$$S2 = 0,1405 * 3 = 0,4215$$

Si la moyenne de lecture pour chaque échantillon et moins S1 donc les résultats est négatifs

Si la moyenne de lecture pour chaque échantillon et plus S2 donc le résultat est positif.

Dans notre cas tous les échantillons sont négatifs car la DO des échantillons sont tous moins SD1 (seuil de détection 1).

III-4-7- Discussion

Discussion du test DAS-ELISA

Dans l'étude de TABOUCHE en 2004, sur les 870 échantillons de feuilles et de rameaux de vigne prélevés dans différents sites tels que Chiffa, Blida, Mouzaia, El Affroune, Bourroumi, Hamr el ain, Hoceinia, seuls 395 échantillons ont été testés positifs par la technique DAS-ELISA, ce qui correspond à un taux de 45,40%. Pour la campagne 2005, sur les 216 échantillons prélevés, seuls 79 échantillons de Tessel el Mardja ont été testés positifs, tandis que 40 échantillons ont répondu négativement, ce qui donne un taux d'infection de 52,66%. La parcelle 2 et la parcelle 1 présentaient une plus grande infection que la parcelle 3. Pour les 36 échantillons prélevés dans la parcelle de Bourkika, aucun échantillon n'a donné de réponse positive. L'absence du virus dans cette parcelle peut être attribuée à un bon entretien du vignoble, mais il peut être nécessaire de passer à un autre test, tel que le TAS-ELISA. Dans l'étude de KHENCHLAOUI en 2014, sur les 180 échantillons prélevés dans différentes régions (Alger, Boumerdes, Médéa) avec différentes variétés, types de sol et climats, seuls 62 échantillons ont été testés positifs, ce qui correspond à un taux d'infection de 68,88%. La région de Ben Chicao était la plus sensible. Les résultats obtenus par DAS-ELISA confirment les études précédentes menées dans les régions de Médéa, Benchicao, Alger et Boumerdes, et pour les mêmes variétés de raisin. Les résultats de DAS-ELISA ont également confirmé que les symptômes observés sur les vignes des différentes stations et variétés, tels que le panachage ordinaire, le jaunissement, les déformations des feuilles, le raccourcissement des entre-nœuds, les double-nœuds, les bifurcations et l'aplatissement, sont produits par le GFLV et sont comparables à ceux décrits dans les études de MARTELLI (1992) et DIGIARO (1997).

Dans notre étude menée en juin 2023 au niveau de la commune de Rouiba, dans la wilaya d'Alger, nous avons constaté l'absence de certains symptômes signalés par d'autres auteurs tels que MELOUK, TABOUCHE et MORESELI, tels que le raccourcissement des entre-nœuds, les double-nœuds, la bifurcation et l'aplatissement. Dans notre étude, les symptômes observés étaient le jaunissement des feuilles, le rougissement des feuilles et une diminution de la qualité du rendement, notamment des baies. Malgré la présence des nématodes vecteurs du virus GFLV, les résultats du test ELISA ont été négatifs pour les 30 échantillons. Cela peut être dû à l'influence du climat sur la réplication du virus.

Discussion de l'analyse nématologique

Selon l'analyse nématologique réalisée par MELOUK en 2002 lors de la campagne 2001-2002, la présence des vecteurs du GFLV, *Xiphinema index* et *Xiphinema italiae*, confirme les observations des symptômes sur les vignes dans les différents sites prospectés tels que Chiffa, Médéa et Blida. Les tests biologiques ont également corroboré ces observations.

L'étude de KHENCHLAOUI en 2014 a révélé la présence des deux espèces vectrices du court-noué. L'âge avancé et le mauvais entretien des vignobles expliquent probablement le grand nombre et la dispersion des ceps malades. Dans la région de Chiffa, la présence de *Xiphinema americanum* et *Xiphinema mediterraneum* est plus fréquente que celle de *Xiphinema index* et *Xiphinema italiae*. En revanche, dans la région de Médéa, MELOUK a observé une présence moyennement fréquente de *Xiphinema index* et l'absence de *Xiphinema italiae*. Dans la région de Blida, MELOUK a noté la présence du genre *Xiphinema spp.*, qui ressemble à l'espèce *Xiphinema index*, ainsi qu'une fréquence élevée de *Xiphinema americanum* et *Xiphinema mediterraneum*.

