

Interaction plante-virus-vecteur

Cas du court-noué de la vigne en Tunisie

Besma M'rabet Samaali
Amira Hamdane Mougou
Sadreddine Kallel

Institut national agronomique de Tunisie
43, avenue Charles-Nicole
1082 Tunis-Mahrajène
Tunisie
<besma.mrabetsamaali@gmail.com>
<amirahamdane@gmail.com>
<kallel@mailcity.com>

Résumé

Cet article est une synthèse bibliographique portant sur la maladie du court-noué illustrée par des travaux conduits en Tunisie. Cette étude se justifie par le caractère destructif de cette maladie et l'interaction entre les souches virales et les différentes espèces de nématodes vecteurs de cette maladie. Deux népovirus sont associés à cette maladie, le *grapevine fan leaf virus* (GFLV) et l'*arabis mosaic virus* (ArMV). Les nématodes *Xiphinema index* et *Xiphinema italiae* sont les vecteurs du GFLV. Ils ont une reproduction parthénogénétique. *Xiphinema diversicaudatum*, avec une reproduction majoritairement sexuée, est considéré comme l'unique vecteur de l'ArMV. Les déterminants de la spécificité de transmission de ces népovirus par leurs vecteurs naturels sont localisés sur la protéine de la capsid du virus. L'étude de l'incidence du court-noué au nord de la Tunisie montre que la région du Grombalia présente les taux d'infection par le GFLV et l'ArMV les plus élevés (71 % pour les deux virus), suivie par la région du Rafrat (45 et 38 %). La région de Takelsa quoique proche de Grombalia pour ses caractéristiques écologiques, présente un taux d'infestation similaire à celui de la région de Rafrat. Cette même tendance a été observée en analysant la corrélation entre la symptomatologie et la diversité génétique des souches de GFLV. L'étude de l'interaction virus-nématode montre que dans la quasi-totalité des échantillons de *Xiphinema* analysés en Tunisie, seul le GFLV est isolé. Cela s'explique par l'absence du vecteur spécifique de l'ArMV sur le territoire.

Mots clés : vigne ; GFLV ; ArMV ; *Xiphinema* spp. ; interaction.

Thèmes : productions végétales ; pathologie.

Abstract

Plant-virus-vector interaction: grapevine fanleaf virus in Tunisia

This review of the literature on fanleaf disease, illustrated by fieldwork in Tunisia, is important in view of the destructive nature of the disease and the interaction between the virus strains and the different species of nematodes that are its vector. Two nepoviruses are associated with the disease: *Grapevine Fan Leaf Virus* (GFLV) and *Arabis mosaic virus* (ArMV). *Xiphinema index* and *Xiphinema italiae*, which reproduce parthenogenetically, are vectors of GFLV, whereas *Xiphinema diversicaudatum*, with predominantly sexual reproduction, is the vector of ArMV. The determinants of transmission specificity of these nepoviruses by their natural vectors are located on the virus capsid protein.

The study of the incidence of fanleaf disease in northern Tunisia shows that Grombalia has the highest infection rate (71% for both GFLV and ArMV) followed by Rafrat (45% for GFLV and 38% ArMV). Despite its geographical and environmental similarity to Grombalia, Takelsa had infection rates statistically closer to those of Rafrat. This same trend was observed in the correlation between disease symptomatology and the genetic diversity of isolated GFLV strains. The study of virus-nematode interaction showed GFLV in 93% of the *Xiphinema* samples analyzed. No ArMV was found, largely due to the absence of the specific vector in Tunisia.

Tirés à part : S. Kallel

doi: 10.1684/agr.2015.0768

Pour citer cet article : Samaali BM, Mougou AH, Kallel S, 2015. Interaction plante-virus-vecteur. Cas du court-noué de la vigne en Tunisie. *Cah Agric* 24 : 292-300. doi : 10.1684/agr.2015.0768

Key words: grapevine; GFLV; ArMV; *Xiphinema* spp.; interaction.

Subjects: vegetal productions; pathology.

La maladie du court-noué fut décrite pour la première fois en Europe par Casalis-Allut en 1865, puis par Rathay en 1883, qui avait déjà remarqué l'origine tellurique de la transmission de la maladie (Schellenberger, 2010). Aux États-Unis, la première apparition de la maladie du court-noué est rapportée en 1950 dans un vignoble de Californie (Hewitt, 1950). Cette maladie est maintenant répandue dans la quasi-totalité des vignobles du monde et est l'une des maladies à virus les plus dommageables pour la viticulture (Martelli et Taylor, 1990 ; Andret-Link *et al.*, 2004). En France, 60 % des parcelles de vignes sont touchées par cette maladie dont le tiers est fortement infecté (Demangeat *et al.*, 2005a). En Tunisie, cette maladie est également largement répandue dans tout le pays. C'est l'une des principales causes de pertes pour l'industrie de la vigne tunisienne (Boulila *et al.*, 1991).

Étiologie et importance de la maladie

Seize espèces virales, dont quinze *Nepovirus* et un *Sadwavirus* induisent la maladie du court-noué chez la vigne (Martelli et Boudon-Padieu, 2006) et le *grapevine fanleaf virus* (GFLV) est le principal agent responsable de cette dégénérescence infectieuse.

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

Le GFLV fait partie de la famille des *Comoviridae* et du genre *Nepovirus*. Les népovirus sont des virus non enveloppés icosaédriques d'un diamètre variant de 28 à 30 nm (Galet,

1977 ; Bovey et Martelli, 1992 ; Mayo et Robinson, 1996). Le terme *Nepovirus* désigne les virus icosaédriques transmis par nématode, népovirus provenant de l'abréviation de « *nematode-transmitted virus with polyhedral particles* » (Cadman, 1963).

Tout comme le GFLV, l'*Arabis mosaic virus* (ArMV) est un népovirus responsable de la maladie du court-noué et induit chez la vigne une symptomatologie similaire à celle du GFLV (Dias et Harrison, 1963). L'ArMV est répandu sur tout le territoire européen mais également au Moyen-Orient, en Asie, en Inde, au Canada et dans les pays de l'ex-Union soviétique (Taylor *et al.*, 1997 ; Brown *et al.*, 2001 ; Adekunle *et al.*, 2006).

Une étude sérologique Elisa réalisée en 2006 sur 100 échantillons de vigne prélevés dans la région viticole de Rafrat, située au nord de la Tunisie, a montré que 70 % des vignobles prospectés (*figure 1*) sont virosés et que

82 % des infections sont dues au GFLV (Mougou *et al.*, 2006).

