

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique  
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة  
Ecole Nationale Supérieure Agronomique

# Thèse

En vue de l'Obtention du Diplôme de Magister en Sciences Agronomiques  
Option : Phytopathologie

# Thème

**Etude du BSMV, virus de la mosaïque striée  
de l'orge : Analyse du pouvoir pathogène et  
de la transmission par semence**

**Présentée par : M<sup>me</sup> Boubetra Souhila**

## Jury

<b>Président :</b>	M <sup>r</sup> Bouznad A.	Professeur
<b>Directrice :</b>	M <sup>me</sup> Louanchi M.	Maître de conférences
<b>Examineurs :</b>	M <sup>me</sup> Mekliche L.	Maître de conférences
	M <sup>elle</sup> Krimi Z.	Professeur

**Année universitaire : 2009-2010**

## Remerciements

Ce travail a été réalisé au laboratoire de virologie végétale de l'institut national agronomique (INA, El Harrach) et au laboratoire national de diagnostic, service virologie de l'institut national de la protection des végétaux (INPV, El Harrach).

Qu'il me soit permis d'exprimer mes sincères remerciements et toute ma reconnaissance à madame Louanchi M., maître de conférences à l'INA, pour m'avoir dirigé dans ce travail, pour ces précieux conseils son aide et sa disponibilité.

Je voudrais également exprimer toute ma gratitude et mes remerciements à monsieur Ait yahia A., pour m'avoir initié à la réalisation de cette étude.

J'exprime toute ma gratitude et mes remerciements à monsieur le professeur Bouznad Z., qui ma fait l'honneur de présider mon jury.

J'adresse mes vifs remerciements à mademoiselle Krimi Z., Professeur à l'université de Blida, ainsi que madame Mekliche L., maître de conférences à l'INA qui m'ont fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.

J'exprime également mes remerciements à :

-Madame Ait ouada M., chargée de cours à l'INA pour son accueil bienveillant au sein du laboratoire de virologie.

- Madame Djouadi H., chef de département du laboratoire national de diagnostic à l' INPV et Madame Kheffache M., chef de service virologie d'avoir mis à ma disposition tout le matériel nécessaire pour la réalisation de ce travail.

- Madame Salem DZ., Mademoiselle Oussaid Y., Mademoiselle Bouakaz K et Madame mohammedi F., ingénieur s d'état en agronomie d'avoir contribuer à la réalisation de ce travail. Je les remercie vivement pour leur amitié et leur soutien.

- M<sup>r</sup> Aggad H., M<sup>elle</sup> Belazzougui C., M<sup>r</sup> Biskri H., M<sup>r</sup> Haferssasse N., M<sup>r</sup> Bédaoui R., M<sup>r</sup> Bousbia N., Mouhamed, Fouzi , et M<sup>elle</sup> Benar D., pour leur aide précieuse.

Je tiens à remercier profondément tous les membres de ma belle famille et ma famille en particulier, mon père et ma mère pour leurs sacrifices, leur soutien et leurs encouragements.

Je remercie vivement, mon mari pour sa compréhension, son soutien et ses encouragements, sans oublier mes deux enfants Riad et Zahra Nada pour leur amour.

Je voudrais exprimer mes remerciements à toute personne que j'ai oubliée de citer et qui aurait aidé ou contribué à la réalisation de cette thèse.

# Sommaire

<b>1.</b>	<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	1
<b>2.</b>	<b>DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	3
<b>2.1.</b>	<b>LES CEREALES ET LA CEREALICULTURE EN ALGERIE</b> .....	3
<b>2.1.1.</b>	DONNEES GENERALS SUR LES CEREALES.....	3
<b>2.1.2.</b>	PATHOLOGIE DES CEREALES.....	3
<b>2.1.3.</b>	LES CEREALES EN ALGERIE.....	6
<b>2.1.3.1.</b>	Superficies, productions et rendements.....	6
<b>2.1.3.2.</b>	Pathologie des céréales en Algérie.....	7
<b>2.2.</b>	<b>LE BARLEY STRIPE MOSAIC VIRUS (BSMV)</b> .....	8
<b>2.2.1.</b>	HISTORIQUE DU BARLEY STRIPE MOSAIC VIRUS.....	8
<b>2.2.2.</b>	IMPORTANCE ECONOMIQUE.....	8
<b>2.2.3.</b>	DESCRIPTION DE L'AGENT CAUSAL.....	9
<b>2.2.3.1.</b>	Structure et propriétés physico-chimiques du BSMV.....	9
<b>2.2.3.2.</b>	Structure et organisation du génome du BSMV.....	11
<b>2.2.3.3.</b>	Souches de BSMV.....	12
<b>2.2.4.</b>	PROCESSUS INFECTIEUX.....	13
<b>2.2.4.1.</b>	Gamme d'hôtes.....	13
<b>2.2.4.2.</b>	Symptomatologie.....	13
<b>2.2.4.3.</b>	Cytopathologie.....	14
<b>2.2.4.4.</b>	Epidémiologie.....	14
<b>2.3.</b>	<b>LES VIRUS TRANSMIS PAR SEMENCES, CAS DU BSMV</b> .....	15
<b>2.3.1.</b>	GENERALITES.....	15
<b>2.3.2.</b>	MODE DE TRANSMISSION PAR SEMENCES.....	15
<b>2.3.3.</b>	VIRUS DES CEREALES TRANSMIS PAR SEMENCES.....	17
<b>2.3.3.1.</b>	Généralités.....	17
<b>2.3.3.2.</b>	Transmission du BSMV.....	18
<b>2.4.</b>	Moyenne de lutte .....	19
<b>3.</b>	<b>MATERIEL ET METHODES</b> .....	21
<b>3.1.</b>	MATERIEL VEGETAL.....	21
<b>3.2</b>	SERUMS ET CONJUGUES UTILISES.....	21

<b>3.3.</b>	<b>METHODES SEROLOGIQUES UTILISEES.....</b>	<b>22</b>
<b>3.3.1.</b>	<b>TECHNIQUE IMMUNO ENZYMATIQUE ACP-ELISA.....</b>	<b>22</b>
<b>3.3.2.</b>	<b>TECHNIQUE IMMUNO-ENZYMATIQUE DAS-ELISA.....</b>	<b>23</b>
<b>3.3.3.</b>	<b>TECHNIQUE IMMUNO-ENZYMATIQUE TBIA.....</b>	<b>24</b>
<b>3.4.</b>	<b>IDENTIFICATION DU BSMV DANS LES VARIETES DE BLE ET D'ORGE.....</b>	<b>25</b>
<b>3.4.1.</b>	<b>IDENTIFICATION DANS LES ECHANTILLONS COLLECTES EN PLEIN CHAMP.....</b>	<b>25</b>
<b>3.4.1.1.</b>	<b>Préparation des échantillons.....</b>	<b>25</b>
<b>3.4.1.2.</b>	<b>Criblage sérologique et analyse des résultats.....</b>	<b>26</b>
<b>3.4.2.</b>	<b>ANALYSE SANITAIRE DES SEMENCES.....</b>	<b>26</b>
<b>3.4.2.1.</b>	<b>Préparation des échantillons.....</b>	<b>26</b>
<b>3.4.2.2.</b>	<b>Criblage sérologique.....</b>	<b>27</b>
<b>3.5.</b>	<b>ETUDE DU POUVOIR PATHOGENE SUR ORGE.....</b>	<b>27</b>
<b>3.5.1.</b>	<b>INOCULATION ARTIFICIELLE DES PLANTS DE VARIETES D'ORGE.....</b>	<b>27</b>
<b>3.5.1.1.</b>	<b>Préparation de l'inoculum.....</b>	<b>27</b>
<b>3.5.1.2.</b>	<b>Obtention des plants d'orge.....</b>	<b>28</b>
<b>3.5.1.3.</b>	<b>Inoculation mécanique.....</b>	<b>28</b>
<b>3.5.2.</b>	<b>OBSERVATION DES SYMPTOMES.....</b>	<b>28</b>
<b>3.5.3.</b>	<b>CRIBLAGE SEROLOGIQUE.....</b>	<b>30</b>
<b>3.5.4.</b>	<b>ESTIMATION DU TAUX DE TRANSMISSION PAR SEMENCE.....</b>	<b>30</b>
<b>3.5.4.1.</b>	<b>Par le test TBIA.....</b>	<b>30</b>
<b>3.5.4.2.</b>	<b>Par le test DAS-ELISA.....</b>	<b>30</b>
<b>3.5.4.3.</b>	<b>CALCUL DU TAUX DE TRANSMISSION.....</b>	<b>31</b>
<b>3.5.5</b>	<b>ANALYSE STATISTIQUE.....</b>	<b>31</b>
<b>4.</b>	<b>RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>33</b>
<b>4.1.</b>	<b>ANALYSE DE LA PRESENCE ET DE L'IMPORTANCE DU BSMV.....</b>	<b>33</b>
<b>4.1.1.</b>	<b>ANALYSE EN PLEIN CHAMP.....</b>	<b>33</b>
<b>4.1.1.1.</b>	<b>Observation des symptômes.....</b>	<b>33</b>
<b>4.1.1.2.</b>	<b>Criblage sérologique.....</b>	<b>33</b>
<b>4.1.1.3.</b>	<b>Discussion.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1.2.</b>	<b>ANALYSE DE LOTS DE SEMENCES DE DIFFERENTES VARIETES DE CEREALES.....</b>	<b>37</b>
<b>4.1.2.1.</b>	<b>Taux d'infection des lots de semences.....</b>	<b>37</b>
<b>4.1.2.2.</b>	<b>Variation du tau d'infection en fonction du seuil de détection.....</b>	<b>40</b>
<b>4.1.2.3.</b>	<b>Discussion.....</b>	<b>41</b>
<b>4.2.</b>	<b>ETUDE DU POUVOIR PATHOGENE DU BSMV SUR ORGE.....</b>	<b>43</b>
<b>4.2.1.</b>	<b>ANALYSE DES SYMPTOMES.....</b>	<b>43</b>
<b>4.2.1.1.</b>	<b>Symptômes observés sur les plants non inoculés.....</b>	<b>43</b>
<b>4.2.1.1.1</b>	<b>Notation des symptômes.....</b>	<b>43</b>
<b>4.2.1.1.2</b>	<b>Analyse statistique des résultats.....</b>	<b>45</b>
<b>4.2.1.2.</b>	<b>Symptômes observé sur les plants inoculés.....</b>	<b>47</b>

4.2.1.2.1.	Analyse des symptômes.....	47
4.2.1.2.2.	Analyse statistique des résultats.....	49
4.2.1.3.	Analyse des résultats par la comparaison des deux essais.....	51
4.2.1.4.	Discussion.....	54
4.2.2.	ANALYSE SEROLOGIQUE.....	56
4.2.2.1.	Résultats obtenus.....	56
4.2.2.2.	Discussion.....	57
4.2.3.	ESTIMATION DU TAUX DE TRANSMISSION PAR SEMENCE DES DEUX VARIETES D'ORGE.....	58
4.2.3.1.	Sur jeunes semis par le test TBIA.....	58
4.2.3.2.	Sur semences par le test DAS-ELISA.....	62
4.2.3.3.	Variation du taux d'infection en fonction du seuil de détection.....	64
4.2.3.4.	Discussion.....	65
5.	<b>Conclusion Générale</b> .....	67
	<b>Références bibliographiques</b> .....	70

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b>	Principaux virus décrits sur céréales	4
<b>Tableau 2.</b>	Principales maladies fongiques et bactériennes sur céréales	5
<b>Tableau 3.</b>	Poids moléculaires des différentes parties composant l'ARN du BSMV	10
<b>Tableau 4.</b>	Propriétés physiques du BSMV	10
<b>Tableau 5.</b>	Taux de transmission du BSMV par semence d'espèces de céréales	19
<b>Tableau 6.</b>	Variétés utilisées pour la détection du BSMV dans les lots de semences	21
<b>Tableau 7.</b>	Observation des symptômes et criblage sérologique des échantillons d'orge et de blé collectés	36
<b>Tableau 8.</b>	Réactions sérologiques et taux d'infection des lots de semences de blé	38
<b>Tableau 9.</b>	Réactions sérologiques et taux d'infection des lots de semences d'orge	40
<b>Tableau10.</b>	Variation du taux d'infection en fonction du seuil de détection	42
<b>Tableau11.</b>	Taux (%) de plants par pot des deux variétés d'orge présentant les deux types de symptômes, en Conditions d'infection naturelles	44
<b>Tableau12.</b>	Moyennes de plants présentant les deux types de symptômes sur les deux variétés d'orge, en conditions d'infection naturelles	45
<b>Tableau13.</b>	Taux (%) de plants par pot des deux variétés d'orge présentant les deux types de symptômes, en Conditions d'infection artificielle	48
<b>Tableau14.</b>	Moyennes de plants présentant les deux types de symptômes sur les deux variétés d'orge, en conditions d'infection artificielle	49
<b>Tableau15.</b>	Moyennes de plants présentant les symptômes SCJ et PSB sur les deux variétés d'orge pour les deux essais (plants inoculés et non inoculés)	52
<b>Tableau16.</b>	Résultats du test ACP- ELISA sur les plants non inoculés des deux variétés d'orge	56
<b>Tableau17.</b>	Résultats du test ACP- ELISA sur les plants inoculés	57
<b>Tableau18.</b>	Taux (%) de jeunes semis réagissant positivement au test TBIA	58
<b>Tableau19.</b>	Moyennes du taux de transmission par semence des deux variétés d'orge en condition d'infection naturelles et par inoculation mécanique	60
<b>Tableau20.</b>	Taux (%) de transmission par semence de la variété Acsad 60	63
<b>Tableau21.</b>	Taux (%) de transmission par semence de la variété Saïda	64
<b>Tableau22.</b>	Différents taux de transmission par semence selon le seuil de discrimination	65

## Liste des figures

<b>Tableau 1.</b>	Principaux virus décrits sur céréales	4
<b>Tableau 2.</b>	Principales maladies fongiques et bactériennes sur céréales	5
<b>Tableau 3.</b>	Poids moléculaires des différentes parties composant l'ARN du BSMV	10
<b>Tableau 4.</b>	Propriétés physiques du BSMV	10
<b>Tableau 5.</b>	Taux de transmission du BSMV par semence d'espèces de céréales	19
<b>Tableau 6.</b>	Variétés utilisées pour la détection du BSMV dans les lots de semences	21
<b>Tableau 7.</b>	Observation des symptômes et criblage sérologique des échantillons d'orge et de blé collectés	36
<b>Tableau 8.</b>	Réactions sérologiques et taux d'infection des lots de semences de blé	38
<b>Tableau 9.</b>	Réactions sérologiques et taux d'infection des lots de semences d'orge	40
<b>Tableau10.</b>	Variation du taux d'infection en fonction du seuil de détection	42
<b>Tableau11.</b>	Taux (%) de plants par pot des deux variétés d'orge présentant les deux types de symptômes, en Conditions d'infection naturelles	44
<b>Tableau12.</b>	Moyennes de plants présentant les deux types de symptômes sur les deux variétés d'orge, en conditions d'infection naturelles	45
<b>Tableau13.</b>	Taux (%) de plants par pot des deux variétés d'orge présentant les deux types de symptômes, en Conditions d'infection artificielle	48
<b>Tableau14.</b>	Moyennes de plants présentant les deux types de symptômes sur les deux variétés d'orge, en conditions d'infection artificielle	49
<b>Tableau15.</b>	Moyennes de plants présentant les symptômes SCJ et PSB sur les deux variétés d'orge pour les deux essais (plants inoculés et non inoculés)	52
<b>Tableau16.</b>	Résultats du test ACP- ELISA sur les plants non inoculés des deux variétés d'orge	56
<b>Tableau17.</b>	Résultats du test ACP- ELISA sur les plants inoculés	57
<b>Tableau18.</b>	Taux (%) de jeunes semis réagissant positivement au test TBIA	58
<b>Tableau19.</b>	Moyennes du taux de transmission par semence des deux variétés d'orge en condition d'infection naturelles et par inoculation mécanique	60
<b>Tableau20.</b>	Taux (%) de transmission par semence de la variété Acsad 60	63
<b>Tableau21.</b>	Taux (%) de transmission par semence de la variété Saïda	64
<b>Tableau22.</b>	Différents taux de transmission par semence selon le seuil de discrimination	65