Dans notre étude, nous avons observé la présence de deux espèces vectrices du Grapevine fanleaf virus (GFLV), à savoir *Xiphinema americanum* et *Xiphinema index*, ainsi que la présence de l'espèce *Longidorus spp.* Ces observations indiquent la diversité des vecteurs potentiels impliqués dans la transmission du GFLV. Comprendre la présence et la distribution de ces espèces de nématodes dans les vignobles est essentiel pour évaluer le risque de propagation du virus et mettre en place des mesures de gestion appropriées pour limiter sa transmission.

CONCLUSION

Conclusion

Au terme de cette recherche bibliographique, il est clair que notre travail est une synthèse des différentes études menées par de nombreux chercheurs sur le sujet des maladies virales de la vigne en général, et plus particulièrement sur la maladie du Grapevine fanleaf virus (GFLV) et ses vecteurs.

Cette dernière a été prise en bonne considération comme étant le sujet de recherche de différents auteurs. En Algérie, les travaux sur ce sujet sont limités à des études de vérification de l'existence de la maladie du GFLV dans les vignobles Algériens.

Nos résultats obtenus par les prospections des différents vignobles, le test sérologique ELISA, et l'analyse nématologique des échantillons apportent certains faits qu'il faut considérer, elles nous ont permis de mettre en évidence et de confirmer, non seulement la présence du GFLV en l'Algérie, mais aussi d'identifier ses vecteurs.

Entre autre, il est très important de compléter ces méthodes par :

- L'indexage par d'autres plantes herbacées indicatrices et par greffage en vert.
- Et surtout, la nécessité d'effectuer des contrôles immuno-PCR pour confirmer d'une manière certaine leur absence dans nos vignobles.

Donc, ceci va constituer un encouragement et une incitation pour accentuer les recherches dans ce domaine non seulement pour les maladies virales mais aussi pour les autres agents phytopathogènes afin d'arriver à sélectionner dans des conditions locales du matériel végétal de vigne indemne de maladies (sains).

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Références Bibliographique

- 1-Agroligne. 2014. Evolution des superficies, des productions et des rendements de L'arboriculture fruitière, Agroligne. N° 87, 52p.
- 2-Amedjkouh, H. (2004, 07 04). Essais D'assainissement De Trois Varietes Autochtones De Vigne De Table (*Vitis Vinifera* L.)Atteintes De Viroses, Par Culture In Vitro De Meristemes. Des Sciences Et De La Technologie, Algeria.
- 3-Arezki, L. (2016, 01 04). Etiologie et épidémiologie de la maladie foliaire de la vigne en Algérie. El-Harrach, Ecole Nationale supérieure Agronomique, Algeria/Alger.
- 4-Agrios G., 2005. Plant pathology: 5 th ed. Elsvier, California, USA.
- 5- Boso S.; Alonso-Villaverde V.; Gago P.; Santiago J.L. and Martínez M.C., 2014. Susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*) of different *Vitis* varieties. Crop Protection, Vol. 63, pp.: 26-35
- 6-Buckel I.; Molitor D.; Liermann J.C.; Sandjo L.P.; Berkelmann-Löhnertz B.; Opatz T. and Thines E., 2013. Phytotoxic dioxolanone-type secondary metabolites from *Guignardia bidwellii*. Phytochemistry 89. Pp.:96–103
- 7-Buzkan N.; Kocsis L. and Walker M.A., 2005. Detection of *Xylella fastidiosa* from resistant and susceptible grapevine by tissue sectioning and membrane entrapment immunofluorescence. Microbiological Research, Vol.160, N°.3, pp.: 225- 231.
- 8-BRICHE, 2011 :Changement climatique dans le vignoble de Champagne : Modélisation thermique à plusieurs échelles spatio-temporelles (1950-2100). Université Paris Diderot -Paris 7 École doctorale : E.E.S.C."Économie, Espaces, Sociétés, Civilisations. 263p.
- 9-Buchholz U.; Schmidt S. and Schruft G.,1994. The use of an immunological technique in order to evaluate the predation on *Eupoecilia ambiguella* (hbn.) (Lepidoptera: Cochyliidae) in vineyards. Biochemical Systematics and Ecology, Vol.22, N°.7, pp.: 671-677.
- 10-Bovey R., (1973). Les maladies virales de la vigne : court noué. Lausanne: Ed. Payot,
- 11-Buckel I.; Molitor D.; Liermann J.C.; Sandjo L.P.; Berkelmann-Löhnertz B.; Opatz T. and Thines E., 2013. Phytotoxic dioxolanone-type secondary metabolites from *Guignardia bidwellii*. Phytochemistry 89. Pp.:96–103 20Pp.
- 12-Carmona MJ, Chaïb J, Martínez-Zapater JM & Thomas MR (2008). A