Plus tard, en 2012, une étude réalisée par Mrabet, portant sur 178 échantillons asymptomatiques de bois d'un an à l'aide de la technique sérologique DAS-Elisa, montre que les deux népovirus responsables de la maladie du court-noué de la vigne, le GFLV et l'ArMV, sont présents dans les vignobles situés au nord de la Tunisie (*figure 1*) avec des taux respectifs de 36 et 31 %. La région du Cap Bon, située dans le gouvernorat de Nabeul, présente les taux d'infection par le GFLV et l'ArMV les plus élevés (57 et 54 %), suivie par la région de Rafrat (45 et 38 %) située dans le gouvernorat de Bizerte. Toutefois, ces népovirus sont totalement absents des sites prospectés du gouvernorat de Ben Arous, dans la partie Nord-Est du pays. L'étude plus approfondie de l'interaction GFLV/ArMV a montré que la maladie du court-noué est due

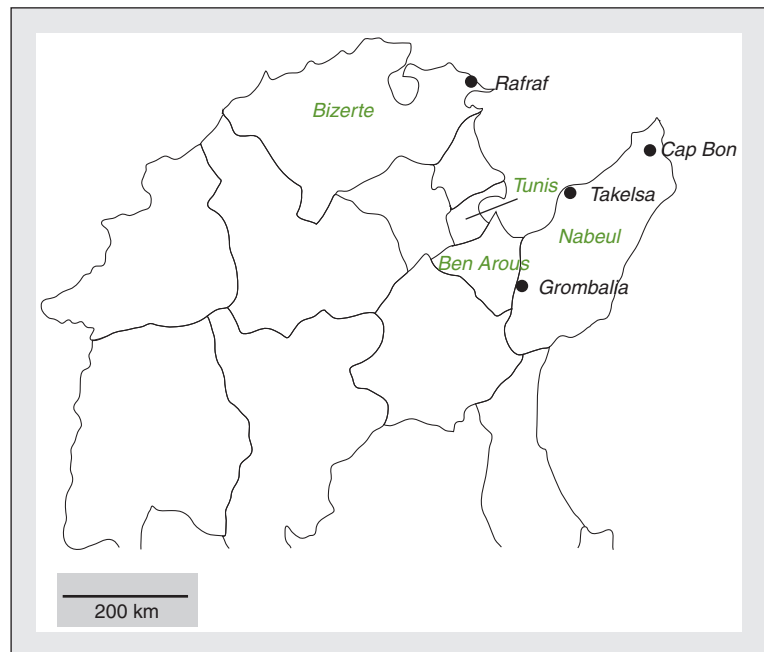


Figure 1. Carte de la région viticole de la Tunisie.

Figure 1. Map of the wine-growing region of Tunisia.

essentiellement à une infection mixte par ces deux virus dans 70 % des cas à Grombalia, 36 % des cas à Takelsa (Cap Bon tunisien, au Nord-Est du pays) et 53 % des cas à Rafrat (gouvernorat de Bizerte). Le taux des infections simples par le GFLV ou par l'ArMV est très faible, ne dépassant pas les 6 % dans l'ensemble des zones prospectées (Mrabet, 2012). Cette même étude a démontré que le court-noué existe en infection mixte, en plus de GFLV et ArMV, avec le GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GVA, GVB et GfKv, les autres maladies virales associées à la vigne (*tableau 1*).

Structure génétique du GFLV

Le GFLV est l'un des népovirus pour lesquels les connaissances sur la structure et l'expression du génome sont les plus avancées. En effet, le génome du GFLV est constitué de deux molécules d'ARN simple brin de polarité positive, qui sont nécessaires pour déclencher une infection systémique (Viry *et al.*, 1993). Certains isolats, comme la souche F13, présentent un ARN3 satellite, qui est encapsidé dans les mêmes particules virales que les ARN génomiques (Pink *et al.*, 1988 ; Fuchs *et al.*, 1989).

Chaque ARN est traduit en une polyprotéine maturée. La polyprotéine P1 (253 kDa), codée par l'ARN1, qui contient 7 342 nucléotides (Ritzenthaler *et al.*, 1991), est clivée en cinq protéines impliquées dans la maturation et la réplication. La polyprotéine P2 (122 kDa), codée par l'ARN2, qui contient 3 774 nucléotides (Serghini *et al.*, 1990), est clivée en trois protéines : la protéine 2A^{PH} (28 kDa) ayant pour fonction présumée de guider l'ARN2 vers les complexes

de réplication cellulaires, la 2B^{PM} (38 kDa) qui correspond à la protéine de mouvement et la 2C^{PC} (56 kDa) ou protéine de capsid. Le satellite code pour une protéine de 37 kDa essentielle à la réplication de l'ARN3 (Hans *et al.*, 1992).

La protéine de la capsid du GFLV est une protéine de 504 acides aminés. C'est la seule protéine structurale du génome. Elle est capable de s'auto-assembler pour former des virions sans la présence d'ARN (Quacquarelli *et al.*, 1976).

Variabilité sérologique du GFLV

Huss *et al.* (1987) ont montré une variabilité dans la détection de GFLV dans cinq régions différentes du monde en utilisant des anticorps monoclonaux. Cette variabilité n'a pas été identifiée en utilisant les anticorps polyclonaux (Huss *et al.*, 1987). Grâce à la technique de double diffusion sur gel, Savino *et al.* (1985) ont mis en évidence une variabilité sérologique au sein d'isolats tunisiens de GFLV.

Variabilité génétique du GFLV

En 1970, Vuittenez a suggéré que le virus de GFLV est originaire de l'ancienne Perse (Iran). Cela a été vérifié plus tard par Bashir *et al.* (2007). Ces derniers ont pu identifier deux souches iraniennes avec une variabilité de séquence de l'ordre de 83 % pour les nucléotides et 92 % pour les acides aminés. En partant de cette idée, Bashir *et al.* (2007) ont suggéré que le virus s'est propagé vers l'ouest et

qu'il a subi plusieurs mutations sous l'influence des nouvelles conditions climatiques. La même étude a montré que les souches isolées d'Iran tendent à se regrouper avec les souches identifiées précédemment dans le monde et que la majorité des substitutions ou des délétions des nucléotides sont considérées comme des mutations silencieuses (*tableau 2*).