<b>Figure 1.</b>	Particules virales du Barley Stripe Mosaic Virus (BSMV) après purification	10
<b>Figure 2.</b>	Représentation schématique de l'organisation génomique du BSMV	11
<b>Figure 3.</b>	Diagramme représentant l'anatomie de l'ovule et de l'ovaire d'une fleur	17
<b>Figure 4.</b>	Invasion directe et indirecte de l'embryon	18
<b>Figure 5.</b>	Pourcentage des deux symptômes SCJ et PSB chez les deux variétés Acsad60 et Saida non inoculée	45
<b>Figure 6.</b>	Pourcentage des deux symptômes SCJ et PSB chez les deux variétés Acsada60 et Saida inoculée	49
<b>Figure 7.</b>	Pourcentage du symptôme PSB chez les deux variétés Acsad60 et Saida au niveau des deux essais	53
<b>Figure 8.</b>	Pourcentage du symptôme SPCJ chez les deux variétés Acsad60 et Saida au niveau des deux essais	53
<b>Figure 9.</b>	Taux de transmission par semence du BSMV sur jeunes semis des deux variétés Acsad60 et Saida au niveau des deux essais	60

## Liste des planches et photos

<b>Planche1.</b>	protocole du test ACP-ELISA (Antigene Coated Plate)	23
<b>Planche 2.</b>	Méthode DAS-ELISA préconisé par AGDIA (France)	24
<b>Planche 3.</b>	Tissue Blot Immuno Assay (Lin et al.,1990 ; Hsu et Lawson,1991)	25
<b>Planche 4.</b>	Dispositif expérimental	29
<b>Photo 1.</b>	Symptôme de stries jaunâtres (a) évoluant en stries brunâtres (b) observé sur feuilles de blé dur de la variété Sahel (ITGC-O.Smar)	35
<b>Photo 2.</b>	Symptôme de stries discontinues jaunâtres (a) et dessèchement des bordures foliaires (b) observés chez la variété Belliouni3848 (ITMA-Setif)	35
<b>Photo 3.</b>	Symptôme de mosaïques ponctiformes verdâtre observé sur feuilles d'orge de la variété Rihane (ITGC-O.Smar)	35
<b>Photo 4.</b>	Symptôme de petites stries blanchâtre observé sur feuilles de la variété Saida non inoculée	47
<b>Photo 5.</b>	Symptôme de stries plus courtes jaunâtres observé sur feuilles de la variété Acsad60 non inoculée	47
<b>Photo 6.</b>	Symptôme d'eyes-pot observé sur feuilles de la variété Saida non inoculée	47
<b>Photo 7.</b>	Symptôme de petites stries blanchâtres observé sur feuilles de la variété Acsad 60 inoculée	51
<b>Photo 8.</b>	Symptôme de stries plus courtes jaunâtres et eyes-spot observé sur feuilles de la variété Acsad60 inoculée	51
<b>Photo 9.</b>	Symptôme de jaunissement systémique observé sur feuilles de la variété Acsad60 inoculée	51
<b>Photo10.</b>	Résultats du test TBIA sur la variété Saida	59
<b>Photo11.</b>	Résultats du test TBIA sur la variété Acsad60.	59

## Liste des Abréviations

### VIRUS

BaMMV: Barley Moderate Mosaic Virus

BSMV : Barley Stripe Mosaic Virus

BYVD : Barley Dwarf Mosaic Virus

MCDV : Maize Chlorotic Dwarf Virus

MMV : Maize Mosaic Virus

LRSV : Lychnis Ring Spot Virus

WSMV : Wheat Steak Mosaic Virus

TMV : Tobacco Mosaic Virus

### Divers

A : Variété Acsad60

ACP-ELISA: Antigen Coated Plate-ELISA

AM : Argentina Mild

ARN : Acide Ribonucléique

CNCC : Centre National de Contrôle et de Certification des semences et plants

DAS-ELISA: Double Antibody Sandwich-ELISA

ds : déviation standard (écart type)

DO : Densité Optique

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

ET : Ecart Type

G : Groupe

G : gramme

h : heure

HD : Hiddab

ICARDA : International Center for Agricultural Research in the Dry Area

IgG : Immunoglobuline G

INA : Institut National Agronomique

INO : Inoculé

ITMA : Institut Technique moyen Agricole

j : jours

Kg : Kilo gramme

Kda : Kilo dalton

LSD : Lower Significant Difference

M : Molaire  
MBB : Mohamed Ben Bachir  
mg : milligramme  
min : minute :  
ml : millilitre  
ND : North Dakota  
nm : nanomètre  
NIN : Non Inoculé  
NSP : Non-Seed Passaged  
1015 OG: 1015 Ofonto×Gargano  
ORF : Open Reading Frame (Cadre ouvert de la lecture)  
1106 OG: 1106 Ofonto× Primadur  
1222 OT: 1222 Ofonto × Travolière  
OS : Oued Smar  
P : Taux d'infection  
PBS : Phosphate Buffered Saline  
PH : Potentiel Hydrogène  
PNPP : Para-Nitro Phenyl Phosphate  
PPDS : Plus Petite Différence Significative  
Prob : Probabilité  
PSB : Petites Stries Blanchâtres :  
S : Variété Saida  
SCJ : Stries Courtes Jaunâtres  
SD : Seuil de détection  
ST : Seed Transmitted  
TBIA : Tissue Blot Immuno Assay  
µL : microlitre

# Introduction Générale

## 1. INTRODUCTION GENERALE

La céréaliculture est une composante importante des économies agricoles et alimentaires aussi bien des pays du sud que ceux du nord. Près de 2/3, des protéines de la ration alimentaire mondiale sont d'origine végétale et plus de 50% sont apportées par les céréales dont le blé détient une très grande part (Anonyme, 1998). Par ailleurs, 96% des aliments en grains constituant la presque totalité de l'alimentation mondiale sont produits par ces cultures céréalières, (Benbelkacem, 1997 ; Benbelkacem et Kellou, 2000).

En Algérie, les céréales représentent l'une des cultures stratégique du fait de leur large consommation humaine (80%de la ration alimentaire d'un individu) et animale (Bouzerzour et *al.*, 1997). Ainsi, la filière céréale occupe une place très importante dans le système agro - alimentaire algérien, de même que l'industrie de transformation de ces dernières. En effet, la céréaliculture, jachère comprise, occupe environ 80% de la superficie agricole du pays, (Talamali, 2000).

La consommation des céréales en Algérie est estimée à environ 185 Kg/habitant/an de céréale. Compte tenu de cette consommation et de l'accroissement démographique de la population, la production nationale actuelle n'arrive pas à satisfaire tous les besoins. Face à cette situation, il est fait recours annuellement à des importations massives de céréales pour combler, le déficit demande offre national (Feliachi, 2000).

Cette faible production, et particulièrement celles des blés et des orges est attribuée à plusieurs facteurs parmi ces derniers, les agents phytopathologiques en général, et les virus en particulier semblent jouer un rôle important dans la réduction des rendements en Algérie comme pour les autres pays. Une étude a montré la présence des principaux virus des céréales dans les zones céréalières (Boubetra et *al.*, 1999).

Certains virus des plantes, sont transmis, par la graine, et les cas de transmission de ce type ont souvent une incidence économique non négligeable. La commercialisation des semences, constitue alors un facteur très important de dissémination de ces virus sur de larges zones géographiques (Cornuet, 1987). C'est le cas de la maladie de la mosaïque striée de l'orge qui fait l'objet de notre étude, et qui semble être capable de causer des pertes économiques considérables.

Cette virose est causée par le Barley Stripe Mosaïque Virus (BSMV), organisme de quarantaine, classé dans la liste A<sub>2</sub> par l'OEPP et dont le zéro de tolérance est exigé (Anonyme, 1983).

En Algérie, ce virus a fait l'objet de certaines études préliminaires concernant sa détection sérologique sur cultures de céréales et sur lots de semences par Boubetra et Mohamedi (1998), ainsi que son effets sur les paramètres de croissance sur certaines variétés d'orges (Benmokhtar et Kari, 1999 ; Bounasseur, 2000).

Le but de notre travail est d'approfondir les connaissances sur le BSMV, d'un point de vue symptomatologique et transmission par semence. Ainsi, les objectifs retenus sont les suivants :

**1.** Une analyse phytosanitaire de la présence et de l'importance du BSMV par :

- une confirmation de la présence du BSMV dans la région centre du pays et sa mise en évidence dans une région de l'Est (Sétif) en plein champ et sur lot de semences.
- Une analyse de lots de semences de certaines variétés de blé et d'orge provenant de différentes régions du pays.

**2.** Une étude du pouvoir pathogène ainsi que l'estimation du taux de transmission par semence du BSMV vis- à- vis de deux variétés d'orge Saida et Acsad60 par deux essais d'infection, en conditions naturelles et artificielles par inoculation mécanique.

# Données Bibliographiques

## **2. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES**

### **2.1. LES CEREALES ET LA CEREALICULTURE EN ALGERIE**

#### **2.1.1. DONNEES GENERALES SUR LES CEREALES**

Les céréales sont probablement les premières plantes qui ont été cultivées. La plupart d'entre elles, dérive de graminées de prairie, longtemps récoltées avant d'avoir été semées (Benbelkacem, 1997). Elles jouent actuellement un rôle prépondérant dans l'alimentation mondiale. De même, elles sont utilisées dans l'alimentation animale pour substituer les farines d'origine animale, dans un contexte exacerbé d'épidémie de vache folle sous forme de grains, de pailles et en vert comme fourrage dans le cas de l'orge (Anonyme, 1997 ; Le Boulc'b et al, 2000). Les céréales sont des plantes annuelles monocotylédones, dont la majorité appartient à la famille des *Poaceae* (Graminées).

La sous familles des festucoidées est la plus commune et comprend les principales céréales cultivées (Bonjean et Picard, 1990). Elles sont structurées en deux sous groupes

Céréales d'hiver : blé dur, blé tendre, orge, triticales.

Céréale d'été : riz, maïs, sorgho, millet.

Comme pour l'ensemble des céréales, le cycle du blé et de l'orge comporte trois phases (Moule, 1980) :

- La phase végétative : durant laquelle la plante ne différencie que les feuilles et les racines.
- La phase reproductrice : dominée par l'apparition de l'épi et la formation du grain.
- La phase de maturation : qui s'étend de la fécondation à la maturation du grain.

Concernant les exigences édaphiques, le blé offre de bons rendements lorsqu'il est cultivé dans des terres profondes à texture équilibrée de type limono argileuse (Simon et al., 1989), alors que l'orge s'accommode de sols légers, peu profonds à sous sols calcaires (Soltner, 1992).

#### **2.1.2. PATHOLOGIE DES CEREALES**

Les céréales peuvent être infectées par un grand nombre d'agents pathogènes qui provoquent des maladies causant des pertes annuelles de l'ordre de 135 millions de tonnes

dans le monde (Sayoud, 1987). Les maladies des blés et orges occasionnent à elles seules plus de 10% des pertes globales de toutes les cultures confondues (Sayoud, 1987). Les céréales sont sujettes à des viroses depuis fort longtemps (Tableau 1), mais l'incidence économique de ces maladies a pris de l'importance ces dernières années (Cornuet, 1987 ; Astier *et al.*, 2001). La découverte des maladies à virus en Europe est relativement récente. Jusqu'en 1961 une seule d'entre elle avait été signalée en Suisse. En revanche, plusieurs viroses graves des céréales sont connues depuis longtemps en Russie et en Amérique du Nord où elles causent des dégâts importants (Bovey, 1972).

**Tableau 1.** Principaux virus décrits sur céréales

Virus	Famille et genre viral	Distribution Géographique	Transmission	Symptômes	Source
Barley yellow dwarf virus BYDV-MAV BYDV-PAV BYDV-RGV BYDV-RMV BYDV-RPV BYDV-SGV	<i>Luteoviridae</i> <i>Lutéovirus</i> <i>lutéovirus</i> Non défini Non défini <i>Polerovirus</i> Non défini	Monde entier	Aphides <i>Macrosiphum</i> , <i>Rhopalosiphum</i> , <i>Schizaphis</i> autres espèces.	Nanisme, jaunissement/rougissement des feuilles	Bayon, 1980, in Ibriz <i>et al.</i> , 1993; Brunt <i>et al.</i> , 1997 ; Wiese, 1998; Van Regenmortel, 1999
Barley Stripe Mosaïque Virus	<i>Hordeivirus</i>	Amérique, Europe, Corée, Chine, Ex URSS	Semence, Pollen.	Taches blanches ou jaunes, rayures devenant nécrotiques	Zillensky, 1984 ; Shukla <i>et al.</i> , 1994 Brunt <i>et al.</i> , 1997 ; Wiese, 1998.
Wheat Streak Mosaic Virus	<i>Potyviridae</i> - <i>Tritimovirus</i>	Amérique, Europe, Ex URSS	Acarien : <i>Aceria tulipae</i>	Stries jaunes à vertes, mosaïque sévère ou modérée	Brakke, 1971, in Makkouk et Kumari, 1997 ; Brunt <i>et al.</i> , 1997 ; Wiese, 1998.
Wheat Spindle Streak Mosaic Virus	<i>Potyviridae</i> - <i>Bymovirus</i> .	USA, France, Japon, Inde, Allemagne, Canada.	<i>Polymyxa graminis</i>	Mosaïque verte à jaune en forme de fuseaux.	Slykhuis, 1976 ; Lommel <i>et al.</i> , 1986 ; Brunt <i>et al.</i> , 1997 ; Wiese, 1998
Barley Yellow Mosaic Virus	<i>Potyviridae</i> - <i>Bymovirus</i>	France, Japon, Grande Bretagne	<i>Polymyxa graminis</i>	Jaunissement des feuilles, Stries et mosaïque	Inouye et Saito, 1975 ; Cavelier, 1992 ; Brunt <i>et al.</i> , 1997
Barley Mild Mosaic Virus	<i>Potyviridae</i> – <i>Bymovirus</i>	Italie, Japon, Allemagne, Angleterre	<i>Polymyxa graminis</i>	Idem BaYMV	Cavelier, 1992 ; Adams <i>et al.</i> , 1993. Brunt <i>et al.</i> , 1997
Wheat Soil Borne Mosaic Virus	<i>Furovirus</i>	USA, Japon, Italie	<i>Polymyxa graminis</i>	Mosaïque, rayures, rabougrissement	Zillensky, 1984. Brunt <i>et al.</i> , 1997
Oat Mosaic Virus	<i>Potyviridae</i> ( <i>Bymovirus</i> )	USA, Angleterre, France	<i>Polymyxa graminis</i>	Rabougrissement	Hebert et Panizo, 1975. Cornuet, 1987
Barley Yellow Striat Mosaic Virus	<i>Rhabdoviridae</i> <i>Cytorhabdovirus</i>	Australie, Iran, Italie, France, Maroc	Cicadelle : <i>Laodelphax striatellus</i>	Mosaïque jaune, stries, rougissement à la base des feuilles	Makkouk <i>et al.</i> , 1996 ; Brunt <i>et al.</i> , 1997

De nombreuses tentatives d'estimation ont été effectuées pour mettre en évidence des corrélations entre le taux de transmission des maladies et les pertes de rendement. Ces appréciations sont dans la plupart du temps rendues plus difficiles dans le cas des céréales par le fait qu'on se trouve souvent devant des complexes parasitaires (Cornuet, 1987 ; Astier et *al.*, 2001).

Des dégâts peuvent être également occasionnés par des maladies fongiques et bactériennes dont les principales sont présentées dans le tableau 2.