molecular genetic perspective of reproductive development in grapevine. *Journal of Experimental Botany* 59, 2579–2596.

13-Carbonneau A (1992). Contrôle de la vigueur de la production par la taille en sec et la taille en vert. CR IV Sympo Inter Physio Vigne, 69–74.

14-Coombe B & Iland P (2004). Grape berry development and winegrape quality. Winetitles Pty Ltd.

15-Cleland E., Chuine I., Menzel A., Mooney H., Schwartz M. 2007. Shifting plant phenology in response to global change. *Trends in Ecology and Evolution*, 22, pp357-365.

16-Creasy, G. (2009). Grapes. New York: CAB International .

17-Demangeat G., 2007. Nepovirus: transmission by longidorid nematodes. *Virologie*. Vol.11, N°4. Pp.: 309-330.

18-Demangeat G.; Komar V. ; Cornuet P. ; Esmenjaud D. ; Fuchs M., 2004. Sensitive and reliable detection of grapevine fanleaf virus in a single Xiphinema index nematode vector. *Journal of Virological Methods*, Vol. 122, N°. 1, pp.: 79-86.

19-Délye C. and Corio-Costet M.-F., 1998. Origin of primary infections of grape by *Uncinula necator* : RAPD analysis discriminates two biotypes. *Mycol. Res.* vol.102, no 3. Pp.:283-288.

20-Buckel I.; Molitor D.; Liermann J.C.; Sandjo L.P.; Berkelmann-Löhnertz B.; Opatz T. and Thines E., 2013. Phytotoxic dioxolanone-type secondary metabolites from *Guignardia bidwellii*. *Phytochemistry* 89. Pp.:96–103

21-Debieu D.; Corio-Costet M.F.; Steva H.; Malosse C. and Leroux P, 1995. Sterol composition of the vine powdery mildew fungus, *Uncinula necator*: comparison of triadimenol-sensitive and resistant strains. *Phytochemistry*, Vol. 39, No. 2. Pp.: 293-300.

21- FAO. 2021. Fruits et légumes éléments essentiels de ton alimentation.

22-Galet, P. (2000). Dictionnaire Encyclopédique des Cépages. .Paris: Hachette.

23- Galet P. 1988. Précis d'ampélographie pratique 6eme édition.

24-Gao M.; Wang Q.Wan R.; Fei Z. and Wang X, 2012. Identification of genes differentially expressed in grapevine associated with resistance to *Elsinoe ampelina* through suppressive subtraction hybridization. *Plant Physiology and Biochemistry* 58.

Pp.:253-268.

25-Gambino G., Angelini E. and Gribaudo I., 2010. Field Assessment and Diagnostic Methods for Detection of Grapevine Viruses. In: S. Delrot et al. (eds.), Methodologies and Results in Grapevine Research. Springer Science+Business Media B.V. Pp.: 211-228.

26- Huglin P. 1986. Biologie et écologie de la vigne. Ed Payot, Lausanne, 372p.