En Tunisie, Fattouch *et al.* (2005) ont rapporté pour la première fois la présence de deux souches virales de GFLV : Sp1 et Sp2, avec la prédominance de la dernière. Les séquences nucléotidiques de ces deux souches ont été déposées dans le GENBANK, sous les numéros d'accèsion AY525605 et AY525606 respectivement. Les séquences obtenues présentent un taux de variabilité qui dépasse les 11 %. Ces deux souches de GFLV ont été associées avec différents symptômes foliaires sur vigne (Fattouch *et al.*, 2005) et avec une sévérité plus ou moins importante selon l'isolat transmis à l'indicateur herbacé (Huss *et al.*, 1989 ; Fattouch *et al.*, 2005). Plus tard, Mrabet (2012), en analysant les séquences de la protéine de la capsid de cinq isolats tunisiens de GFLV, a trouvé une très grande homologie avec les séquences des isolats étrangers, principalement français. La comparaison des souches tunisiennes entre elles montre que la plus grande diversité génétique (15,9 %) a été observée entre les séquences de l'isolat de Grombalia et celui de Rafrat. En revanche, la plus faible divergence génétique (8 %) a été observée entre l'isolat de Takelsa et celui de Rafrat. En comparant la séquence nucléotidique de l'isolat de Takelsa à celui de Grombalia, une variation de 11,5 % apparaît.

Tableau 1. Pourcentage de co-infection du court-noué avec les autres viroses de la vigne dans des vignobles situés au nord de la Tunisie d'après Mrabet (2012).

Table 1. Percentage of coinfection of *grapevine fan leaf virus* with other viruses in vineyards in northern Tunisia.

Virus du court-noué	Détection simultanée de deux virus sur un même cep (%)					
	Autres virus de la vigne					
	GVA	GVB	GfKv	GLRaV1	GLRaV2	GLRaV3
GFLV	70,31	17,18	45,31	48,43	9,37	98,43
GFLV + ArMV	64	15,62	35,93	45,31	6,25	85,93

GFLV : *grapevine fan leaf virus* ; ArMV : *arabis mosaic virus*.

Tableau 2. Pourcentage de variabilité pour les nucléotides (Nt) entre différents isolats de *grapevine fanleaf virus* (GFLV) dans le monde.

Table 2. Percentage of nucleotide (Nt) variability between *grapevine fanleaf virus* (GFLV) isolates worldwide.

Régions génomiques	Origine de l'isolat	Longueur de la séquence (pb)	Variabilité nucléotidique (%)	Références
2C ^{PC}	Californie (États-Unis)	1 557	13	Naraghi-Arani <i>et al.</i> , 2001
2C ^{PC}	France	605	13,8 à 5	Vigne <i>et al.</i> , 2004
2C ^{PC}	Tunisie	606	11	Fattouch <i>et al.</i> , 2005
2C ^{PC}	Iran	1 628	17 à 6	Bashir <i>et al.</i> , 2007

Cette variation est intermédiaire entre le couple Grombalia-Rafraf et Rafraf-Takelsa.

GFLV/ArMV, quel lien existe-t-il entre les deux virus ?

L'ArMV est sérologiquement lié au GFLV et induit chez la vigne une symptomatologie similaire à celle du GFLV (Dias et Harrison, 1963). Loudes *et al.* (1995) montrent que l'ArMV

présente une organisation génétique identique à celle du GFLV avec une homologie de séquences de l'ordre de 95 %. Cette homologie est observée dans la séquence des acides aminés du gène qui code pour la protéine de la capsid de ces deux népovirus (Wetzel *et al.*, 2001). L'analyse des séquences nucléotidiques de l'ARN2 du GFLV et de l'ArMV des souches isolées du sud-ouest de l'Allemagne a montré une homologie de l'ordre de 72 % au niveau nucléotidique (Wetzel *et al.*, 2001). Plus tard, la comparaison de l'ARN2 de la souche allemande de l'ArMV, avec la souche française F13 du

Tableau 3. Pourcentage d'homologie entre les séquences nucléotidiques de deux isolats tunisiens de GFLV (GFLV-SP1 et GFLV-SP2) (Fattouch *et al.*, 2005) avec des isolats français de GFLV (GFLV-FR1 et GFLV-FR2) et d'ArMV (ArMV-FR1, ArMV-FR2, ArMV-FR3, et ArMV-FR4) (Wetzel *et al.*, 2002).

Table 3. Homology (%) between the nucleotide sequences of two Tunisian GFLV isolates (GFLV-SP1 and GFLV-SP2) (Fattouch *et al.*, 2005), with French GFLV isolates (GFLV-FR1 and FR2, GFLV) and ArMV (ArMV-FR1, FR2-ArMV, ArMV-FR3 and FR4-ArMV) (Wetzel *et al.*, 2002).

Isolats tunisiens	Pourcentage d'homologie des séquences nucléotidiques (%)					
	Isolats français					
	GFLV-FR		ArMV-FR			
	GFLV-FR1	GFLV-FR2	ArMV-FR1	ArMV-FR2	ArMV-FR3	ArMV-FR4
GFLV-Sp1	89	90	78	78	76	78
GFLV-Sp2	90	91	79	78	75	78

Sp1 et Sp2 les deux souches tunisiennes du *grapevine fanleaf virus* (GFLV) (Fattouch *et al.*, 2005). ArMV : *arabis mosaic virus*.

GFLV, a montré un niveau d'homologie qui varie de 75 à 79 % pour les séquences nucléotidiques et une homologie variant de 84 à 89 % pour les acides aminés (Wetzel *et al.*, 2002). En Tunisie, une comparaison entre des isolats tunisiens du GFLV avec des isolats français de GFLV et d'ArMV a révélé une grande similitude (75-91 %) entre les séquences nucléotidiques de ces deux virus (tableau 3). Cette homologie peut être expliquée par l'importation de matériel végétal de multiplication infecté par le court-noué au cours des échanges commerciaux entre la Tunisie et la France au moment de la colonisation française en Tunisie (Fattouch *et al.*, 2005).

Symptômes du court-noué sur vigne

L'expression des symptômes du court-noué varie en fonction de l'isolat viral, du cépage et des conditions pédo-climatiques (Demangeat *et al.*, 2005a). D'après Naraghi-Arani *et al.* (2001), la variabilité des symptômes pourrait avoir une origine génétique. Les symptômes ne touchent pas forcément la plante entière et peuvent s'exprimer uniquement sur un ou deux sarments, bien que la plante entière soit infectée.