**Tableau 2.** Principales maladies fongiques et bactériennes sur céréales

Maladies	Céréales attaquées	Agent causal
Maladies fongiques		
Rouille brune de l'orge Rouille noire	Orge Blé, Orge, Avoine, Seigle	<i>Puccinia hordei</i> <i>Puccinia graminis</i>
Rouille jaune Rouille brune	Blé, Orge, Seigle Blé, Orge	<i>Puccinia striiformis</i> <i>Puccinia triticina</i>
Charbon couvert de l'orge Charbon nu de l'orge Charbon nu du blé	Orge Orge Blé	<i>Ustilago hordei</i> <i>Ustilago nuda</i> <i>Ustilago tritici</i>
Fonte de semis de l'orge Fonte de semis de l'orge	Orge Orge, Blé, Seigle	<i>Septoria passerinii</i> <i>Septoria nodorum</i>
Pourriture des racines et du pied	Blé, Orge, Avoine, Maïs	<i>Fusarium roseum</i>
Pietin-Verse	Blé, Orge, Avoine	<i>Cercospora herpotrichoides</i>
Ergot des céréales	Seigle, Orge, Blé	<i>Claviceps purpurea</i>
Oïdium, blanc	Blé, Orge, Avoine	<i>Erysiphe graminis</i>
Helminthosporiose	Orge Blé, Orge, Avoine	<i>Helminthosporium teres</i> , <i>Helminthosporium gramineum</i> , <i>Helminthosporium sativum</i>
Rhynchosporiose	Orge, Seigle	<i>Rhynchosporium secalis</i>
Rhizoctone	Blé, Orge, Avoine	<i>Rhizoctonia solani</i>
<i>Source: Rappilly, 1971; Bovey, 1972; Zillenskey, 1984; Soltner, 1992</i>		
Maladies bactériennes		
Strie bactérienne ou glume noire	Blé, Orge, Triticale, Seigle, autres graminées	<i>Xanthomonas translucens</i> « groupe translucens » ( <i>xanthomonas campestris</i> ) pv <i>translucens</i>
Taches aureoles	Avoine, Seigle, Triticale	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>Caronofaciens</i>
Pourriture des glumes	Blé, Orge, Avoine	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>Atrofaciens</i>
Mélanose de la tige	Blé, autres graminées	<i>Pseudomonas cichorii</i>
Brûlures bactériennes	Blé, Triticale	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>Syringae</i>
Gombose	Blé	<i>Rathaybacter iranicus</i> ( <i>Clavibacter iranicus</i> ou <i>Corynebacterium tritici</i> )
Mosaïque bactérienne	Blé	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp <i>tassellarius</i>
Stalk rot	Maïs	<i>Erwinia chrysanthemi</i> pv <i>Zea</i>
Wilt of maïs	Maïs	<i>Pantoea stewartii</i> ( <i>Erwinia stewartii</i> )
Stalk rot	Maïs	<i>Enterobacter dissolvens</i> ( <i>Erwinia dissolvens</i> )
Tache blanchâtre des feuilles	Blé	<i>Bacillus megatherium ceralis</i>
<i>Source : Zillenskey, 1984 ; Wiese, 1998 ; Belfihadj, 2000</i>		

### **2.1.3. LES CEREALES EN ALGERIE**

#### **2.1.3.1. Superficies, productions et rendements**

La céréaliculture en Algérie est pratiquée dans 4 zones différentes (Boulal et *al.*, 2007) :

- La zone humide et sub-humide des régions littorales et sub-littorales du Centre-Est du pays dont la pluviométrie est supérieure à 600 mm avec une relative bonne distribution.
- La zone semi-aride des plaines telliennes, avec une pluviométrie comprise entre 350 et 500 mm mais dont la distribution est irrégulière.
- La zone sub-aride des hauts plateaux caractérisée par une faible pluviométrie (200-350 mm) et un système à prédominance agro-pastorale avec des altitudes supérieures à 1000 mètres.
- La zone saharienne avec des cultures conduites en irrigation totale, en système oasiens pour 35000 hectares et en irrigué pour 10000 hectares.

Elle est conduite d'une manière extensive sur la quasi-totalité de ces espaces, avec une préparation sommaire des sols et une utilisation insignifiante des engrais et herbicides (Feliachi, 2000). Ainsi, la culture des céréales d'hiver demeure encore difficile à maîtriser tant que celle-ci reste confrontée et soumise à plusieurs contraintes comme les aléas climatiques, la faible maîtrise des itinéraires techniques, l'utilisation limitée des semences de qualité et les pertes à la récolte très élevées (Bendif, 1994 ; Sayoud et Benbelkacem, 1996, Anonyme, 2007). En conséquence, la situation de la céréaliculture se caractérise par une stagnation des rendements, une faiblesse et une grande variabilité interannuelle de la production (Feliachi, 2000 ; Anonyme, 2007).

Les surfaces de blés (blé dur et tendre) et d'orges montrent que ces dernières sont les principales céréales cultivées en Algérie. Les emblavures totales pour les céréales sont restées constantes avec une superficie totale moyenne comprise entre 2,5 et 2,6 millions d'hectares pour la décennie 1995-2005 (FAO, 2005). L'orge, le blé dur et le blé tendre occupent plus de 90% de cette superficie dont moins d'un tiers de superficie reçoit une pluviométrie moyenne supérieure à 450 mm/an.

La production de céréales subit par contre des fluctuations en fonction des années. Elle était de près de 2 millions de tonnes en 1995 et a plus que doublé en 2003 avec une production de 4,2 millions de tonnes et qui est plus ou moins constante depuis. La production en blé (dur et tendre) s'élève à une moyenne de 3 millions de tonnes et celle de l'orge à 1 million de tonnes. De même, le rendement est sujet à des fluctuations et a oscillé de 8 quintaux/hectare en 1995

(FAO, 2005) à 14,7 quintaux/hectares en 2003 (Anonyme, 2003) pour rester constant à 15quintaux/hectares, jusqu'en 2006 (Anonyme, 2006).

L'augmentation de la production est identique à l'augmentation de la population et donc de sa consommation (Catton, 2000). Ainsi, cette dernière est passée de 65 kg en 1967 à 100 kg en 1986 pour atteindre 130 kg en 1996 par habitant concernant la semoule et la farine (Talamali, 2000). Cette situation a entraîné à partir de 1996 des importations couvrant 80% des disponibilités nationales en matière de blé et de produits dérivés (Talamali, 2000). L'Algérie demeure toujours le premier importateur de blé dur dans le monde et le second après l'Egypte pour le blé tendre (Khris, 2007).

### **2.1.3.2. Pathologie des céréales en Algérie**

#### *Principales maladies virales*

Des prospections ont permis de signaler la présence de la jaunisse nanisante de l'orge causée par le Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV) (Sayoud et al, 1999). Trois souches, de ce virus ont été identifiées à savoir : la PAV, la MAV et la RPV (Makkouk et al., 1996 ; El Yamani et Bencherki, 1996), Wheat Streak Mosaic Virus (WSMV), Wheat Spindle Streak Mosaic Virus (WSSMV), Barley Stripe Mosaic Virus (BSMV) (Boubetra et Mohamedi 1998 ; Boubetra et al., 1999 ; Benmoktar et Kari, 1999). Le virus de la mosaïque modérée de l'orge, Barley Moderate Mosaic Virus (BaMMV) a également été signalé (Belkahla, 2001).

#### *Principales maladies bactériennes*

L'examen de l'état sanitaire d'échantillons de semences de blé dur et de blé tendre a révélé la présence des bactéries de quarantaine dont *Xanthomonas campestris pathovar translusens*, *Pseudomonas syringae pathovar syringae* et *Erwinia chrysanthemi* ainsi que des bactéries du genre *Corynebacterium* (Boukris, 1992). L'identification de *Xanthomonas campestris Pv translusens* a été confirmée sur blé et orge (Belfihadj, 2000), de même que trois autres espèces du genre *Erwinia* soit *Erwinia rhapontici* et *Erwinia chrysanthemi* ainsi que *Patoea stewartii* *SSp stewartii* (Kyous, 2002).

#### *Principales maladies fongiques*

Les maladies fongiques des céréales en Algérie font l'objet de nombreuses études tant dans la recherche des maladies les plus importantes que dans celle ayant trait à la résistance variétale ou aux méthodes de lutte (Boufenar-Zaghouane et Zaghouane, 2006). Les maladies ayant une grave incidence économique sont les caries causées par *Tilletia caries*

et *Tilletia foetida*, la septoriose causée par *Septoria tritici*, la strie foliaire causée par *Pyrenophora graminis* et la rayure réticulée causée par *Pyrenophora terres* (Sayoud et al., 1999 ; Ben Belkacem et Kellou, 2000). Les rouilles, notamment la rouille brune causée par *Puccinia triticina* sur blé et *Puccinia hordei* sur orge peuvent causer d'importantes pertes de production pouvant atteindre 25%. La rouille noire causée par *Puccinia graminis* est moins fréquente mais est la plus redoutable en cas d'attaque (Sayoud et al., 1999). En 2004, une attaque sévère de rouille jaune (*Puccinia striiformis*) sur blé tendre a causé des pertes élevées allant parfois jusqu'à 100% dans les régions du Centre Est du pays (Boulal et al., 2007). D'autres maladies sont d'une importance relative comme les pourritures racinaires causées par *Fusarium sp*, l'helminthosporiose causée par *Pyrenophora tritici-repentis* et les charbons causés par *Ustilago sp* (Benslimane, 2003).

## **2.2. LE BARLEY STRIPE MOSAIC VIRUS (BSMV)**

### **2.2.1. HISTORIQUE DU BARLEY STRIPE MOSAIC VIRUS**

La mosaïque striée de l'orge est l'une des rares viroses des graminées transmises par semence. Les symptômes causés par cette maladie sont observés dès 1910 en Amérique du Nord et les échantillons collectés illustrant ces symptômes datent de 1913 (Nutter et al., 1984).

Le nom de " false stripe " a été donné à cette dernière en 1924, par Connors pour la distinguer des symptômes causés par *Dreschlera graminea* ( Connors,1924 in Jackson et Lane, 1981). Mc Kinney en 1951 a découvert la nature virale de cette maladie ( Phatak, 1974; Jackson et Lane, 1981).

A partir de son apparition en Amérique du Nord, le virus s'est répandu à travers le monde (Angleterre, France, Allemagne, Australie, Pakistan, Russie, Yougoslavie, Jordanie) par les échanges commerciaux de semences d'orge infectées (Phatak, 1974 ; Dan Niffenger et al., 1974 ; Anonyme 1983 ; Edwards et Steffenson, 1996).

### **2.2.2. IMPORTANCE ECONOMIQUE**

Les pertes de rendements causées par le BSMV sont observées depuis longtemps. Elles dépendent aussi bien de la proportion des plantes infectées ayant perdu leur vigueur et

produisant de petits épis, des fleurs stériles et des graines ridées que de la souche du virus impliquée et de la variété d'orge infectée (Engsbro, 1977 ; Jackson et Lane, 1981). Chez le blé, le BSMV cause la production d'un nombre considérable de semences triploïdes. Leur fréquence dépend du taux d'infection. Ces semences triploïdes engendrent un retard dans la germination, une fragilité des plantes dans les premiers stades de leur développement et une incapacité de survivre jusqu'à la maturité (Neergard, 1979).

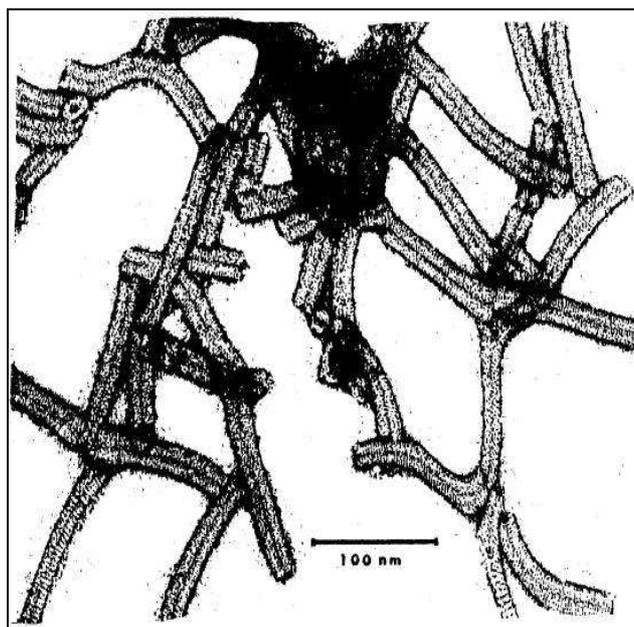
Un essai au champ a montré que les pertes de rendement sont proportionnelles au taux de semences infectées du lot de semences utilisé. Par ailleurs, pour un champ infecté naturellement en Amérique du Nord, les pertes de rendement étaient estimées de 25 à 30 %. En revanche pour des plants inoculés mécaniquement, les pertes de rendements étaient de 90 % (Jackson et Lane, 1981). Une réduction de rendement de 60 % a été rapportée pour la culture d'orge lors d'une expérience en Allemagne. Ce même essai sur la culture de blé a révélé une réduction de 40 à 75 % (Anonyme, 1983). Au cours des années 1953-1970 dans le Montana, les pertes de rendements dues aux BSMV dépassaient 30 millions de dollars et pour l'année 1964, les pertes étaient de 3,1 millions de dollars. Dans le nord du Dakota, la réduction de rendement de 17 à 24 % était liée à une transmission de la maladie par les semences infectées (Gregorio Vazquez et *al.*, 1974 ; Neergard, 1979). Au Japon des études sur l'orge dans des champs destinés à la commercialisation, ont révélé non seulement des chutes de rendements très importantes mais aussi la décision de certains agriculteurs d'arrêter la production d'orge (Jackson et Lane, 1981).

### **2.2.3. DESCRIPTION DE L'AGENT CAUSAL**

#### **2.2.3.1. Structure et propriétés physico-chimiques du BSMV**

Le BSMV est le membre type du groupe des hordeivirus qui comprend deux autres virus, Poa Semi Latent Virus (PSLV) et Lychnis Ring Spot Virus (LRSV) (Van Regenmortel, 1982). En microscopie électronique, le virus de la mosaïque de l'orge se présente sous forme de particules en bâtonnets rigides (Figure 1) (Slack et Shepherd, 1975 ; Makkouk *et al.*, 1995) de plusieurs tailles (Meyer, 1989). Ces particules mesurent 25 nm de diamètre et 100 à 150 nm de long (Hunter et *al.*, 1986 ; Cornuet, 1987 ; Wiese, 1998).

Le BSMV fait partie des virus à ARN monocaténaire multipartite (Tableau 3). Les ARN sont encapsidés séparément. Les particules du BSMV contiennent 96 % de protéines, 0 % de lipides et 3,8 à 4 % d'ARN (Atobekov et Novikov, 1971 ; Jackson et *al.*, 1989).



**Figure 1.** Particules virales du Barley Stripe Mosaic Virus (BSMV) après purification (Jackson et Lane, 1981)

**Tableau 3.** Poids moléculaires des différentes parties composant l'ARN du BSMV

Poids moléculaire x 10 <sup>6</sup> Dalton	Parties d'ARN				Référence
	1	2	3	4	
BSMV	1,40	1,17	1,04	0,93	Jackson et Brakke, 1997
	1,40	1,25	1,15	-	Lane, 1974
	1,43	1,24	1,10	0,98	Palomar et al, 1977
	1,50	1,35	1,20	1,05	Lane, 1974

Source : Jackson et Lane (1981)

Les propriétés physiques du BSMV ont été décrites par plusieurs auteurs (Tableau 4). Les différences observées suggèrent la présence de souches différentes.

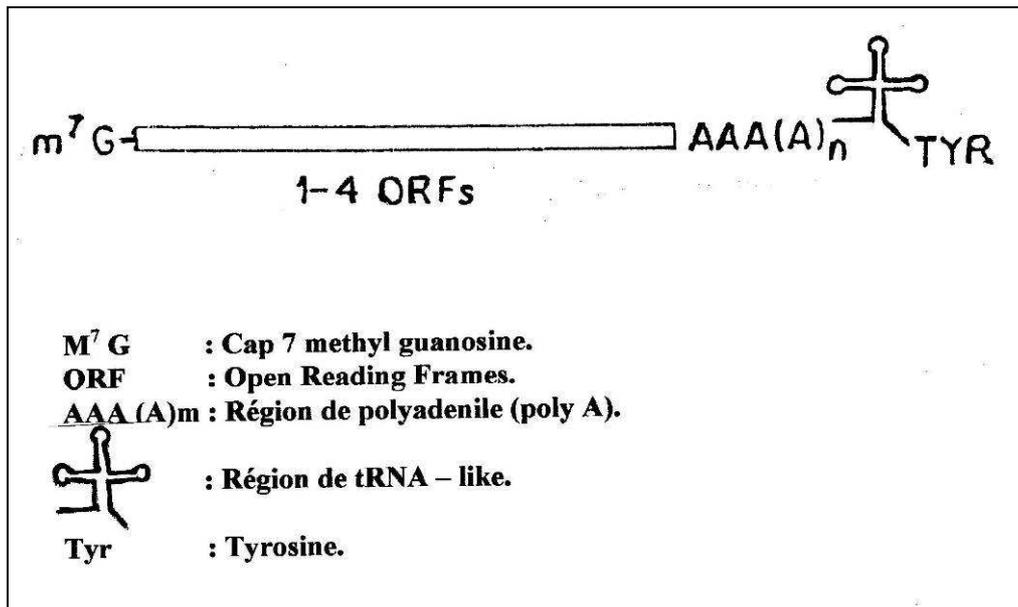
**Tableau 4.** Propriétés physiques du BSMV

Propriété physique	Point finale de dilution	Point d'inactivation thermique	Longévité in vitro	Référence
BSMV	10 <sup>-4</sup>	68	15-22 j	Mc Kinney (1951)
	5.10 <sup>-2</sup> à 10 <sup>-3</sup>	60-65	32 j	Kassanis et Slykuis (1959)
	10 <sup>-3</sup> à 10 <sup>-4</sup>	62-64	8 j	Nitzany et Kenneth (1959)
	10 <sup>-4</sup>	63	18 j	Ohmann-Krentzberg (1962)
	10 <sup>-3</sup> à 2.10 <sup>-3</sup>	62-64	10 j	Bremer (1972)

Source : Jackson et Lane (1981)

### 2.2.3.2. Structure et organisation du génome du BSMV

L'étude de la structure génomique du BSMV a révélé que les ARN<sub>s</sub> partagent plusieurs caractères communs en ce qui concerne les parties non codantes. Chaque ARN du génome possède une coiffe à l'extrémité 5'-Phosphate (Cap 7 méthylguanosine), qui contient la séquence initiale m<sup>7</sup> Gppp GUA (Figure 2).