27-Huglin P., Schneider C. 1998. Biologie et écologie de la vigne, 2eme édition. Ed Lavoisier/Tec et Doc N° 260, Paris, 370p.

28- INRAA. 2006. Rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques et l'agriculture, 18p

29- Levadoux L., Boubals D., Rives M. 1962. Le genre *Vitis* et ses espèces. Annales de l'Amélioration des Plantes. 12(1), pp19-44.

30-Lehad Arezki. (2012). Etude du complexe viral associé à l'enroulement foliaire de la vigne en Algérie. El-Harrach, Ecole Nationale supérieure Agronomique, Algeria/Alger.

31- Louviaux J. 2004. Mesure de l'efficacité d'extraits d'algues sur la vigne (*Vitis vinifera* L.) en conditions contrôlées et au vignoble, Université Bruxelles, 221p.

32-Morlat R., Puissant A., Asselin C., Leon H., Remoue M. 2010. Quelques Aspects de l'influence édaphique sur l'enracinement de la vigne, conséquence sur la qualité du vin. Association Française pour l'étude du sol, pp125-146.

33-Mohamed Tahirine. (2015, 07 01). Identification des virus impliqués dans la maladie court noué de la vigne par des critères sérologiques et biochimiques. El-Harrach, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Algeria/Alger.

34-Maggenti.1991, A. R.,” Nematoda , p 147187, in higher classification (W.R.ickle, Ed.)”. Mann. Agri. Nematology, Marcel Dekker , New York,501p.

35-Martelli G.P. and Gallitelli D., 2008. Emerging and Reemerging Virus Diseases of Plants. In: Mahy B. W. J. and Van Regenmortel M.H.V. (Eds.), General encyclopedia of fungal and plant virology, 2010, pp.: 412- 418

36- Puig C. 2011. La vigne roussillonaise au Moyen-Age. Cahiers de l'INRAP.

37-Powell K.S; Cooper P. D. and Forneck A., 2013. Chapter Four - The Biology, Physiology and Host Plant Interactions of Grape Phylloxera *Daktulosphaera vitifoliae*.Advances inInsect Physiology,Vol.45,pp.: 159-218.

- 38-Reynier A., 1991 . Manuel de viticulteur. 4ème édition J.L.Bailliere, Paris. (REYNIER A, 2016): manuel de viticulture. 12 Ed. Lavoisier. GAVE & TERROIR. Paris.
- 39-Ribereau-Gayon J., Peynaud E. (1971). Traité d'ampélographie : sciences et technique de la vigne. Tome 1 : biologie de la vigne, sols de vignobles. Paris, France:Ed.Dunod.
- 40-Sahli Z. 2009. Produits de terroir et développement local en Algérie : cas des zones rurales de montagne et piémonts,(89), pp305-338.
- 41-Serghini M. A. ; Fuchs M. ; Pinck M. ; Reinbolt J. ; Walter B. and Pinck L., 1990. RNA2 of grapevine fanleaf virus: sequence analysis and coat protein cistron location. Journal of General Virology, vol.71. Pp. : 1433-1441.
- 42-ToledoP.J.,2007.Les parasites de la vigne :Stratégies de protection raisonnée .Dunod , Paris, France. 421 p.
- 43-Walter, B., 2000. Sanitary selection of the grapevine. Ed. INRA, France, 225Pp.
- 44-Tolba I.H.; Zaki M.F., 2011. Characterization of Agrobacterium vitis isolates obtained from galled grapevine plants in Egypt. Annals of Agricultural Sciences, Vol.56, N°.2, pp.: 113-119
- 45-Zah-Bi IC. 2014. Génomique comparative entre Musca diniarotun difolia et Vitis vinifera pour faciliter l'identification de gènes de résistance. Ph-D, Evry-Val d'Essone,272.
- 46-Zheng C.; Choquer M.; Zhang B.; Ge H., Hu S.; Ma H. and Chen S., 2011. LongSAGE gene-expression profiling of Botrytis cinerea germination suppressed by resveratrol, the major grapevine phytoalexin. Fungal biology 115. Pp.:815-832.