Sur feuilles, les symptômes primaires correspondent à des décolorations (jaunissement, panaches réticulées, taches annulaires) ou des déformations du limbe (Demangeat *et al.*, 2005a) (figure 2B). Les sinus pétiolaires sont élargis et les nervures primaires sont rapprochées. On peut également observer une déformation des bords de la feuille leur donnant une forme en éventail (Gugerli *et al.*, 1990) (figure 2C), d'où la dénomination de la maladie en anglais *fanleaf*.

Sur les sarments, on remarque fréquemment un raccourcissement des entrenœuds (Galet, 1977 ; Gugerli *et al.*, 1990 ; Demangeat *et al.*, 2005a), d'où le nom de la maladie du court-noué, des doubles nœuds et des symptômes de fasciations (figure 2D). Les vignes infectées peuvent subir après plusieurs années une réduction significative de la végétation. Sur la grappe, des symptômes de coulure (avortement des ovules) et de millerandage (retard de

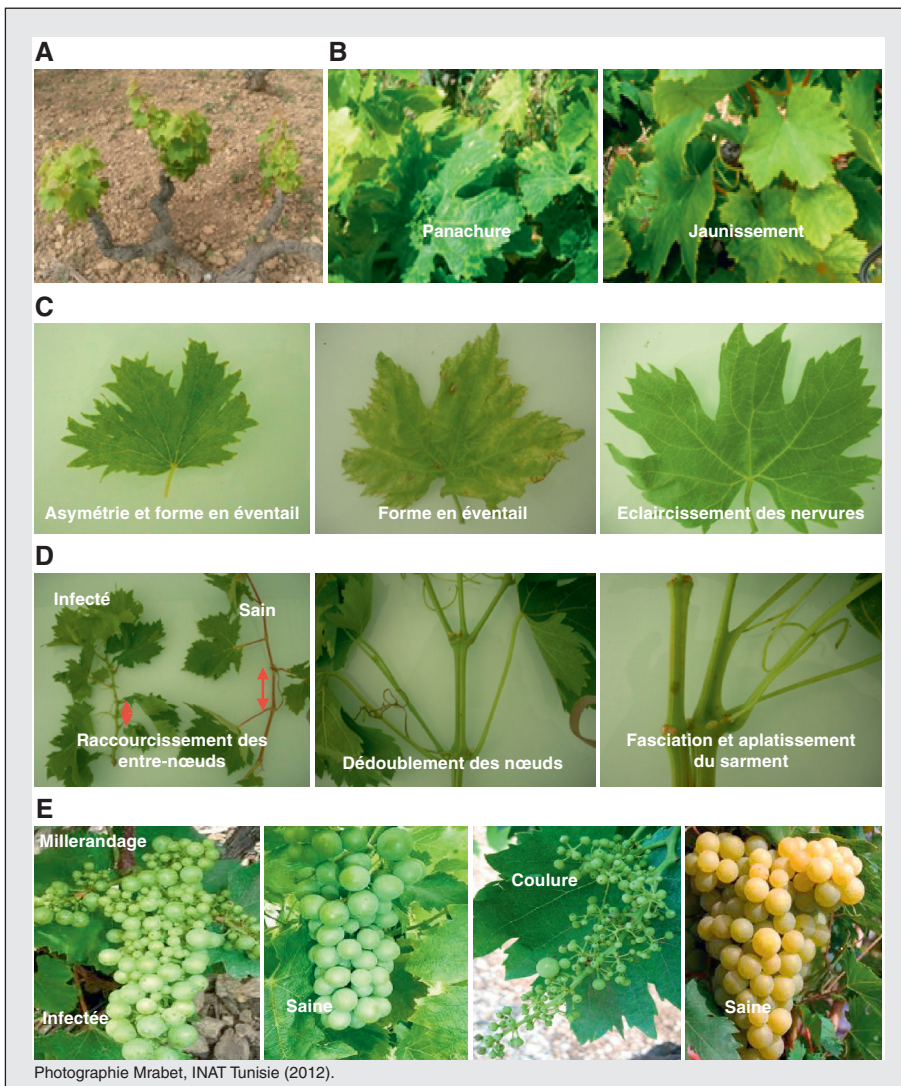


Figure 2. Symptômes de la maladie du court-noué de la vigne sur la plante entière (A), les feuilles (B et C), les sarments (D) et les fruits (E).

Figure 2. Symptoms of grapevine fanleaf disease on the whole plant (A), leaves (B and C), shoots (D) and fruit (E).

la maturation des baies) sont couramment observés (Gugerli *et al.*, 1990) (figure 2E). L'infection virale se traduit aussi par l'altération des mécanismes de la plante : les plus connus concernent la photosynthèse, les processus respiratoires, les activités enzymatiques, les transports à longue distance par le phloème, les équilibres hormonaux, la nutrition minérale, etc. (Walter, 1998).

Enfin, la maladie provoque un affaiblissement progressif du cep (figure 2A), qui réduit ainsi la longévité de la plante et peut conduire à sa mort. L'ensemble

de ces phénomènes conduit à des pertes de récolte pouvant dépasser les 80 % et altérer la qualité du vin (Bovey *et al.*, 1990 ; Andret-Link *et al.*, 2004 ; Komar *et al.*, 2008). Les différents symptômes décrits ci-dessus peuvent parfois se confondre avec les symptômes dus à des dégâts d'herbicides, des carences nutritives ou d'autres troubles physiologiques (Galet, 1977 ; Gugerli *et al.*, 1990).

Des prospections effectuées dans les principales régions viticoles au nord de la Tunisie (figure 1) ont permis de distinguer deux types de symptômes

liés à la maladie du court-noué : des anomalies de coloration caractérisées par le jaunissement, la panachure des feuilles et l'éclaircissement des nervures, ainsi que des anomalies de croissance se manifestant par le raccourcissement des entre-nœuds, la fasciation et l'aplatissement des sarments, la réduction du développement des ceps, l'affaiblissement de la plante, le dédoublement des nœuds, une forme en éventail et une asymétrie des feuilles (Mrabet, 2012).