**Figure 2.** Représentation schématique de l'organisation génomique du BSMV (Jackson et al, 1989 – Edwards, 1995)

A la suite de l'extrémité 5'-Phosphate, les séquences des ARN sont différentes, bien que la longueur des régions non codantes qui précèdent le premier cadre de lecture (ORF : Open Reading Frame) soit presque identique. Un ou plusieurs ORF des ARN codent pour des polypeptides (Jackson et al., 1989). Le  $\alpha$ -ARN possède un ORF qui code pour la replicase (PM = 130 Kda). Le  $\beta$ - ARN code pour la protéine capsid (PM = 22 Kda) et les protéines de mouvement (PM = 60,17 et 14 Kda). Le  $\gamma$ -ARN possède 2 ORFs qui codent pour la polymérase (PM = 87 Kda) et le régulateur de la transcription des gènes du  $\beta$ - ARN (PM=17Kda) (Wiese, 1998).

Immédiatement après la région codante, chaque ARN possède une séquence polyadénylée (poly A) à l'extrémité 3'-OH, dont la longueur est de 8 à 40 nucléotides. Elle se trouve entre la région codante de chaque ARN et une séquence de 238 nucléotides de RNA<sub>t</sub>-like qui peut être amino-acylée *in vitro* avec la tyrosine (Jackson et al., 1989).

Une étude a montré que (Edwards, 1995) :

- L'ARN $\gamma$  (ARN $\gamma$ ) est le site des déterminants primaires de la transmission du virus par la semence. Ces déterminants sont le 5' leader non transcrit et les gènes  $\gamma_a$  et  $\gamma_b$ .
- L'ARN $\beta$  (ARN $\beta$ ), joue également un rôle dans la transmission du virus par la semence, mais à un degré plus faible.
- L'ARN $\gamma$  leader et le gène  $\gamma_b$  semblent en grande partie déterminer l'apparition des symptômes.
- L'ARN $\alpha$  (ARN $\alpha$ ) et l'ARN $\beta$  (ARN $\beta$ ) en interaction complexe avec l'ARN $\gamma$  leader et le gène  $\gamma_b$  semblent avoir un rôle important dans la pathogénécité du BSMV.

### 2.2.3.3. Souches de BSMV

Plusieurs souches du BSMV ont été mises en évidence. Elles se distinguent en fonction des symptômes dont les degrés de sévérité différent sur orge, blé et avoine et de la capacité ou non d'infecter l'avoine, le maïs ou le *Chenopodium amaranticolor* (Jackson et al, 1989). Certaines souches sont instables et s'avèrent très difficiles à maintenir en culture, contrairement à d'autres souches. Timian (1974) a décrit certaines souches qui sont incapables d'infecter certaines variétés d'orge ( Timian 1974 in Jackson et Lane, 1981)

Les souches du BSMV sont nommées Latente, Mild, Moderate, Sévère, Yellow leaf, White leaf, Dwarf et Necrotic. Dans la nature, les infections mixtes de Mild, et Moderate semblent être les plus communes (Anonyme, 1983 ; Atabekov et Novikov, 1971). Elles diffèrent également par le nombre d'ARN que contient chacune d'elle, qui varie entre 2 et 4. La souche américaine et la souche russe possèdent 2 parties d'ARN tout comme les souches C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> provenant du Canada. Les souches du Dakota du nord (ND18, Norwich NW, C<sub>1</sub>, C<sub>4</sub>) possèdent des ARN à 3 parties et les souches Argentina mild (AM) et ND161 des ARN à 4 parties (Francki et al, 1985).

Les récents rapports montrent que l'ARN du BSMV est essentiellement tripartite. Alors que l'ARN des souches Argentina mild et ND161 peut se perdre au cours de son extraction, l'ARN<sub>3</sub> des souches ND18 et NW est stable (Edwards et Timian, 1986).

## **2.2.4. PROCESSUS INFECTIEUX**

### **2.2.4.1. Gamme d'hôtes**

L'orge est le principal hôte naturel du BSMV (Slack et Shepherd, 1975 ; Chiko, 1975). Cependant l'existence de souches de ce virus a permis de provoquer la maladie chez d'autres céréales comme le blé (*Triticum aestivum*), l'avoine (*Avena sativa*) et l'avoine sauvage (*Avena fatua*) (Jackson et *al.*, 1989 ; Edwards et Steffenson, 1996). Le BSMV est facilement transmissible à plus de 120 espèces dont 41 appartenant aux graminées y compris le sorgho, le millet, le ray gras, le maïs, le riz et de nombreuses espèces herbacées.

Les dicotylédones des familles des *Chenopodiaceae* et des *Solanaceae* peuvent être expérimentalement infectées, comme *Chenopodium amaranticolor* (Petty et *al.*, 1994), *C. album*, *C. quinoa*, *Beta vulgaris*, *Spinacia oleracea* et *Nicotiana tabacum* C.V. *Samsun* (Cornuet, 1959 ; Atabekov et Novikov, 1971 ; Smith 1972 ; Phatak, 1974 ; Anonyme, 1983).

### **2.2.4.2. Symptomatologie**

Les symptômes causés par le BSMV su orge et blé dépendent de la souche du virus, du génotype de l'hôte, des facteurs de l'environnement et du mode d'infection. Ces symptômes sont souvent observés 4 à 7 jours après l'infection et consistent en une mosaïque ou des stries jaunâtres ou blanchâtres sur les jeunes feuilles, qui peuvent évoluer par la suite en nécrose. La phase chronique apparaît lorsque l'infection devient systémique. En plus des mosaïques et des stries, d'autres symptômes peuvent se présenter tels que la stérilité des fleurs, le rabougrissement du pistil, l'indéhiscence des anthères et les semences ridées.

Certaines souches de BSMV peuvent infecter quelques dicotylédones montrant souvent des symptômes sous forme de taches chlorotiques ou lésions locales nécrotiques (McKinney, 1951 ; Jackson et Lane, 1981 ; Brunt et *al.*, 1997).

Des études ont montré que les anomalies physiologiques dues à l'infection des plantes par le BSMV entraînaient une réduction remarquable de la chlorophylle et du poids frais des feuilles (Jackson et Lane, 1981 ; Nutter et *al.*, 1984) ainsi qu'une augmentation de la respiration de 50 % à 70 % durant les premières stades d'infection (Nutter et *al.*, 1984).

### **2.2.4.3. Cytopathologie**

Malgré l'abondance des virions dans le cytoplasme de l'orge infecté par le BSMV, les inclusions cristallines comme celles observées en cas d'infection par le virus de la mosaïque du tabac et d'autres virus tubulaires n'ont pas été détectés. Cependant des études sur l'ultra structure des tissus d'orge infectés par le BSMV ont révélé de nombreux virions isolés ou en agrégats dans le cytoplasme, prolifération des membranes des cellules infectées et la présence d'inclusions globulaires (Jackson et Lane, 1981).

Les virions du BSMV peuvent s'attacher aux fuseaux des microtubules durant la mitose et la méiose des cellules infectées. Cet attachement peut être lié au mécanisme par lequel le virus se transmet de la cellule mère à la cellule fille (Mayhew et Carroll, 1974 ; Carroll et Mayhew, 1976b ; Jackson et Lane, 1981). Des altérations de chloroplastes ont également été observées (Jackson et Lane, 1981 ; Francki et *al.*, 1985 ; Adams et *al.*, 1987).

### **2.2.4.4. Epidémiologie**

L'infection par la semence est très importante d'un point de vue épidémiologique, assurant l'association du virus aux plantes cultivées (Masmoudi, 1993). La dissémination du BSMV dans les champs cultivés d'orge est due au transport de la semence, puisque ni mauvaise herbe ni espèce sauvage n'a été reconnue comme étant un réservoir de ce virus. Le BSMV dépend donc de la semence pour sa survie. Cependant, la fréquence de transmission par la graine n'est pas corrélée à la concentration en virus dans les tissus végétatifs et les déterminants majeurs de la transmission par la graine concernent les fonctions de réplication et de mouvement (Astier et *al.*, 2001).

La seule exception d'infection naturelle a été observée sur de l'avoine sauvage retrouvée dans un champ d'orge au Canada. Cette dernière a acquis le BSMV par le contact des feuilles infectées d'orge. Cependant, l'avoine sauvage infectée est trouvée seulement dans le champ d'orge infecté et non au niveau des alentours. Bien que cette dernière constitue un réservoir pour le BSMV, elle n'a pas une grande influence dans l'épidémiologie de la maladie (Chiko, 1975; Jackson et Lane, 1981).

L'incidence du BSMV dans un champ dépend directement de la proportion de semences infectées et résulte aussi pour une grande partie de la transmission mécanique par le

frottement des feuilles infectées sur les voisines qui sont saines. Dans ce cas, plusieurs facteurs influencent la dissémination du BSMV comme la température, la lumière, la densité des plantes, le génotype de l'hôte, la souche du virus et l'interaction plante/virus (Slack et *al.*, 1975 ; Jackson et Lane, 1981).

Les insectes et les organismes du sol ne transmettent pas le BSMV contrairement au pollen. La transmission significative de ce dernier exige une application directe du pollen infecté sur le stigmate du plant mère sain (Carroll et Mayhew, 1976a, Jackson et Lane, 1981). La propagation du pollen infecté n'est pas significative dans l'épidémiologie du BSMV puisque l'orge est autogame. Cependant la transmission par le pollen pourrait devenir préoccupante dans le futur si les hybrides commercialisés sont des orges mâle stériles (Jackson et Lane 1981).

## **2.3. LES VIRUS TRANSMIS PAR SEMENCES, CAS DU BSMV**

### **2.3.1. GENERALITES**

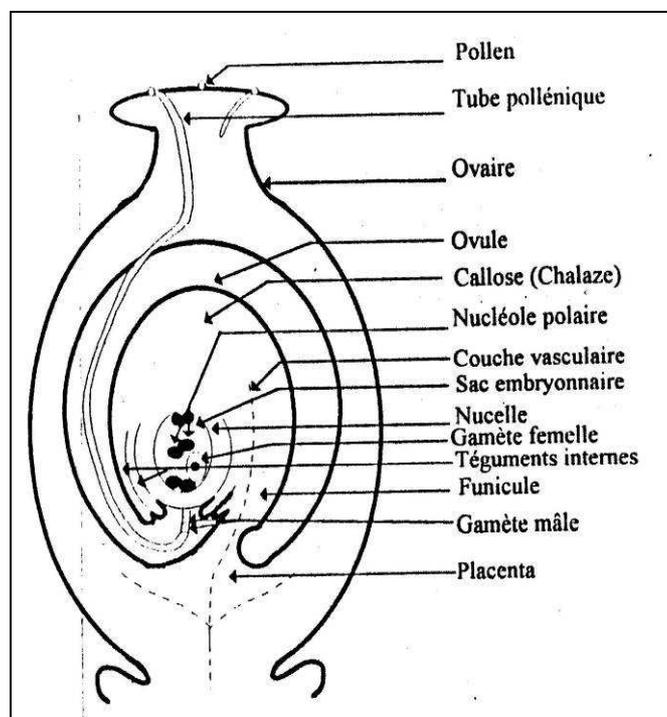
Les virus transmis par la semence sont ceux qui sont transférés d'un endroit à un autre par le biais de cette semence et qui causent l'infection de la plantule issue de la germination de celle-ci. Un virus est dit porté par la semence s'il se trouve dans la semence (embryon et/ou l'endosperme) ou à la surface de celle-ci au niveau des téguments (Neergard, 1979). Le nombre de virus connu transmis par semence croît de plus en plus et atteint le nombre 119 virus (Mandahar, 1981). Ces derniers ont certaines caractéristiques en commun. La majorité d'entre eux est également transmise par inoculation mécanique indiquant ainsi leur capacité à envahir les tissus parenchymateux. Les symptômes causés consistent principalement en marbrures, lésions nécrotiques et taches chlorotiques locales (Stace et Hamilton, 1988).

La transmission par semence joue un rôle dans l'épidémiologie de la maladie qui fournit au virus un moyen de dispersion dans le temps et dans l'espace. Ce phénomène exceptionnel dépend de la souche virale et du cultivar. En effet certaines souches d'un même virus sont capables d'être transmises par semence alors que d'autres ne le sont pas. Par ailleurs certains cultivars permettent cette transmission alors que d'autres ont un taux faible ou nul de transmission (Mink, 1993)

### **2.3.2. MODE DE TRANSMISSION PAR SEMENCE**

La transmission par la graine est le résultat d'une réaction complexe entre l'hôte et le virus. Cette réaction est influencée par les conditions climatiques (Température) et la période du cycle végétatif à laquelle l'infection est établie (Masmoudi, 1993). Une des caractéristiques intéressantes de la relation des virus avec leurs hôtes est le grand degré de protection des embryons des semences contre l'invasion des virus affectant la plante mère (Bennet, 1969). En effet l'infection progresse d'une partie à une autre par les faisceaux du liber et d'une cellule à une autre par les plasmodesmes. Cependant, ces connexions ne paraissent pas exister entre le nucelle et le sac embryonnaire. De plus, le sac embryonnaire présente une paroi, épaissie par la cellulose.

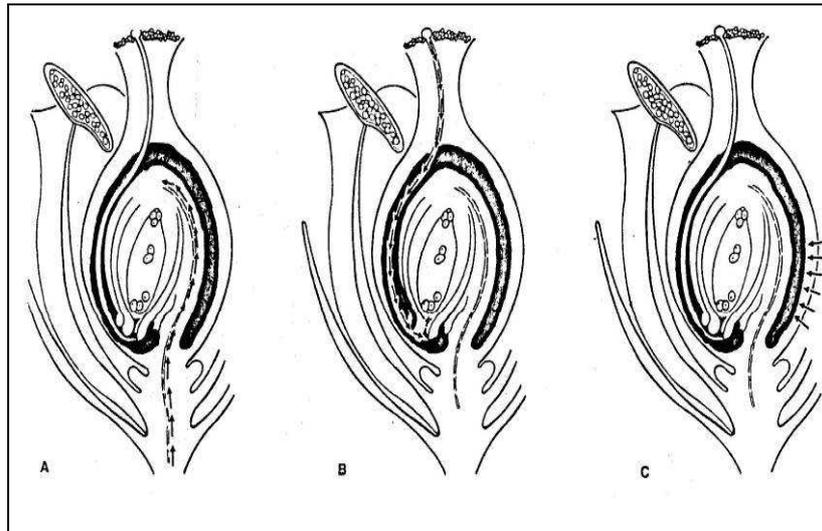
Malgré cette protection, un nombre appréciable de virus passe de génération en génération de sorte que l'infection de l'embryon soit le résultat de l'infection des gamètes à un stade précoce de leur développement (Mandahar, 1981 ; Cornuet, 1987). L'invasion du sac embryonnaire et de l'embryon reflète l'aptitude d'un cultivar à transmettre le virus. Celui-ci y restera stable et gardera son pouvoir infectieux durant la maturation et le stockage et pourra passer ainsi la génération suivante (Figure3) (Masmoudi, 1993). Cette localisation reste essentielle pour une transmission par semence. Une exception est faite pour le Tabacco Mosaic Virus (Tabamovirus TMV) qui se trouve à la surface de la semence de tomate et poivron et qui peut infecter les jeune semis lors de la germination (Mink, 1993).



**Figure 3.** Diagramme représentant l'anatomie de l'ovule et de l'ovaire d'une fleur (MAKKOUK et al, 1995)

L'infection embryonnaire peut avoir lieu par l'une des trois voies (Figure 4) :

- L'introduction dans le sac embryonnaire par le biais du pollen.
- L'invasion directe et occasionnelle de l'embryon pendant les étapes de développement juste après l'initiation embryonnaire.
- L'invasion de l'ovule suite à une infection de la plante mère (Bennet, 1969).



A : Invasion directe à travers les tissus du xylème de la plante mère. B : Invasion indirecte de l'embryon par le pollen infecté.,  
C : Pénétration indirecte par les tissus de la paroi de l'ovaire.

**Figure 4.** Invasion directe et indirecte de l'embryon ( Maude, 1996)

### 2.3.3. VIRUS DES CEREALES TRANSMIS PAR SEMENCES

#### 2.3.3.1. Généralités

Les virus transmis par semences des céréales sont rares et leur transmission varie d'un virus à l'autre. Une très faible transmission est remarquée pour le Wheat Streak Mosaic Virus (WSMV) et Maize Mosaic Virus (MMV) qui appartiennent tous les deux au groupe des potyvirus (Cornuet, 1987).