Les symptômes observés au niveau de la région de Rafrat présentent un aspect général très typique caractérisé par une réduction remarquable de la végétation, un affaiblissement aigu des ceps, un raccourcissement très accentué des entre-nœuds, un jaunissement des feuilles, et rarement, un aplatissement du sarment et un dédoublement des nœuds. Toutefois, les aspects relatifs au jaunissement des feuilles, déformations du limbe, feuilles en éventail, éclaircissement des nervures, aplatissements et fasciation des sarments et dédoublement des nœuds sont les symptômes les plus fréquents dans la région de Grombalia (Mrabet, 2012). Ces observations confirment bien celles décrites par Martelli (1985) et Chabbouh *et al.* (1993), qui montrent la présence de deux souches du GFLV en Tunisie, l'une chromogène et l'autre malformante.

Transmission des népovirus et épidémiologie de la maladie du court-noué

Transmission par le matériel végétal

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

Transmission par pollen et graine

La dissémination du GFLV peut être assurée dans certains cas par le pollen ou la graine (Demangeat, 2007). En effet, le GFLV est très abondant dans l'endosperme des graines de vigne infectées (Cory et Hewitt, 1968), mais rarement détecté dans l'embryon (Lazar *et al.*, 1990). Cory et Hewitt en 1968 ont montré la présence du GFLV dans les grains de pollen des plants de vigne et des hôtes herbacés sauvages ou cultivés *Chenopodium amaranticolor* (Dias, 1963), *Chenopodium quinoa* (Brückbauer et Rüdél, 1961) et de soja (Cory et Hewitt, 1968).

Sur vigne, les analyses sérologiques DAS-Elisa effectuées sur le pollen des échantillons de vigne fortement infestés montrent que dans la région de Grombalia, le taux d'infection est de 73 % pour le GFLV et 10 % pour l'ArMV. Ces taux sont nettement plus faibles à Rafrat (5 %) pour chacun de ces deux virus (Mrabet, 2012). L'isolat du GFLV de la région de Grombalia se transmettrait plus facilement au pollen de la vigne que l'isolat de Rafrat et l'ArMV se transmet moins efficacement au pollen que le GFLV (Mrabet, 2012).

Transmission par les nématodes

Les nématodes vecteurs contribuent efficacement à la dissémination du

court-noué dans les parcelles, mais leur capacité de déplacement étant réduite ($> 1,5$ m/an), leur extension sous forme de foyer reste limitée (figure 3). Par ailleurs, la distribution verticale des nématodes dépend en grande partie à la disponibilité en racines (Demangeat, 2007), en plus de la porosité et de l'hygrométrie du sol (Taylor, 1980).

Une étude sérologique (DAS-Elisa) de la transmission du GFLV et de l'ArMV par leurs vecteurs naturels, réalisée dans les régions de Rafrat et de Grombalia, a été effectuée sur 16 échantillons de *Xiphinema* spp., à raison de 20 individus par échantillon. Cette étude montre que 92,85 % des échantillons sont infectés par le GFLV et aucun par l'ArMV. Ces résultats prouvent que le GFLV se transmet efficacement par son vecteur qui paraît être le principal moyen de dissémination du GFLV en Tunisie, et que le seul moyen de dissémination de l'ArMV semble être l'utilisation de matériel végétal infecté. Cela nous amène à poser l'hypothèse de l'absence de *Xiphinema diversicaudatum* en Tunisie, ou de son incapacité à retenir les particules virales (Mrabet, 2012).

Interaction virus-nématode

Plusieurs nématodes ont été identifiés comme étant vecteurs de virus de la

vigne. *Xiphinema index*, vecteur du GFLV, et *X. diversicaudatum*, vecteur d'ArMV, restent les deux espèces majeures responsables de la maladie du court-noué. L'association entre GFLV et le nématode *X. index* a été prouvée en 1958 (Hewitt *et al.*, 1958). Quelques années plus tard, les particules virales du GFLV ont été isolées de la vigne et purifiées par Dias et Harrison (1963).

X. index et *X. diversicaudatum* appartiennent à la famille des *Dorylaimidae*, à la sous-famille des *Longidoridae* (Goodey, 1963). Ces nématodes sont caractérisés par leur aspect très filiforme, avec un rapport longueur/diamètre de l'ordre de 60 chez l'adulte femelle de *X. index*, par rapport à 75 chez celle de *X. diversicaudatum*, tandis que leur taille est de l'ordre de 3,5 mm chez l'adulte femelle de *X. index* et de 4,5 mm chez celle de *X. diversicaudatum*. Ces nématodes sont des ectoparasites non pénétrants dans les tissus de la plante hôte et abondamment présents dans la rhizosphère des plantes et ils sont très communs dans les vignobles et autres cultures arborescentes.

Cohn *et al.* (1970) ont montré que *X. italiae* est un vecteur de GFLV et qu'aussi bien la femelle adulte que les larves sont capables de transmettre cette maladie quatre à huit semaines après l'acquisition des particules virales. De même, *X. vuittenezi* a été proposée comme étant un vecteur de GFLV, mais cette hypothèse a été rejetée car le critère de la transmission n'a pas été vérifié (Kumari *et al.*, 2004).

X. index et *X. italiae*, nématodes vecteurs du GFLV

L'aire d'origine de *X. index* est vraisemblablement le Moyen-Orient, d'où l'espèce semble avoir été disséminée avec la culture de la vigne (Villate, 2008). Le nématode *X. index* a une gamme d'hôtes très étroite. Il est inféodé à la vigne qui est aussi l'hôte naturel du GFLV. Le figuier est également une plante hôte mais cette espèce végétale n'est pas infectée par le GFLV.

Après éclosion des œufs pondus isolément dans le sol, *X. index* passe par quatre stades larvaires (Thorne et Allen, 1950). Les adultes et tous les



Figure 3. Foyer de court-noué dans un vignoble de la région de Rafrat (Nord de la Tunisie). Photographie B. Mrabet, INAT Tunisie (2012).

Figure 3. Focus of grapevine fanleaf virus in a vineyard in Rafrat (northern Tunisia). Photograph B. Mrabet, INAT Tunisie (2012).

stades larvaires sont capables d'acquieser et de transmettre le GFLV (Taylor et Brown, 1997). Les mâles sont très rares et ne participent que très occasionnellement à la reproduction, qui est majoritairement de type parthénogénétique (Villate *et al.*, 2010). Ce mode de reproduction permet à un seul individu virulifère femelle d'engendrer un foyer de propagation du virus. Le cycle complet (œuf à adulte) dure deux à trois mois dans les conditions les plus favorables, mais peut s'étendre à plusieurs années au vignoble. Ce cycle de vie peut être prolongé par des périodes de quiescence à n'importe quel stade de développement, lorsque *X. index* rencontre des conditions défavorables (Taylor et Brown, 1997 ; Esmenjaud, 2000).