Par contre, une très forte transmission est observée pour le Maïze Chlorotic Dwarf Virus (MCDV) appartenant au groupe Bromovirus et le Barley Stripe Mosaic Virus (BSMV) appartenant au groupe des hordeïvirus (Mink, 1993 ; Brunt et *al.*, 1997).

### 2.3.3.2. Transmission du BSMV

La nature de la transmission du BSMV est très difficile à caractériser. Plusieurs travaux ont confirmé la transmission par la semence et la localisation du virus dans les organes floraux et les tissus de la semence (embryon et endosperme). Le BSMV infecte l'embryon indirectement par l'ovule et le pollen déjà infecté au stade méristème floral (Bennett, 1969 ; Mayhew et Carroll, 1974 ; Carroll, 1981). Il peut survivre 20 ans dans la semence de blé et encore plus longtemps dans la semence d'orge.

Plus de 90% des souches sont transmises par la semence même si ce virus est facilement transmissible par inoculation mécanique (Atabekov et Novikov, 1971 ; Anonyme, 1983). Des travaux sur des orges infectées par le BSMV ont montré que 50% des progénitures étaient infectées (Mac Kinney, 1951). La transmission par semence a été notée plus sur blé (71%) et orge (87%) issues de plants inoculés mécaniquement. Au Japon, l'inoculation mécanique de variétés sensibles a montré une transmission par semence allant de 2 à 90 %. La transmission par semence d'avoine est généralement plus faible que celle de l'orge et celle du blé et dépasse rarement 10% (Tableau 5).

**Tableau 5.** Taux de transmission du BSMV par semences d'espèces de céréales

Plants hôtes	Taux de transmission	Référence
<i>Hordeum vulgare</i>	58 %	Mc Kinney (1951).
	4 – 64 %	Eslick et Afanasiev (1955).
	38 – 86 %	Inouye (1962).
<i>Lolium sp</i>	3 – 8 %	Inouye (1962).
<i>Triticum aestivum</i>	7 – 81 %	Mc Neal et Afanasiev (1955).
<i>Avena fatua</i>	22 %	Chiko (1975).
<i>Avena sativa</i>	10 %	Mc Kinney et Greeley (1965).
<i>Bromus inernis</i>	8 %	Inouye (1962).
<i>Agropyron elongatum</i>	22 %	Inouye (1962).
<i>Commelina communis</i>	4 %	Inouye (1962).

<i>Hordeum depressum</i>	3 %	Inouye (1962).
<i>Hordeum stebbinsii</i>	58 %	Mc Kinney (1951).

Source : Neergard, 1979

Certaines souches (NSP) du BSMV ne sont pas transmises par semence d'orge ou de blé alors que d'autres souches le sont (ST). Les souches NSP n'infectent pas l'endosperme et l'embryon contrairement à la souche ST. Des études sur la présence de BSMV dans l'ovule et le pollen infectés n'ont pas permis de détecter la souche NSP dans ces derniers, contrairement à la souche ST. Ceci peut être expliqué par l'incapacité de la souche NSP d'infecter le méristème floral et donc l'impossibilité d'infecter l'ovule et le pollen et par la suite la semence (Bennett, 1969 ; Carroll et Mayhew, 1976a ; Jackson et Lane, 1981)

Plusieurs études ont montré que le taux de transmission dépend de :

- La variété de l'hôte, comme pour certaines variétés d'avoine qui ont montré un taux de transmission par semence de 9,5% alors que d'autres variétés de la même espèce n'ont donné aucune transmission du BSMV (Bennet, 1969). Cependant, cette transmission n'est pas toujours en bonne corrélation avec la sensibilité de l'hôte ou les symptômes induits par ce virus (Jackson et Lane 1981).
- La souche virale, comme le taux de transmission de la souche ND18 qui peut atteindre plus de 64% dans la variété d'orge Dickson, tandis que la transmission par semence de la souche CV17 est inférieure à 1% pour le même cultivar (Edwards, 1995).
- Les facteurs environnementaux et particulièrement la température qui joue un rôle important dans la transmission par semence du BSMV. Des travaux réalisés sur 4 variétés d'orge, tolérantes au BSMV, ont montré un taux de transmission de 3% pour une variété et aucune transmission du virus pour les 3 autres lorsque ces variétés sont cultivées à une température de 16°C. Ces mêmes variétés, cultivées à une température de 20°C et 24°C ont montré des taux de transmission allant de 9% à 27% et de 7 à 28% respectivement (Bennet, 1969).
- Temps et origine de l'infection des plantes : des travaux ont montré que la transmission par semence est de 59% si l'origine de l'infection est l'ovule et de 32% si l'origine de l'infection est le pollen. (Jackson et lane, 1981). Pour le temps de l'infection des plants, la transmission par semence est de 71% dans le cas de plants de blé inoculés au stade jeune semis et plus faible à nul durant les autres stades (Timian, 1967).

## 2.4. MOYENS DE LUTTE

La lutte vis-à-vis du BSMV utilise en général deux méthodes, l'élimination systématique des plants infectés et la sélection de génotypes résistants. L'élimination du BSMV dans les lots de semence a commencé au milieu des années 1950 (Jackson et Lane, 1981) au Canada. Une réduction nette de l'incidence de la maladie a été observée et dès 1952, le zéro de tolérance fut exigé pour chaque lot de semences vendu. Ce programme a permis la culture de plusieurs variétés autorisées sur de larges étendues dans plusieurs pays. La méthode de l'élimination implique la combinaison d'outils de détection performants comme les tests, le criblage sérologique sur jeunes semis et le contrôle de plants à partir de semences certifiées. Elle nécessite cependant une surveillance continue des lots de semences pour empêcher la réintroduction du BSMV. Par ailleurs, malgré son succès, la réintroduction de ce virus dans les cultivars a eu lieu et a rendu nécessaire le recours à d'autres moyens de lutte (Jackson et Lane, 1981).

Quatre variétés sont connues comme étant résistantes et figurent parmi la collection d'orge : Moreval (CI 5724), Madjo (CI 3212), Madjo I (CI 14080) et CI 4219. Elles présentent une résistance stable vis-à-vis des différentes souches du BSMV. La résistance de Madjo et Madjo I à la souche California E a montré d'abord qu'elle était contrôlée par un gène récessif. Des études ultérieures ont montré l'implication de deux gènes récessifs. D'autres variétés comme la variété Wien est contrôlée par un seul gène dominant. Ces études suggèrent la présence de différentes sources de résistances vis-à-vis du BSMV (Jackson et Lane, 1981 ; Edwards et Steffenson, 1996). Il faut souligner que les variétés résistantes ne permettent pas une totale éradication du virus du fait des variations des symptômes et le changement rapide de la virulence du BSMV. Cela explique en partie la présence continuelle du virus dans les zones de culture de l'orge (Jackson et lane, 1981 ; Nutter et *al.*, 1984).

# Matériel et Méthodes

### 3. MATERIEL ET METHODES

#### 3.1. MATERIEL VEGETAL

- Des prospections ont été réalisées entre le mois de Mars et Avril 2000, dans les régions du centre et du Nord Est de l'Algérie, au niveau des stations expérimentales de l'INA d'El Harrach, de l'ITGC de Oued Semar et de l'ITGC et de l'ITMA de Sétif. Ces prospections avaient pour but de rechercher et collecter des échantillons de blé dur, blé tendre et orge présentant des symptômes causés par le BSMV (échantillonnage ciblé). Ces symptômes se traduisent par l'apparition de mosaïques ou stries blanchâtres, jaunâtre ou nécrotiques.

Au total, 30 échantillons présentant ces types de symptômes ont été collectés sur différentes variétés de blé dur, blé tendre et orge.

- Des lots de semences de 5 variétés à savoir : (2) blé dur, (1) blé tendre et (2) orge ont été utilisés pour l'analyse sanitaire des semences, ils proviennent de différentes régions du pays (tableau 6).

**Tableau 6.** Variétés utilisées pour la détection du BSMV dans les lots de semences

Espèces	Variétés	Provenance	Année de récolte
Orge	Rihane	ITGC (Oued Smar)	2004
	Saida 1	CNCC (Bouira)	2003
	Saida 2	CNCC (Berrouaghia)	2003
Blédur	Chen's	CNCC (El Khemis)	2003
	Belliouni3848	ITMA (Setif)	2000
Blé tendre	HD 1220	CNCC (Blida)	2003

- L'étude du pouvoir pathogène a été effectuée sur deux variétés Saida et Acsad60 d'orge, très cultivées en Algérie et ayant montré dans des travaux antérieurs des infections vis-à-vis du virus ( Boubetra et Mohamedi, 1998 ; Benmokhtar et Kari, 1999).

#### 3.2. SERUMS ET CONJUGUES UTILISES

Les sérums et conjugués utilisés lors de cette étude proviennent de deux sources différentes

- Le sérum anti-BSMV a été produit et gracieusement fourni par le laboratoire de virologie de l'ICARDA (Syrie). Il est utilisé à une dilution au 1/1000<sup>e</sup> dans le tampon de fixation. Le conjugué utilisé est un conjugué universel qui a été produit par le laboratoire de virologie de l'INA (M<sup>me</sup> Aitouda) et est constitué d'IgG chèvre anti-lapin couplé à la phosphatase alcaline. Il est utilisé à une dilution au 1/500<sup>e</sup> dans le tampon PBS-Tween (0,1 M, pH 7,8).
- Le kit de détection du BSMV utilisé est celui proposé par la firme AGDIA (France). Il contient des plaques de microtitration au fond desquelles les IgG anti-BSMV sont fixés, le conjugué (IgG chèvre anti-lapin) couplé à la phosphatase alcaline, le tampon du conjugué (ECI) pH 7,4, un témoin positif et le tampon de révélation et le substrat (PNPP).

### **3.3. METHODES SEROLOGIQUES UTILISEES**

Trois méthodes ont été utilisées au cours de cette étude et dérivent des techniques immuno-enzymatiques de type ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) : la méthode indirecte ACP-ELISA, la méthode directe ou DAS-ELISA et la méthode sur membrane TBIA. La composition des tampons et solutions des différentes méthodes est présentée en annexe 1.

#### **3.3.1. TECHNIQUE IMMUNO ENZYMATIQUE ACP-ELISA**

La fixation des IgG spécifiques aux antigènes préalablement adsorbés sur la plaque, est révélée par la réaction enzymatique du conjugué universel, en présence du substrat de la phosphatase alcaline, le PNPP (Paranitrophenyl Phosphate).

Le protocole utilisé est celui proposé par Makkouk et *al.* (1995) avec des modifications selon le protocole proposé par Ternyck et Avrameas (1987) (Planche 1).

**Planche 1 : Protocole du test ACP- ELISA (Antigene coated plate)**

1. Déposer 100 µl d'antigènes dilués dans le tampon carbonate-bicarbonate 0,1 M, pH 9,5
2. Incuber 4h à 37° C
3. Laver au PBS-T à raison de 3 bains de 5mn d'intervalle.
4. Ajouter 100 µl de la solution de saturation (Solution de gélatine à 0,5%)
5. Incuber 30mn à 37° C
6. Laver comme en 3.
7. Ajouter 100 µl d'anticorps dilués au 1/1000<sup>e</sup> dans le tampon PBS –T (PBS - Tween, 0,1 M, pH 7,8)
8. Incuber une nuit à 4°C
9. Laver comme en 3
10. Déposer le conjugué universel dilué au 1/500<sup>e</sup> dans le tampon PBS-T
11. Incuber 1-2h à 37° C
12. Laver comme en 3
13. Révéler par addition du substrat PNPP à raison de 1 mg/ml dans le tampon diéthanolamine, pH 9,8
14. Incuber à température ambiante 30 –60 min ou plus
15. Lecture des DO au spectrophotomètre à 405 nm
16. Arrêter la réaction au NaOH 3M.

**3.3.2. TECHNIQUE IMMUNO-ENZYMATIQUE DAS-ELISA**

Le conjugué est dilué au 1/100<sup>e</sup> dans le tampon ECI. La révélation est réalisée par addition de PNPP dilué dans le tampon diéthanolamine (planche2).

**Planche 2:** Méthode DAS-ELISA préconisée par AGDIA (France)

1. Les plaques du Kit Pathoscreen sont déjà fixées par les IgG anti-BSMV
2. Dépôt de 100µl d'antigènes et de témoins positif et négatif, dilués dans le tampon d'extraction pH 7,4.
3. Incubation pendant 2 heures à température ambiante (20° C) ou toute la nuit à 4° C.
4. Lavage des plaques 4 à 8 fois avec du PBS-Tween pH 7,4.
5. Dépôt de 100µl d'IgG couplés à la Phosphatase alcaline dilués dans le tampon ECI, pH 7,4 au 1/100°.
6. Incubation 2 heures à température ambiante.
7. Lavage des plaques 4 à 8 fois avec du PBS-Tween pH 7,4.
8. Révélation de la réaction par addition du substrat PNPP dilué dans le tampon diéthanolamine pH 9,8.
9. Incubation 30 à 60 minutes à l'obscurité.
10. Arrêt de la réaction par addition de 50µl de NaOH dans chaque puits.
11. Lecture des plaques à 405nm.

**3.3.3. TECHNIQUE IMMUNO-ENZYMATIQUE TBIA**

Le protocole suivi est décrit par Lin et *al.* (1990) et Hsu et Lawson (1991) et est présenté en planche 3. Le sérum anti-BSMV utilisé est celui fourni par l'ICARDA et est dilué au 1/500° et le conjugué universel au 1/1250°. Le substrat de la phosphatase alcaline utilisé est le NBT-BCIP (Nitro Blue Tetrazolium ; 5-Bromo 4-Chloro 3-IndolPhosphate).

La lecture de la réaction est effectuée à l'œil nu et à la loupe binoculaire qui permettent de visualiser les dépôts de substrat et donc la présence du BSMV dans les tissus foliaires.

**Planche 3 : Tissue Blot Immuno Assay (Lin *et al*, 1990 ; Hsu et Lawson, 1991)**

1. Excision des tissus (feuille, pétiole, tige, racine) avec une lame stérile pour obtenir des coupes transversales uniformes (les feuilles sont enroulées en cigare avant la coupe).
2. Application douce des parties coupées sur la membrane de nitrocellulose
3. Lavage de la membrane dans du PBS-Tween (3 bains à 5mn d'intervalle)
4. Blocage des sites à l'aide de PolyVinyl Alcool (1ug /ml) dilué dans du PBS-Tween pendant 1mn à température ambiante.
5. Lavage Idem 3
6. Addition de sérum dilué dans le tampon anticorps (anti-body buffer) et incubation 1 à 2 heures à température ambiante.
7. Lavage Idem 3
8. Addition du conjugué dilué dans le tampon conjugué (conjugate buffer) et incubation à température ambiante durant 1 heure
9. Lavage Idem 3
10. Addition du substrat NBT/BCIP à raison de 200 µl/10ml du tampon du substrat
11. Incuber 10 à 15 minutes
12. Arrêter la réaction par lavage de la membrane avec de l'eau distillée
13. Laisser sécher la membrane, puis observer sous la loupe binoculaire

### **3.4. IDENTIFICATION DU BSMV DANS LES VARIETES DE BLE ET D'ORGE**

#### **3.4.1. IDENTIFICATION DANS LES ECHANTILLONS COLLECTES EN PLEIN CHAMP**

##### **3.4.1.1. Préparation des échantillons**

Les 30 échantillons des 24 variétés de blé et d'orge ont été soumis à un criblage sérologique. Les fragments de feuilles, sont broyés dans un mortier froid en présence de tampon carbonate-bicarbonate 0,1 M PH 9,5 et à raison de 1g de poids frais / 4ml du tampon.

Avant le dépôt sur plaque de microtitration, les extraits sont agités puis laissés au repos pendant deux heures pour une bonne décantation à 4°C.

### 3.4.1.2. Criblage sérologique et analyse des résultats

La méthode immunoenzymatique retenue pour détecter le BSMV dans les échantillons collectés est la méthode ACP-ELISA.

Pour chaque échantillon, 100 µl sont déposés dans les puits selon un plan de plaque préalablement établi, à raison de 3 répétitions par échantillon. Les lectures des densités optiques (DO) sont effectuées à 405 nm pendant une heure après le dépôt du substrat à l'aide d'un lecteur de plaque de micro-titration.

Le seuil de détection est calculé sur la base des valeurs de DO obtenues pour les témoins négatifs selon la formule :

$$SD = T_{moy} + 3 ds$$

Où SD est le seuil de détection

ds est l'écart-type

$T_{moy}$  est la moyenne du témoin négatif

n est le nombre de répétitions du témoin négatif.

$$ds = \sqrt{\frac{\sum(T - T_{moy})^2}{n-1}}$$

Si la densité optique (DO) de l'échantillon testé est supérieure au seuil de détection, la réaction est considérée comme positive et implique que l'échantillon est infecté par le BSMV.

### 3.4.2. ANALYSE SANITAIRE DES SEMENCES

#### 3.4.2.1. Préparation des échantillons

Un échantillon de 500 graines est prélevé à partir d'un lot de 500 gramme, pour chaque variété et est divisé en 20 groupes de 25 graines en considérant 25 graines, comme un seul échantillon (1groupe). (Makkouk et *al.*, 1992).

Chaque groupe de 25 graines est imbibés dans de l'eau distillée pendant 24 heures. Le complexe albumen –embryon est récupéré et broyé dans le tampon d'extraction (1 g/10 ml). Le témoin positif est également dilué dans le tampon d'extraction.

### **3.4.2.2. Criblage sérologique**

La méthode sérologique utilisée est la méthode DAS-ELISA .Pour chaque échantillon, deux répétitions sont effectuées et déposées dans les puits selon un plan de plaque préalablement établi.

Les lectures des DO sont réalisées à 405 nm pendant une heure après le dépôt du substrat à l'aide d'un lecteur de plaque de microtitration. Le seuil de détection est calculé sur la base des valeurs des DO obtenues pour les témoins négatifs selon la formule :

$$SD = T_{\text{moy}} + 5 ds$$

Si la densité optique (DO) de l'échantillon à tester est supérieure au seuil de détection, la réaction est considérée positive et implique que l'échantillon et donc le groupe est infecté.

## **3.5. ETUDE DU POUVOIR PATHOGENE SUR ORGE**

### **3.5.1. INOCULATION ARTIFICIELLE DES PLANTES DE VARIETES D'ORGE**

Deux essais ont été menés pour l'analyse du pouvoir pathogène sur les deux variétés :

- L'un réalisé par inoculation mécanique permettant d'observer les symptômes induits.
- L'autre réalisé sans inoculation, jouant le rôle de témoin naturel pour évaluer la présence du virus sur des plants non inoculés et estimer le taux de transmission par la semence.

#### **3.5.1.1. Préparation de l'inoculum**

L'inoculum choisi est issu d'une variété de blé dur GTA dur, récoltée au niveau de l'ITGC de Oued Smar et présentant des symptômes de stries jaunâtres discontinues sur l'ensemble de la feuille. Cet échantillon ayant réagi positivement vis-à-vis du sérum anti-BSMV et étant disponible en quantité importante a été retenu comme source de BSMV. Les feuilles de la variété GTA dur de blé dur sont broyées dans le tampon phosphate 0,1M, pH 7,4 à raison de 1g de poids frais pour 4 ml du tampon en présence de carborandum à raison de 1 mg/ml

(Jackson et Lane, 1981). Le jus virosé est ensuite filtré sur étamine et constitue la source d'inoculum.

### **3.5.1.2. Obtention des plants d'orge**

Les variétés d'orge utilisées sont très cultivées en Algérie. Il s'agit des variétés Saïda et Acsad qui ont déjà montré des infections vis-à-vis du virus (Benmokhtar et Kari, 1999). Les graines des deux variétés sont triées à la main, désinfectées à l'hypochlorite de sodium 2% pendant 5 minutes, rincées à l'eau distillée stérile et enfin, séchées sur du papier filtre. Les graines sont ensuite déposées dans des pots en plastiques (diamètre = 20 cm ; hauteur = 25 cm) contenant un mélange de terre et de terreau (2/3-1/3), à raison de 8 graines par pot. 25 pots sont utilisés pour chaque variété et pour chacun des essais. Les 100 pots sont disposés dans une serre en verre permettant de contrôler la température.

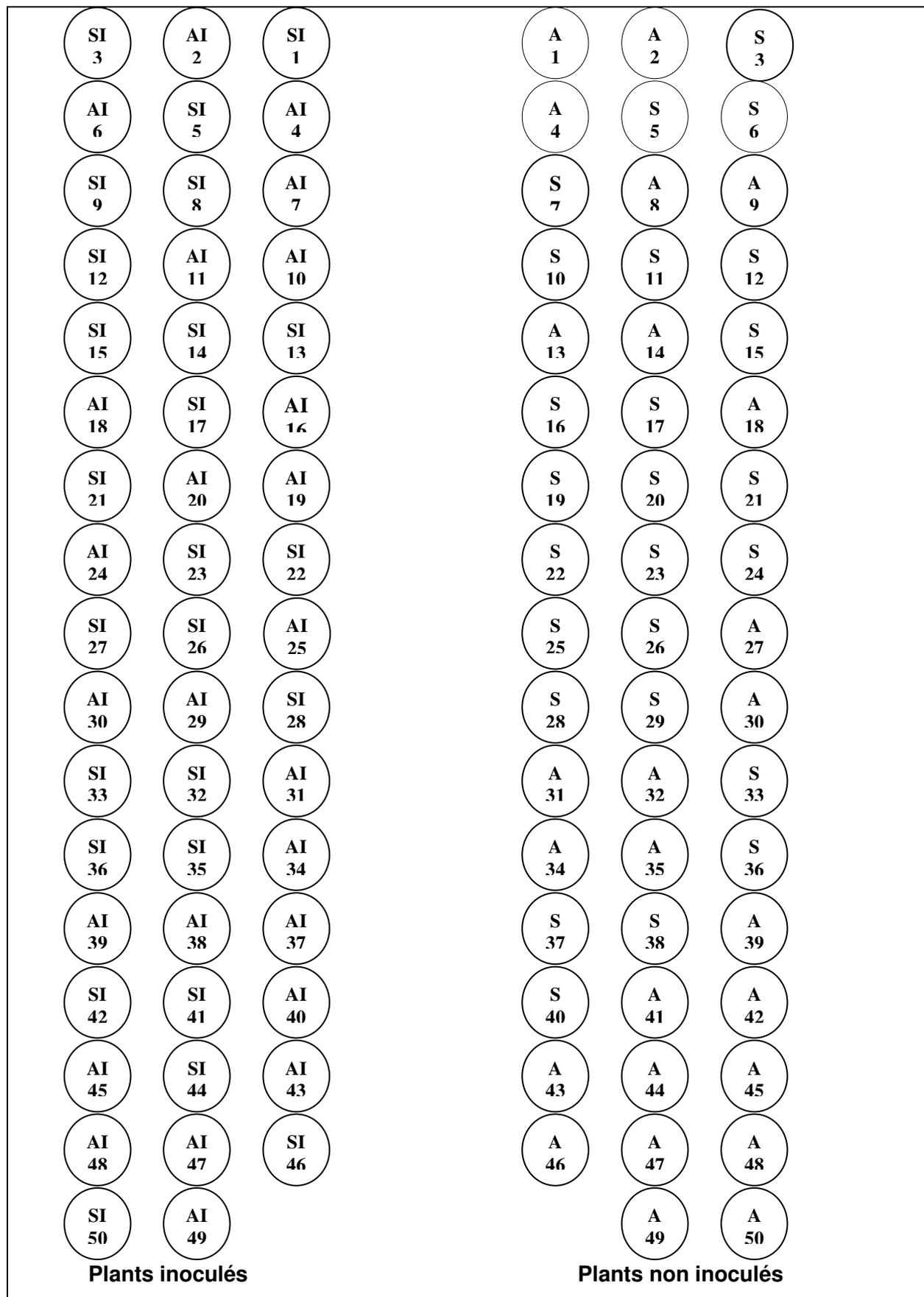
### **3. 5.1.3. Inoculation mécanique**

Les essais sont réalisés selon un dispositif expérimental en randomisation totale (Planche 4). L'inoculum est ensuite appliqué délicatement sur les feuilles des deux variétés au stade de deux à trois feuilles (Slyckuis, 1975).

## **3.5.2. OBSERVATION DES SYMPTOMES**

La notation des symptômes est réalisée chaque jour pour pouvoir suivre leur évolution. Ainsi, les types de symptômes, leur couleur et leur manière de se manifester sur les plants et sur les feuilles sont notés.

**Planche 4 : Dispositif expérimental**



S : Variété Saïda ; A : Variété Acsad ; SI : Saïda inoculée ; AI : Acsad60 inoculée

### **3.5.3. CRIBLAGE SEROLOGIQUE**

L'analyse sérologique (ACP-ELISA) a été réalisée pour l'essai constitué des plants non inoculés et étant considéré comme témoin naturel pour confirmer la présence du BSMV dans les semences des deux variétés. Cependant, certaines plantes inoculées du 2<sup>e</sup> essai ont également été testées.

Chaque échantillon est constitué de 8 fragments de feuille par pot qui sont prélevés sur chacune des 8 plantes du pot.

### **3.5.4. ESTIMATION DU TAUX DE TRANSMISSION PAR SEMENCE**

#### **3.5.4.1. Par le test TBIA**

Les semences proviennent des deux variétés d'orge Saïda et Acsad60 à la suite des deux essais réalisés pour l'étude du pouvoir pathogène. Le semis a été réalisé dans quatre bassines contenant du sol stérilisé (1/4 de sable, 1/4 de terreau, 1/2 de terre végétale). Chaque bassine contient 225 graines provenant de 5 pots différents à raison de 45 graines par pot (3 répétitions de 15 graines). Les bassines sont ensuite placées dans une serre en verre contrôlée. Une fois l'apparition des jeunes plantules, des fragments de feuille sont prélevés et placés l'un sur l'autre de façon à obtenir une série de 15 fragments correspondant à 15 plants d'un même pot (pour une répétition). Ces fragments sont incisés et appliqués sur les membranes de nitrocellulose.

La lecture de la réaction est effectuée à l'œil nu et à la loupe binoculaire qui permettent de visualiser les dépôts de substrat et donc la présence du BSMV dans les tissus foliaires.

#### **3.5.4.2. PAR LE TEST DAS-ELISA**

Un échantillon de 500 graines est prélevé aléatoirement après mélange de toutes les graines récoltées sur les deux variétés d'orge Saïda et Acsad60, à la suite des essais du pouvoir pathogène. Quatre échantillons sont ainsi obtenus correspondant aux variétés Saïda inoculée, Saïda non inoculée, Acsad60 inoculée et Acsad60 non inoculée.

La préparation des échantillons, la méthode sérologique et le seuil de détection utilisés voir (page 26 et 27). Les témoins négatifs, ayant subi le même traitement, proviennent de lots de graines des deux variétés Acsad60 et Saida, révélés antérieurement négatifs par le test ACP-ELISA et donc, indemnes de BSMV. Le témoin positif est également dilué dans le tampon d'extraction.

### 3.5.4.3. CALCUL DU TAUX DE TRANSMISSION

Le pourcentage de transmission par semence est calculé après la lecture des résultats à 405nm et selon la formule préconisée par Maury et *al.* (1985) :

$$P=1-(Y/N)^{1/n}$$

Où P : taux d'infection=Taux de transmission par semence

Y : nombre de groupes sains

N : nombre total des groupes testés

n : nombre de graines par groupe

### 3.5.5 ANALYSE STATISTIQUE

Le logiciel STATISTICA a été choisi pour l'analyse des résultats, concernant l'étude de du pouvoir pathogène sur les deux variétés (Acsad 60 et Saida) dans le cas des deux essais (inoculé et non inoculé), ainsi que pour les résultats du taux de transmission par semence obtenus par le test TBIA pour ces deux dernières dans les conditions d'infection naturelle et artificielle.

Nous avons procédé pour l'interprétation des résultats à l'analyse de la variance, au seuil de signification de 5%. Si la probabilité calculée est inférieure à ce seuil, ceci implique l'existence d'un effet significatif et si la probabilité est supérieur ou égale à ce seuil, l'effet est considéré non significatif.

Ainsi, si les effets qui ont été révélées sont significatif, on complète l'analyse par l'étude de la plus petite différence significatif (PPDS) ou (LSD) Lower significant difference qui va nous permettre de savoir à quel niveau il y'a différence entre les moyennes.

Le pourcentage des plants présentant les deux types de symptôme sur les deux variétés d'orge et le pourcentage de jeunes semis réagissant positivement au test TBIA ont subi une transformation de variable dite « transformation angulaire :  $2 \text{ Arc sinus } \sqrt{x/n}$  », vue la

variabilité des données obtenues au sein de la même variété. Ainsi, cette transformation est utilisée pour assurer une certaine égalité des variances tout en diminuant la variation au sein d'une même population à fin d'exploiter les lois statistiques entre autres l'analyse de la variance appliquée au cours de cette étude (Dagnelie, 1975).

# Résultats et Discussion

## **4. RESULTATS ET DISCUSSION**

### **4.1. ANALYSE DE LA PRESENCE ET DE L'IMPORTANCE DU BSMV**

#### **4.1.1. ANALYSE EN PLEIN CHAMP**

##### **4.1.1.1. Observation des symptômes**

Les différentes prospections réalisées en plein champs sur cultures de blé dur, blé tendre et orge, ont permis de collecter 30 échantillons sur la base des symptômes typiques de ceux causés par le BSMV. Trois types de symptômes ont été observés : des stries, des mosaïques et des marbrures (Tableau 7).

Les symptômes les plus dominants correspondent à des taches et stries courtes discontinues qui ont été observés pour 21 échantillons (Photos 1, 2, 3). 17 échantillons présentent des stries et taches jaunâtres alors que les autres échantillons présentent des stries et taches verdâtres (3 échantillons) et blanchâtres (1 échantillon).

##### **4.1.1.2. Criblage sérologique**

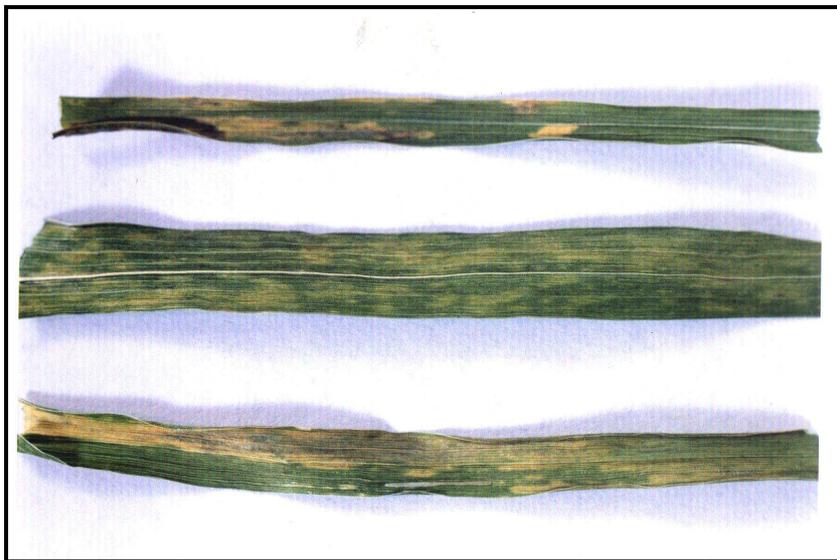
Les résultats des tests sérologiques sont présentés en tableau 7. Trois essais différents ont été réalisés durant cette expérimentation dans la mesure où les prospections n'ont pas toutes été réalisées en même temps. Cette procédure explique les trois seuils de détection retrouvés (SD: 0,1077 ; 0,099 ; 0,1571).

L'analyse des DO obtenues pour les 30 échantillons montre que le BSMV est présent uniquement dans 4 échantillons :

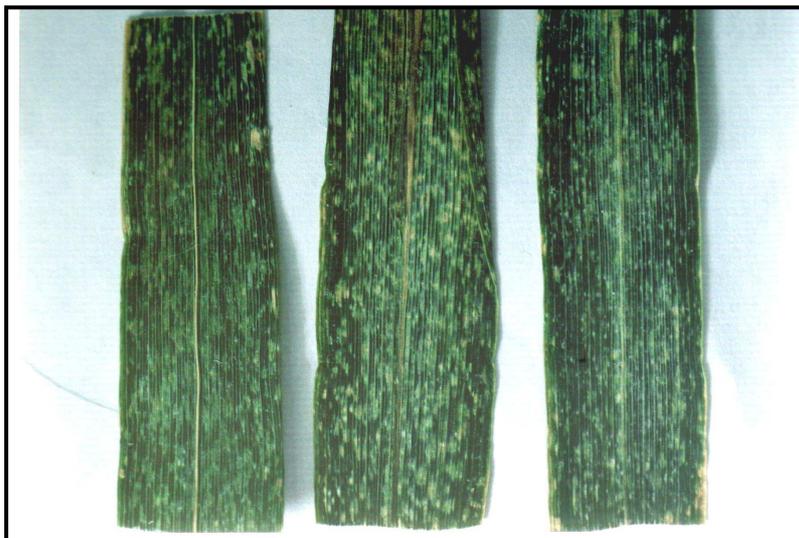
- Sur les variétés de blé dur : deux réactions positives sont observées pour les variétés Belliouni 3848 ( $DO_{moy} 0,3215/SD 0,1077$ ) et GTA dur ( $DO_{moy} 0,4555/SD 0,1571$ ).
- Sur blé tendre : l'unique variété analysée, Hiddab a montré une réaction positive ( $DO_{moy} 0,152/SD 0,1077$ ).
- Sur orge : une réaction positive est obtenue pour la variété Rihane ( $DO_{moy} 0,141/SD 0,1077$ ).