***X. diversicaudatum*, le vecteur de l'ArMV**

X. diversicaudatum, le vecteur naturel de l'ArMV, est un nématode ectoparasite filiforme. Au stade adulte, il mesure entre 4 à 6,2 mm de long. Contrairement aux autres espèces de *Xiphinema* vecteurs de virus, qui ont un mode de reproduction majoritairement parthénogénétique, *X. diversicaudatum* possède un mode de reproduction sexuée. Ce nématode possède les mêmes capacités de rétention et de transmission des particules virales que *X. index* (Taylor et Brown, 1997) et présente une gamme d'hôtes naturels beaucoup plus étendue que celle de *X. index*.

Spécificité de l'interaction virus- nématode vecteur

L'adsorption des virus est un phénomène sélectif, qui implique des récepteurs spécifiques situés au niveau de l'appareil digestif du nématode. En effet, le GFLV est retenu dans son vecteur exclusif, *X. index*. En revanche, l'ArMV n'est pas retenu par *X. index* qui ne transmet pas l'ArMV (Belin *et al.*, 2001). *X. diversicaudatum* est le seul nématode pour lequel les preuves de transmission de l'ArMV soient considérées comme avérées (Trudgill *et al.*, 1983).

Le mécanisme de transmission des particules virales par leurs vecteurs se déroule au cours de la phase de la prise alimentaire (Demangeat, 2007). En effet, les particules virales sont ingérées par le nématode avec la nourriture, puis retenues spécifiquement au niveau de l'appareil digestif et, enfin, relâchées lors du flux des sécrétions produites par les glandes salivaires. L'efficacité de ces trois étapes, et en particulier celle de l'étape d'adsorption et de relâche des particules virales, détermine la capacité du nématode à être un vecteur efficace ou non des virus (Brown et Weischer, 1998).

Moyens de lutte

À l'heure actuelle, aucune stratégie de lutte durable et respectueuse de l'environnement n'est disponible pour éradiquer la maladie du court-noué de la vigne (Esmenjaud *et al.*, 2005). Les caractéristiques biologiques de *X. index*, ainsi que la rétention du GFLV par *X. index* pendant au moins quatre ans en l'absence de plante hôte (Demangeat *et al.*, 2005b), expliquent les difficultés rencontrées pour lutter efficacement contre cette maladie. En effet, la stratégie de lutte contre le court-noué diffère selon que l'on dispose d'un vignoble sain ou un vignoble infecté. Dans le cas d'un vignoble sain, la stratégie est prophylactique et consiste à éviter d'introduire une contamination dans la parcelle. Dans le cas d'un vignoble infecté, la stratégie vise à éradiquer le virus et/ou le nématode vecteur. Les pieds malades sont arrachés après avoir été dévitalisés pour détruire les racines et priver les nématodes de ressources alimentaires. Cette pratique culturale peut être accompagnée d'un repos du sol pour une période de sept ans au minimum (Demangeat, 2005b). Cependant, cette période est souvent incompatible avec les enjeux économiques de la viticulture. Jusqu'en 2009, les populations de nématodes pouvaient être contrôlées plus ou moins efficacement par l'utilisation de nématicides (Schellenberger, 2010). Mais la toxicité aiguë et la rémanence de ces nématicides a conduit à l'interdiction totale de

l'utilisation de ces molécules en Europe depuis 2007 (Schellenberger, 2010). En Tunisie, le seul moyen de lutte utilisé est préventif, se traduisant par l'utilisation de matériel végétal de multiplication sain indemne de virus. D'autres moyens de lutte génétique consistent à perturber les interactions nématode/plante ou virus/plante. En effet, une résistance totale à *X. index* a été identifiée chez la variété sauvage de vigne *Muscadinia rotundifolia*. L'introduction de cette résistance dans des variétés de porte-greffes cultivées a été réalisée. Ce nouveau porte-greffe disponible sous le nom de Nemadex présente une tolérance au GFLV très intéressante, mais la résistance n'est pas totale (Esmenjaud et Bouquet, 2009). Enfin, des travaux concernant le développement de vignes transgéniques pour les rendre résistantes au virus sont entrepris mais aucune résistance forte au GFLV n'a été constatée (Hemmer *et al.*, 2009 ; Gambino *et al.*, 2010).

Conclusion

La maladie du court-noué est la maladie la plus dommageable sur la culture et l'industrie de la vigne en Tunisie (Boulila *et al.*, 1991). L'interaction forte qui regroupe les virus associés à cette maladie avec leurs vecteurs naturels explique les difficultés rencontrées pour lutter efficacement contre cette maladie. La perturbation de cette interaction demeure donc la solution innovante pour faire face à cette maladie destructive et cela ne peut être assuré que par le biais d'une étude épidémiologique approfondie. Dans ce contexte, des travaux sur l'interaction vigne-virus sont conduits dans les principales régions viticoles situées au nord de la Tunisie. Ces travaux ont pu montrer l'existence d'une corrélation positive entre la répartition des virus associés à cette maladie, la symptomatologie qu'elle engendre et la diversité génétique des souches virales isolées. L'interaction virus-nématode vecteur mérite de regarder de plus près la spécificité de cette interaction et les mécanismes qui régissent cette spécificité, et cela devrait être fait par l'étude de la diversité des différentes espèces de *Xiphinema* dans les principales régions viticoles de la

Tunisie. La capsid étant le facteur déterminant la spécificité de la transmission du virus par les nématodes vecteurs, il est donc important d'approfondir l'étude de la région codant pour cette protéine, tout en la reliant à la diversité génétique des nématodes régissant cette spécificité. ■