**Photo 1.** Symptôme de stries jaunâtres (a) évoluant en stries brunâtres (b) observé sur feuilles de blé dur de la variété Sahel (ITGC–O. Smar)



**Photo 2.** Symptôme de stries discontinues jaunâtres (a) et dessèchement des bordures foliaires (b) observés chez la variété Belliouni 3848 (ITMA–Setif)



**Photo 3.** Symptôme de mosaïques punctiformes verdâtres observé sur feuilles d'orge de la variété Rihane (ITGC–O. Smar)

**Tableau 7.** Observation des symptômes et criblage sérologique des échantillons d'orge et de blé collectés

Espèces	Echantillons	Provenance	Sérologie			Symptômes
			DO <sub>moy</sub> ± Et	Seuil de détection	Réaction	
Blé dur	Belliouni 3848	ITMA-Sétif	0,3215±0,00071	0,1077	+	Stries discontinues jaunâtres
	Ofanto	// //	0,101±0,0014		-	Stries discontinues jaunâtres
	Belliouni	// //	0,102±0,0014		-	Taches jaunâtres
	1106 OP	// //	0,0925±0,00071	0,099	-	Marbrures jaunâtres
	1222OT	// //	0,1335±0,0035	0,1571	-	Taches jaunâtres
	Vitron	// //	0,1215±0,0047		-	Taches jaunâtres
	GTA dur	// //	0,143±0,0000			Mosaïque ponctiformes verdâtres
	Bousselem	// //	0,125±0,0028		-	Stries courtes jaunâtres
	Ciprus	// //	0,1395±0,00071		-	Stries courtes jaunâtres
	1015 OG	// //	0,129±0,0014		-	Stries courtes jaunâtres
	MBB	// //	0,127±0,0000		-	Mosaïques ponctiforme verdâtres
	INRA 69	ITGC-OS	0,0935±0,00071	0,1077	-	Taches jaunâtres
	WAHA	// //	0,0965±0,0021		-	Taches jaunâtres
	Vitron	// //	0,0965±0,0021		-	Mosaïques ponctiforme verdâtres
	Sahel 77	// //	0,1045±0,0035		-	Mosaïques ponctiforme blanchâtres
	Sahel	// //	0,090±0,0000	0,099	-	Stries courtes jaunâtres et brunâtres
	Bidi 17	// //	0,0885±0,0021	-	Stries courtes jaunâtres	
	Chens	// //	0,090±0,0000	0,1077	-	Taches jaunâtres
	Vitron	// //	0,0995±0,00071		-	Taches verdâtres
	GTA dur	// //	0,4555±0,00071		+	Mosaïques ponctiforme verdâtres
Vitron	INA	0,1165±0,0148	0,1571	-	Mosaïques ponctiforme verdâtres	
Blé Tendre	Hiddab	ITGC -OS	0,152±0,0014	0,1077	+	Stries courtes jaunâtres
Orge	Saida	ITGC-Sétif	0,0935±0,0021	0,099	-	Marbrures jaunâtres
	Saida	// //	0,1175±0,012	0,1571	-	Marbrures jaunâtres
	Tichedrett	ITGC-OS	0,122±0,0070		-	Stries courtes jaunâtres
	Rihane 03	// //	0,1425±0,0091		-	Stries discontinues blanchâtres
	Rebelle	// //	0,142±0,0000	-	Taches jaunâtres	
	Saïda	// //	0,1035±0,00071	0,1077	-	Stries courtes jaunâtres
	Fouara	// //	0,0915±0,0049		-	Stries courtes verdâtres
	Rihane	// //	0,141±0,0000		+	Stries discontinues verdâtres

1222 OT : Ofonto x Travolière; 1106 OP : Ofonto x Primadur; 1015 OG : Ofonto x Gargano; MBB: Mohamed Ben Bachir

#### 4.1.1.3. Discussion

Les différentes prospections ont permis d'observer les symptômes typiques causés par le BSMV et de collecter 30 échantillons montrant des stries et taches, des marbrures et des mosaïques. Ces symptômes correspondent à ceux décrits par plusieurs auteurs (Cornuet, 1959 ; Jackson et Lane, 1981 ; Brunt et *al.*, 1997). Par ailleurs, les différentes colorations, jaunâtres, blanchâtres et verdâtres, ont été observées sur les stries et taches. Ce critère est utilisé pour caractériser les différentes souches du BSMV (Atabekov et Novikov, 1971).

L'analyse sérologique des 30 échantillons a permis de confirmer la présence du BSMV dans deux variétés de blé dur (Bellioni 3848 et GTA dur), l'unique variété de blé tendre testée (Hiddab) et une variété d'orge (Rihane). Ce résultat n'est pas à négliger dans la mesure où les variétés de blé dur Bellioni et de blé tendre Hiddab sont très cultivées en Algérie. La présence du BSMV dans les semences pourrait engendrer des infections importantes par simple contact entre feuilles infectées et feuilles saines. Par ailleurs, le fait qu'il soit transmis par semences, la source d'inoculum existera toujours.

Plusieurs explications pourraient être apportées pour les autres échantillons ayant présentés des symptômes typiques mais ayant montré des réactions négatives lors du criblage sérologique :

- Les symptômes observés lors des prospections peuvent être causés par d'autres virus des céréales (Wiese, 1998), particulièrement le Wheat Streak Mosaic Virus qui cause sur le blé des symptômes similaires à ceux du BSMV (Anonyme, 1983).
- La présence d'une souche de BSMV différente peut également être envisagée et le sérum utilisé n'a pas pu la mettre en évidence (Atabekov et Novikov, 1971 ; Chiko 1984).
- Des travaux ont montré que la soumission des plants de céréales à des troubles physiologiques peuvent causer des mosaïques ou stries ponctiformes blanchâtres, jaunâtres ou verdâtres ressemblant aux symptômes causés par le BSMV (Hamilton, 1965).
- Enfin, le virus pourrait être présent mais à une faible concentration dans les feuilles dans la mesure où leur collecte a été réalisée au stade tallage (début et plein tallage) au mois d'avril et les symptômes n'étaient pas complètement exprimés.

#### 4.1.2. ANALYSE DE LOTS DE SEMENCES DE DIFFERENTES VARIETES DE CEREALES

##### 4.1.2.1. Taux d'infection des lots de semences

Le taux d'infection (ou taux de transmission) par le BSMV, des lots de semences de deux variétés de blé dur (Bellioni 3848, Chen's), une variété de blé tendre (HD1220) et deux variétés d'orge (Rihane, Saïda de Bouira et Saïda de Berrouaghia) a été obtenu à partir d'échantillons de 500 graines subdivisés en 20 groupes et testés en DAS-ELISA pour chacune des variétés. Le calcul du seuil de détection retenu correspond à celui préconisé par Makkouk et *al.* (1992).

Concernant le blé, les réactions sérologiques et le taux d'infection des semences sont présentés dans le tableau 8. Les analyses montrent les résultats suivants :

- Pour la variété Bellioni 3848, la présence du BSMV est détectée dans 12 groupes parmi les 20 analysés et un taux d'infection de 3,6%.
- Pour la variété Chen's, la présence du BSMV est détectée dans 1 groupes parmi les 20 analysés et un taux d'infection de 0,21%.
- Pour la variété de blé tendre HD 1220, la présence du BSMV est détectée dans 4 groupes parmi les 20 avec un taux d'infection de 0,89%.

**Tableau 8.** Réactions sérologiques et taux d'infection des lots de semences de blé

Variété	Groupe	Réactions ELISA			Taux d'infection
		DO <sub>moy</sub> ± Et	Seuil de détection	Réaction	
Bellioni 3848	G1	0,2005±0,00071	0,1425	+	3,6
	G2	0,143±0,0000		+	
	G3	0,206±0,0000		+	
	G4	0,187±0,00000		+	
	G5	0,1835±0,00071		+	
	G6	0,1855±0,00071		+	
	G7	0,1555±0,00071		+	
	G8	0,143±0,0000		+	
	G9	0,206±0,0000		+	
	G10	0,157±0,0000		+	
	G11	0,157±0,0042		+	
	G12	0,1295±0,00071		-	
	G13	0,126±0,0042		-	
	G14	0,130±0,00071		-	
	G15	0,142±0,0042		-	
	G16	0,144±0,0000		+	
	G17	0,139±0,0000		-	
	G18	0,128±0,00141		-	
	G19	0,1225±0,0021		-	
	G20	0,1405±0,0091		-	

<b>Chen's</b>	G1	0,261±0,0000	0,2782	-	0,21
	G2	0,1815±0,0021		-	
	G3	0,201±0,0000		-	
	G4	0,232±0,0000		-	
	G5	0,2165±0,00071		-	
	G6	0,2155±0,0077		-	
	G7	0,1815±0,0021		-	
	G8	0,196±0,0056		-	
	G9	0,1885±0,001		-	
	G10	0,2135±0,00071		-	
	G11	0,2135±0,00071		-	
	G12	0,202±0,0084		-	
	G13	0,1825±0,0034		-	
	G14	0,185±0,0000		-	
	G15	0,182±0,0000		-	
	G16	0,193±0,0042		-	
	G17	0,179±0,0000		-	
	G18	0,320±0,0000		+	
	G19	0,2035±0,00071		-	
	G20	0,2505±0,00071		-	
<b>HD 1220</b>	G1	0,1405± 0,00071	0,1425	-	0,89
	G2	0,175±0,0000		+	
	G3	0,126±0,0056		-	
	G4	0,1285±0,00071		-	
	G5	0,1385±0,0035		-	
	G6	0,142±0,0000		-	
	G7	0,143±0,0000		+	
	G8	0,1295±0,0035		-	
	G9	0,138±0,0028		-	
	G10	0,140±0,0000		-	
	G11	0,1255±0,0063		-	
	G12	0,1375±0,00071		-	
	G13	0,123±0,00424		-	
	G14	0,134±0,0000		-	
	G15	0,1335±0,00212		-	
	G16	0,135±0,0028		-	
	G17	0,1395±0,0021		-	
	G18	0,1545±0,00071		+	
	G19	0,1395±0,00071		-	
	G20	0,171±0,0000		+	

Seuil de détection =  $T_{moy} + 5 ds$

Pour ce qui est de l'orge, les réactions sérologiques et le taux d'infection des semences sont présentés dans le tableau 9.

Les analyses montrent les résultats suivants :

- Pour la variété Rihane, la présence du BSMV est détectée dans 14 groupes parmi les 20 analysés et un taux d'infection de 4,7%.
- Pour la variété Saïda provenant de Bouira, la présence du BSMV a été détectée dans 10 groupes parmi les 20 analysés donnant un taux d'infection de 2,74%.

- Pour la variété Saïda provenant de Berrouaghia, la présence du BSMV est détectée dans 4 groupes parmi les 20 groupes analysés et un taux d'infection de 0,89%.

**Tableau 9.** Réactions sérologiques et taux d'infection des lots de semences d'orge

Variété	Groupe	Réactions ELISA			Taux de transmission (P)
		DO <sub>moy</sub> ± Et	Seuil de détection	Réaction	
<b>Rihane</b>	G1	0,322±0,0000	0,2782	+	4,7
	G2	3,8645±0,00071		+	
	G3	0,887±0,00141		+	
	G4	0,3575±0,02192		+	
	G5	0,2715±0,0502		-	
	G6	3,226±0,0000		+	
	G7	0,269±0,03677		-	
	G8	0,279±0,0212		+	
	G9	0,2065±0,00212		-	
	G10	0,225±0,00989		-	
	G11	0,281±0,00565		+	
	G12	3,6625±0,03464		+	
	G13	0,450±0,0000		+	
	G14	1,587±0,02280		+	
	G15	3,853±0,02545		+	
	G16	3,756±0,0000		+	
	G17	3,0265±0,0629		+	
	G18	0,292±0,00141		+	
	G19	0,1855±0,01907		-	
	G20	0,2195±0,0289		-	
<b>Saïda (Bouira)</b>	G1	0,1355±0,00071	0,1175	+	2,74
	G2	0,120±0,0071		+	
	G3	0,1185±0,0106		+	
	G4	0,1255±0,0092		+	
	G5	0,119±0,0184		+	
	G6	0,120±0,0155		+	
	G7	0,121±0,0014		+	
	G8	0,1205±0,0021		+	
	G9	0,1205±0,0191		+	
	G10	0,108±0,0014		-	
	G11	0,108±0,0014		-	
	G12	0,110±0,0056		-	
	G13	0,550±0,0000		+	
	G14	0,109±0,0056		-	
	G15	0,113±0,0056		-	
	G16	0,1145±0,00071		-	
	G17	0,113±0,0014		-	
	G18	0,1105±0,0092		-	
	G19	0,1125±0,0021		-	
	G20	0,107±0,0028		-	

<b>Saïda Berrouaghia)</b>	G1	0,114±0,0085	0,1175	-	0,89
	G2	0,108±0,0042		-	
	G3	0,106±0,0071		-	
	G4	0,107±0,0014		-	
	G5	0,105±0,0042		-	
	G6	0,1105±0,0021		-	
	G7	0,109±0,0000		-	
	G8	0,1065±0,0035		-	
	G9	0,114±0,0000		-	
	G10	0,117±0,0085		-	
	G11	0,119±0,0056		+	
	G12	0,106±0,0014		-	
	G13	0,113±0,0056		-	
	G14	0,124±0,0155		+	
	G15	0,107±0,0071		-	
	G16	0,1087±0,00071		-	
	G17	0,110±0,0014		-	
	G18	0,148±0,0000		+	
	G19	0,117±0,0000		-	
	G20	0,121±0,0000		+	

Seuil de détection =  $T_{moy} + 5 ds$

#### 4.1.2.2. Variation du taux d'infection en fonction du seuil de détection

L'estimation du taux d'infection des lots de semences par les méthodes immuno-enzymatiques permet non seulement d'obtenir des résultats fiables pouvant être quantifiés mais aussi de proposer des méthodologies simples pour apprécier avec justesse l'état sanitaire des semences, particulièrement concernant les maladies de quarantaine et pouvant être utilisées pour le contrôle et la surveillance.

D'une manière générale, la surveillance des maladies de quarantaine à transmission par semence en utilisant le test DAS-ELISA, et dont la méthode de l'analyse par groupe était adoptée est basé sur les réactions négatives des groupes de semences (25graines par échantillon). Ces réactions reposent sur les moyennes des densités optiques obtenues à 405nm et comparées à un seuil de détection. Ce seuil est calculé en fonction de la moyenne du témoin négatif ajoutée à 2,3 ou 5 fois son écart-type ainsi, il varie d'un utilisateur à un autre, où chacun conçoit que ce dernier est plus précis et plus pratique pour pouvoir donner une analyse générale des résultats obtenus.

Pour cela le taux d'infection varie selon ce seuil de  $T_{moy} + 2ds$  considéré comme un seuil strict, à  $T_{moy} + 3ds$  et  $T_{moy} + 5ds$  considéré comme un seuil souple (Tableau 10). Les résultats montrent que les taux d'infection augmentent lorsque le 1<sup>er</sup> seuil est utilisé pour toutes les

variétés analysées ( Rihane, Saïda de Bouira, Saïda de Berrouaghia, Chen's, HD1220 et Belliouni).

**Tableau 10. Variation du taux d'infection en fonction du seuil de détection**

Variétés	Taux d'infection		
	$T_{moy+2ds}$	$T_{moy+3ds}$	$T_{moy+5ds}$
Rihane	11,3	6,24	4,71
Saida Bouira	5,4	4,12	2,74
Saida Berouaghia	3,15	2,03	0,89
Chen's	2,37	0,89	0,21
HD1220	6,24	4,71	0,89
Belliouni	7,31	5,4	3,6

Pour Rihane et chen's :  $T_{moy+2ds}=0,2065$ ,  $T_{moy+3ds}=0,2304$ ,  $T_{moy+5ds}=0,2782$

Pour Belliouni et HD1220 :  $T_{moy+2ds}=0,1280$ ,  $T_{moy+3ds}=0,1328$ ,  $T_{moy+5ds}=0,1425$

Pour Saida Bouira et Saida Berouaghia :  $T_{moy+2ds}=0,1095$ ,  $T_{moy+3ds}=0,1122$ ,  $T_{moy+5ds}=1175$

#### 4.1.2.3. Discussion

La méthode d'analyse par groupes en utilisant un seuil de détection « souple » a permis de mettre en évidence des taux d'infection des semences des 3 variétés de blé (Chen's, HD1220 et Belliouni) et des deux variétés d'orge (Rihane , Saïda) . Cette méthode est basée sur le nombre total des groupes qui composent le lot de semence testé (20 groupes par variété) et le nombre de graines par groupe (25 graines) (Maury *et al.*, 1985). Ceci signifie que l'estimation du taux de transmission par semence est globale par rapport à la variété testée et qu'il est impossible de connaître exactement le nombre de graines infectées dans un groupe donné. Cette méthode d'analyse par groupe permet une économie de matériel et un gain de temps, ce qui explique son utilisation en test de routine.