Références

- Adekunle OK, Kulshrestha S, Prasad R, 2006. Plant parasitic and vector nematodes associated with Asiatic and Oriental hybrid lilies. *Bioresource Technology* 97:364-71.
- Andret-Link P, Laporte C, Valat L, Ritzenthaler C, Vigne E, Laval V, et al., 2004. *Grapevine fanleaf virus* : still a major threat to the grapevine industry. *Journal of Plant Pathology* 86:183-95.
- Anonyme, 2013. *Liste des maladies et de leurs vecteurs et ravageurs de la vigne*. <http://ephytia.inra.fr/fr/C/7056/Vigne-Ecologie-epidemiologie>
- Bashir NS, Hajizadeh M, 2007. Survey for *fanleaf virus* in vineyards of north-west Iran and genetic diversity of isolates Australas. *Plant Pathology* 36:46-52.
- Belin C, Schmitt C, Demangeat G, Komar V, Pink L, Fuchs M, 2001. Involvement of RNA2-encoded proteins in the specific transmission of Grapevine *Fanleaf nepovirus* by its nematode vector. *Virology* 291:161-71.
- Boulila M, Chabbouh N, Chérif C, Martelli GP, 1991. Current knowledge on viruses and virus diseases of grapevines in Tunisia. In: *Proceedings of the 10th Meeting of ICVG*. Volos, Greece, 3-7 September 1990. 104-8.
- Bovey R, Gartel W, Hewitt WB, Martelli GP, Vuittenez A, 1990. Soil-borne viruses transmitted by nematodes. In: *Virus and virus-like diseases of grapevine*. Lausanne (Switzerland): Edition Payot, 46-50.
- Bovey R, Martelli GP, 1992. *Directory of major virus and virus like diseases of grapevine*. Bari, Italy: Mediterranean Fruit Crop Improvement Council (MFCIC) and International Council for the study of viruses and virus like diseases of grapevine (ICVG).
- Brown DJF, Weischer B, 1998. Specificity, exclusivity and complementarity in the transmission of plant viruses by plant parasitic nematodes : an annotated terminology. *Fundamental and Applied Nematology* 21:1-11.
- Brown DJF, MacFarlane SA, 2001. « Worms » that transmit viruses. *Biologist* 48:35-40.
- Brückbauer H, Rüdel M, 1961. *Wein-Wissenschaft* 16 : 177.
- Cadman CH, 1963. Biology of soil-borne viruses. *Annual Review of Phytopathology* 1:143-72.
- Chabbouh N, Martelli GP, Savino V, Greco N, La Fortessa R, 1993. Potato virus X (PVX) in Tunisian grapevine. *Vitis* 32:165-9.
- Cohn E, Tanne E, Nitzany FE, 1970. *Xiphinema italiae*, a new vector of grapevine fanleaf virus. *Phytopathology* 60:181-2.
- Cory L, Hewitt WB, 1968. Some grapevine viruses in pollen and seeds. *Phytopathology* 58:1316-968.
- Demangeat G, 2007. Transmission des *Nepovirus* par les nématodes *Longidoridae*. *Virology* 11: 309-21.
- Demangeat G, Esmenjaud D, Voisin R, Bidault JM, Grenan S, Claverie M, 2005a. Le court-noué de la vigne : état des connaissances sur cette maladie. *Phytoma* 587:38-42.
- Demangeat G, Voisin R, Minot JC, Bosselut N, Fuchs M, Esmenjaud D, 2005b. Survival of *Xiphinema index* in vineyard soil and retention of grapevine fanleaf virus over extended time in the absence of host plants. *Phytopathology* 95:1151-6.
- Dias HF, 1963. Host range and properties of grapevine fanleaf and grapevine yellow mosaic viruses. *Annals of Applied Biology* 51:85-95.
- Dias HF, Harrison BD, 1963. The relationship between grapevine fanleaf, grapevine yellow mosaic and arabis mosaic viruses. *Annals of Applied Biology* 51:97-105.
- Esmenjaud D, Bouquet A, 2009. Selection and application of resistant germplasm for grapevine nematodes management. In: Ciancio A, Mukerji KG, eds. *Integrated management of fruit crops and forest nematodes*. Springer Science and Business Media B.V.: 195-214.
- Esmenjaud D, Voisin R, Fritsch J, Bouquet A, Lemaire O, Claverie M, 2005. Le Court-noué de la vigne : II. Le point sur la lutte contre la maladie. Dossier spécial ITV-INRA « Alternative à la lutte chimique contre le court-noué de la vigne ». *Phytoma* 587:43-8.
- Esmenjaud D, 2000. Les nématodes de la vigne. In: Stockel J, ed. *Les ravageurs de la vigne*. Bordeaux, France: Éditions Féret:17-34.
- Fattouch S, Acheche H, M'hirsi S, Mellouli L, Bejar S, Marrakchi M, et al., 2005. Detection and characterization of two strains of grapevine *Fanleaf nepovirus* in Tunisia. *Bulletin OEPP* 35:265-70.
- Fuchs M, Pinck M, Serghini MA, Ravelonandro M, Walter B, Pink L, 1989. The nucleotide sequence of satellite RNA in *Grapevine fanleaf virus*, strain F13. *Journal of General Virology* 70:955-62.
- Galet P, 1977. *Les maladies et les parasites de la vigne*. Montpellier: Éditions Paysan du midi.
- Gambino G, Perrone I, Carra A, Chitarra W, Boccacci P, Marinoni DT, et al., 2010. Transgene silencing in grapevines transformed with GFLV resistance genes: analysis of variable expression of transgene, siRNAs production and cytosine methylation. *Transgenic Research* 19:17-27.
- Gugerli P, Brugger JJ, Basler P, 1990. *Dégénérescence infectieuse ou court-noué de la vigne*. Département EVD, fiche technique des maladies des vignobles n° 033. <http://www.agroscope.admin.ch/data>.
- Goodey T, 1963. *Soil and freshwater nematodes*. 2nd Edition Revised by J.B. Goodey, London (UK): Methuen.
- Hans F, Fuchs M, Pinck L, 1992. Replication of *Grapevine fanleaf virus* satellite RNA transcripts in *Chenopodium quinoa* protoplasts. *Journal of General Virology* 73:2517-23.
- Hemmer C, Vigne E, Goldschmidt V, Komar V, Marmonier A, Vala L, et al., 2009. Transgenic rootstock expressing GFLV CP gene in a three years field trial ; resistance assessment, impact on GFLV diversity and exchanges between rootstock and scion. In: *16th Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG)*. Dijon, France.
- Hewitt W, 1950. Fanleaf-Another vine disease found in California. *The Bulletin, Department of Agriculture, State of California* 39:62-3.
- Hewitt W, Raski DJ, Goheen AC, 1958. Nematode vector of soil-borne *Fanleaf Virus* of grapevines. *Phytopathology* 48:586-95.
- Huss B, Muller S, Sommermeyer G, Walter B, Van Regenmortel MHV, 1987. *Grapevine fanleaf virus* monoclonal antibodies: their use to distinguish different isolates. *Journal of Phytopathology* 119:358-70.
- Huss B, Walter B, Fuchs M, 1989. Cross protection between arabis mosaic virus and grapevine fan leaf virus in *Chenopodium quinoa*. *Annals of Applied Biology* 114:45-60.
- Komar V, Vigne E, Demangeat G, Lemaire, Fuchs M, 2008. Cross-protection as control strategy against *Grapevine fanleaf virus* in naturally infected vineyards. *Plant Disease* 92:1689-94.
- Kumari S, Kundu J, Polák J, 2004. Identification of *Xiphinema vuittenezi* by polymerase chain reaction. *Plant Protection Science* 40:1-4.
- Lazar J, Kolber M, Lehoczyk J, 1990. Detection of some nepoviruses (GFV, GFVYM, GCMV, ArMV) in the seeds and seedlings of grapevine by ELISA. *Kertgasdasag* 22:58-72.
- Loudes AM, Ritzenthaler C, Pinck M, Serghini MA, Pinck L, 1995. The 119 kDa and 124 kDa polypeptides of *Arabis Mosaic Nepovirus* (isolate S) are encoded by two distinct RNA2 species. *Journal of General Virology* 76:899-906.
- Martelli GP, 1985. *Viruses and virus like diseases of grapevine in Tunisia*. FAO Report to the Government of Tunisia.
- Martelli GP, Taylor CE, 1990. Distribution of viruses and their nematode vectors. *Advances in diseases vector research* (6) : 151-89.
- Martelli GP, Boudon-Padiou E, 2006. *Directory of infectious diseases of grapevines and viroses and virus-like diseases of grapevine : Bibliographic report 1998-2004*. Bari : CIHEAM-IAMB. Options Méditerranéennes : Série B. Études et Recherches : 255-279.
- Mayo MA, Robinson DG, 1996. *Nepovirus* : molecular biology and replication. In: Harrison BD, Murrant AF, eds. *The plant viruses, Polyhedral virions and bipartite RNA genomes*. New York : Plenum press : 287-8.
- Mougou A, Mahmoud S, Chiboub T, Boubaker A, 2006. *Étude de la situation phytosanitaire de trois régions viticoles de la Tunisie : cas des virus du court-noué et de l'enroulement foliaire*. Actes 13^e Journées scientifiques sur les acquis de la recherche agricole; 2006.
- Mrabet B, 2012. *Étiologie de la maladie du court-noué dans les principales régions viticoles de la Tunisie. Mémoire du Diplôme de Mastère « lutte biologique et intégrée en agriculture »*. Tunis (Tunisie): Institut national agronomique de Tunisie. 80 pp.
- Naraghi-Arani P, Daubert S, Rowhani A, 2001. Quasispecies nature of the genome of *Grapevine fanleaf virus*. *Journal of General Virology* 82: 1791-5.
- Pink L, Fuchs M, Pinck M, Ravelonandro M, Walter B, 1988. A satellite RNA in grapevine fanleaf virus in Strain F13. *Journal of General Virology* 69: 233-9.

- Quacquarelli A, Gallitelli V, Savino V, Martelli GP, 1976. Properties of *Grapevine fanleaf virus*. *Journal of General Virology* 32:349-60.
- Ritzenthaler C, Viry M, Pinck M, Margis R, Fuchs M, Pink L, 1991. Complete nucleotide sequence and genetic organization of *Grapevine Fanleaf nepovirus* RNA1. *Journal of General Virology* 72:2357-65.
- Savino V, Cherif C, Martelli GP, 1985. A natural serological variant of *Grapevine fanleaf virus*. *Phytopathologia Mediterranea* 24:29-34.
- Schellenberger P, 2010. *Caractérisation structurale et fonctionnelle de déterminants de la capsid du Grapevine fanleaf virus impliqués dans la transmission par Xiphinema index*. Thèse de doctorat en science du vivant (Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie). Institut de Biologie Moléculaire des Plantes-Strasbourg : 39-55.
- Serghini MA, Fuchs M, Pinck M, Reinbolt J, Walter B, Pink L, 1990. RNA2 of *Grapevine fanleaf virus*: sequence analysis and coat protein cistron location. *Journal of General Virology* 71:1433-41.
- Taylor CE, 1980. Nematodes. In: Harris KF, Maramorosch K, eds. *Vectors of plant pathogens*. New York: Academic Press:375-416.
- Taylor CE, Brown DJF, 1997. *Nematode vectors of plant viruses*. Walling-ford (England): CAB international.
- Thorne G, Allen MW, 1950. *Paratylenchus hamatus* n.sp. and *Xiphinema index* n.sp, two nematodes associated with fig roots, with a note on *Paratylenchus anceps* Cobb. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington* 17:27-35.
- Trudgill DL, Brown DJF, McNamara DG, 1983. Methods and criteria for assessing the transmission of plant viruses by longidorid nematodes. *Revue de Nématologie* 6:133-41.
- Vigne E, Bergdoll M, Guyader S, Fuchs M, 2004. Population structure and genetic diversity within *Grapevine fanleaf virus* isolates from a naturally infected vineyard in France: evidence for mixed infection and recombination. *Journal of General Virology* 85:2435-45.
- Villate L, 2008. *Origine, variabilité et gestion des populations de Xiphinema index, le nématode vecteur du grapevine fanleaf virus (GFLV)*. Thèse de doctorat. Rennes (France) : Université de Rennes 1.
- Villate L, Esmenjaud D, Vanh M, Stoeckel S, Plantard O, 2010. Genetic signature of amphimixis allows for the detection and fine scale localization of sexual reproduction events in a mainly parthenogenetic nematode. *Molecular Ecology* 19: 865-73.
- Viry M, Serghini MA, Hans F, Ritzenthaler C, Pink M, Pink L, 1993. Biologically active transcripts from cloned cDNA of genomic grapevine *Fanleaf nepovirus* RNAs. *Journal of General Virology* 74: 169-74.
- Walter B, 1998. Virus et viroses de la vigne. *Virologie* 2:435-44.
- Wetzel T, Meunier L, Jaeger U, Reustle GM, Krczal G, 2001. Complete nucleotide sequences of the RNASE 2 of German isolates of *Grapevine Fanleaf* and *Arabis Mosaic Nepoviruses*. *Virus Research* 75:139-45.
- Wetzel T, Fuchs M, Bobko M, Krczal G, 2002. Size and sequence variability of the *Arabis mosaic virus* protein 2A. *Virology* 147:1643-53.