En ce qui concerne les variétés d'orge, le taux d'infection le plus élevé, 4,71% a été noté pour la variété Rihane .Ce taux est considéré comme étant un taux moyenne d'infection (Makkouk et al, 1992) ; ce dernier est passé à un taux élevé (11,3%) avec un seuil de détection plus strict ( $T_{moy\pm 2ds}$ ).

Cette variété a montré une très bonne réaction à l'antiserum BSMV , d'après la concentration élevé des densités optiques obtenue avec les groupes (G2, G6, G12,G16 et G17) et qui sont respectivement de l'ordre de 3,8645 ; 3,226 ; 3,6625,3,853 ; 3,756 ; 3,0265.Ceci permet de nous informer sur la concentration du virus qui peut être considéré très élevé au sein du groupe (25 graines).sachant que l'intensité de la coloration est proportionnel à la quantité de l'antigène fixé ; ainsi probablement plusieurs graines constituant l'échantillon sont infectées par le BSMV.

D'après ces résultats, la variété Rihane semble être sensible au virus ainsi que la détection du BSMV sur cette dernière lors des prospections réalisées au cours de notre étude et d'autres travaux (Boubetra et mohamedi, 1998; Benmokhtar et Kari, 1999 et Medjahed, 2006) Pour la variété Saïda , la présence du BSMV est aussi importante du moment que ce dernier a été détecté dans deux régions différentes (Bouira et Berrouaghia ) où on a enregistré des taux d'infections qui ont augmenté avec le seuil ( $T_{moy} \pm 2ds$ ) et qui sont 5,4 et 3,15% respectivement.

Pour ce qui est des variétés de blé, le taux le plus élevé 3,6% est observé pour la variété Belliouni3848. Ce taux est considéré comme un taux moyen d'infection alors que les variété HD1220 et Chen's ont montré respectivement des taux faibles d'infection (Makkouk et al, 1992) 0,89 et 0,21%.

Ainsi, ces taux faibles d'infection ne nous permettent pas de considérer les variétés analysées tolérantes ou résistantes vis-à-vis du BSMV, dans la mesure où seules des études plus approfondies dans l'espace et dans le temps, sont nécessaire pour le confirmer. Ces même taux ont connus des variations lorsque le seuil de détection utilisé est différent ( $T_{moy} \pm 2ds$ ), ainsi les taux d'infection sont de l'ordre de 7,31 ; 6,24 et 2,37 pour les variétés Belliouni3848, HD1220 et Chen's respectivement.

## 4.2. ETUDE DU POUVOIR PATHOGENE DU BSMV SUR ORGE

### 4.2.1. ANALYSE DES SYMPTOMES

#### 4.2.1.1. Symptômes observés sur les plantes non inoculés

##### 4.2.1.1.1. Notation des symptômes

Les symptômes observés sur les plantes infectées en conditions naturelles (témoin positif naturel) des deux variétés d'orge Saïda et Acsad 60 sont notés 21 jours après la germination (Tableau 11). Ces derniers se présentent sous forme de taches blanchâtres et jaunâtres qui évoluent par la suite en petites stries blanchâtres (PSB) et stries plus courtes jaunâtres (SPCJ).

**Tableau 11:** Taux (%) de plantes par pot des deux variétés d'orge présentant l'un des deux symptômes en conditions d'infection naturelles

Variété Saïda				Variété Acsad 60			
N° pot	Symptôme	% de plant montrant le symptôme	2 Arc Sinus $\sqrt{x/n}$	N° pot	Symptôme	% de plant montrant le symptôme	2 Arc Sinus $\sqrt{x/n}$
S3	-	-	-	A1	SPCJ	25,0	60,00
S5	-	-	-	A2	PSB	12,5	41,41
S6	PSB	75,0	120,00	A4	SPCJ	62,5	104,48
S7	PSB	75,0	120,00	A8	-	-	-
S10	PSB	62,5	104,48	A9	-	-	-
S11	-	-	-	A13	SPCJ	62,5	104,48
S12	-	-	-	A14	SPCJ	87,5	138,59
S15	PSB	62,5	104,48	A18	PSB	25,0	60,00
S16	PSB	62,5	104,48	A27	SPCJ	37,5	75,52
S17	-	-	-	A30	SPCJ	62,5	104,48
S19	PSB	87,5	138,59	A31	-	-	-
S20	-	-	-	A32	-	-	-
S21	-	-	-	A34	-	-	-
S22	-	-	-	A35	PSB	25,0	60,00
S23	-	-	-	A39	-	-	-
S24	-	-	-	A41	-	-	-
S25	PSB	75,0	120,00	A42	SPCJ	87,5	138,59
S26	-	-	-	A43	-	-	-
S28	-	-	-	A44	SPCJ	37,5	75,52
S29	PSB	50	90,00	A45	SPCJ	62,5	104,48
S33	-	-	-	A46	-	-	-
S36	SPCJ	12,5	41,41	A47	-	-	-
S37	-	-	-	A48	SPCJ	62,5	104,48
S38	SPCJ	25,0	60,00	A49	SPCJ	75,0	120,00
S40	-	-	-	A50	-	-	-

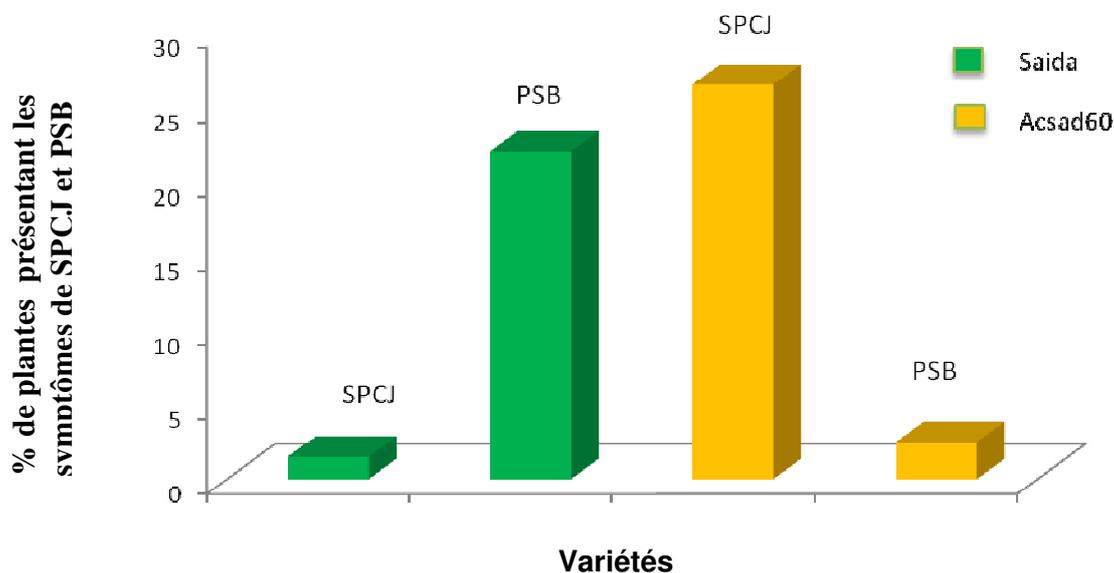
S : variété Saïda ; A : variété Acsad60 ; PSB : Petites stries blanchâtres ; SPCJ : Stries plus courtes jaunâtres.

Ces symptômes ont été observés sur les plants de 10 pots pour la variété Saïda et de 14 pots pour la variété Acsad 60. Les deux types de symptômes ont été observés pour chacune des deux variétés. Cependant, le symptôme de petites stries blanchâtres (PSB) est dominant pour la variété Saïda (Photos 4), alors que le symptôme de stries plus courtes jaunâtres (SPCJ) l'est pour la variété Acsad 60 (Photos 5) (Tableau 12, Figure5). Par ailleurs les deux symptômes se manifestent séparément et ne sont jamais présents ensemble, ni sur la même feuille, ni sur le même plant. Un autre type de symptôme appelé « eyes pot » est observé sur quelques plantes des deux variétés accompagnant le symptôme de petites stries blanchâtre (Photo 6) ou stries plus courtes jaunâtres.

**Tableau 12.** Moyennes de plants présentant les deux types de symptômes sur les deux variétés d'orge en conditions d'infection naturelles

Variétés	Symptômes	Moyennes (%)
Saïda	SPCJ	1,5
	PSB	22
Acsad 60	SPCJ	26,5
	PSB	2,5

PSB: Petites stries blanchâtres, SPCJ: stries plus courtes jaunâtres.



**Figure 5 :** Pourcentage des deux symptômes SPCJ et PSB chez les deux variétés Acsad60 et Saïda non inoculées

#### **4.2.1.1.2. Analyse statistique des résultats**

L'analyse de la variance a révélé un effet significatif (Prob = 0,004399) au seuil de 5%, du facteur variété (Tableau A1, Annexe2).

Ainsi, le test LSD nous a permis de relever la différence significative (Prob= 0,004399) entre l'expression du symptôme de petites stries blanchâtres (PSB) qui est plus importante chez la variété Saida que chez la variété Acsad60 (Tableau A2, Annexe2).

Par ailleurs, l'analyse de la variance pour l'expression du symptôme de stries plus courtes jaunâtres (SPCJ) a révélé un effet significatif (Prob=0,000639) du facteur variété (Tableau A3, Annexe2).

Le test LSD a mis en évidence la différence significative (Prob= 0,000639) de l'expression du symptôme (SPCJ) qui est plus importante chez la variété Acsad60 par rapport à la variété Saida (Tableau A4, Annexe2).



**Photo 4.** Symptôme de petites stries blanchâtres observé sur feuilles de la variété Saïda non inoculée



**Photo 5.** Symptôme de stries plus courtes jaunâtres observé sur feuilles de la variété Acsad 60 non inoculée



**Photo 6.** Symptôme d'eyes-pot observé sur feuilles de la variété Saïda non inoculée

#### 4.2.1.2. Symptômes observés sur les plantes inoculées

##### 4.2.1.2.1. Analyse des symptômes

Les symptômes de taches jaunâtres et blanchâtres sont apparus sur les feuilles des plantes des deux variétés d'orge, Acsad60 et Saïda, 17 jours après l'inoculation mécanique (Tableau 13).

**Tableau 13.** Taux de plantes par pot des deux variétés d'orge présentant l'un des deux symptômes en conditions d'infection artificielles

Variété Saïda				Variété Acsad 60			
N° pot	Symptôme	% du plant montrant le symptôme	2 Arc Sinus $\sqrt{x/n}$	N° pot	Symptôme	% du plant montrant le symptôme	2 Arc Sinus $\sqrt{x/n}$
SI1	SPCJ	37,5	75,52	AI2	SPCJ	87,5	138,590
SI3	SPCJ	25	60	AI4	SPCJ	87,5	138,590
SI5	SPCJ	50	90	AI6	SPCJ	50	90
SI8	SPCJ	37,5	75,52	AI7	SPCJ	100	180
SI9	-	-	-	AI10	SPCJ	100	180
SI12	SPCJ	75	120	AI11	SPCJ	37,5	75,52
SI13	-	-	-	AI16	SPCJ	62,5	104,48
SI14	PSB	75	120	AI18	SPCJ	87,5	138,590
SI15	SPCJ	100	180	AI19	SPCJ	50	90
SI17	SPCJ	87,5	138,590	AI20	SPCJ	87,5	138,590
SI21	SPCJ	62,5	104,48	AI24	SPCJ	37,5	75,52
SI22	SPCJ	50	90	AI25	SPCJ	62,5	104,48
SI23	PSB	37,5	75,52	AI29	PSB	37,5	75,52
SI26	-	-	-	AI30	SPCJ	100	180
SI27	SPCJ	87,5	138,590	AI31	SPCJ	37,5	75,52
SI28	SPCJ	75	120	AI34	SPCJ	50	90
SI32	PSB	75	120	AI37	SPCJ	87,5	138,590
SI33	SPCJ	87,5	75,52	AI38	SPCJ	87,5	138,590
SI35	SPCJ	75	120	AI39	PSB	12,5	41,41
SI36	SPCJ	37,5	75,52	A40	SPCJ	75	120
SI41	PSB	12,5	41,41	AI43	SPCJ	75	120
SI42	PSB	87,5	138,590	AI45	SPCJ	87,5	138,590
SI44	SPCJ	87,5	138,590	AI47	SPCJ	100	180
SI46	SPCJ	87,5	138,590	AI48	SPCJ	100	180
SI50	PSB	62,5	104,48	AI49	PSB	37,5	75,52

SI : variété Saïda Inoculée ; AI : variété Acsad60 Inoculée ; PSB : Petites stries blanchâtres ; SPCJ : Stries plus courtes jaunâtres ;

Leur évolution en stries plus courtes jaunâtres et blanchâtres a commencé à partir du 25<sup>e</sup> jour après l'inoculation mécanique. Les symptômes ont été observés sur les plants de la quasi-totalité des pots des deux variétés, à l'exception de 3 pots pour la variété Saïda.

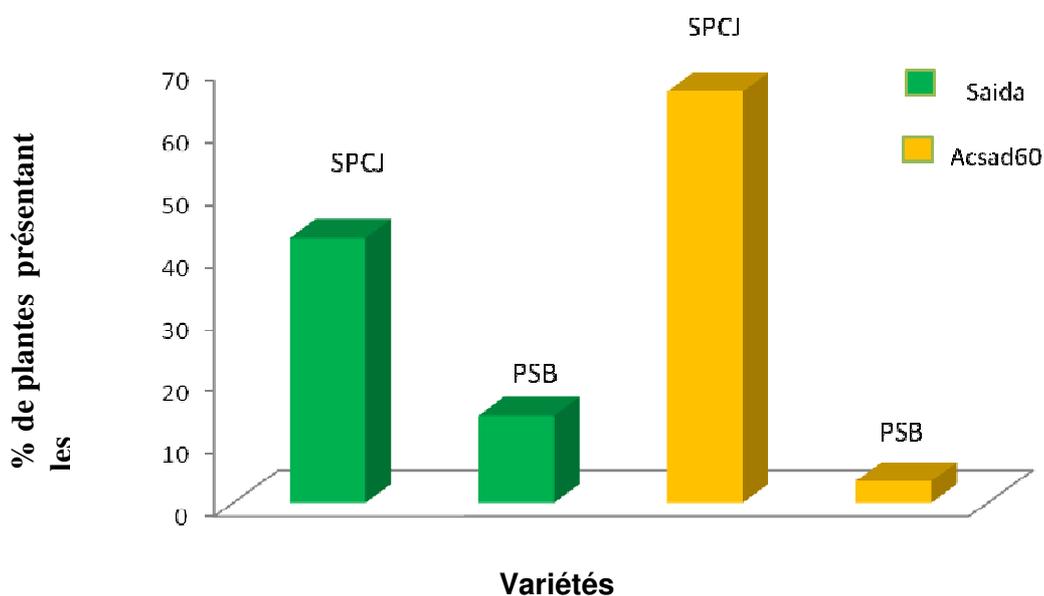
Le symptôme des petites stries blanchâtres se manifeste d'une manière modérée sur les feuilles, avec des stries fines plus longue que celles des stries plus courtes jaunâtres qui se manifestent d'une manière intense sur les feuilles (Photos 7, 8 et 9). Ces derniers ne se présentent pas ensemble ni sur la même feuille ni sur le même plant.

Les deux types de symptômes sont observés sur chacune des deux variétés. Les symptômes de stries plus courtes jaunâtres sont les plus dominants par rapport aux symptômes de petites stries blanchâtres, principalement observés sur la variété Saïda (Tableau 14, Figure 6). Les observations ont également permis de remarquer l'apparition d'un jaunissement systémique sur les feuilles présentant les symptômes de stries plus courtes jaunâtres bien avant ceux observés sur les plantes lors de l'essai avec les plantes non inoculés.

**Tableau 14.** Moyennes de plants présentant les deux types de symptômes sur les deux variétés d'orge en conditions d'infection artificielles

Variétés	Symptômes	Moyennes (%)
Saïda	SPCJ	42,5
	PSB	14
Acsad 60	SPCJ	66
	PSB	3,5

PSB : Petites stries blanchâtres; SPCJ : Stries plus courtes jaunâtre



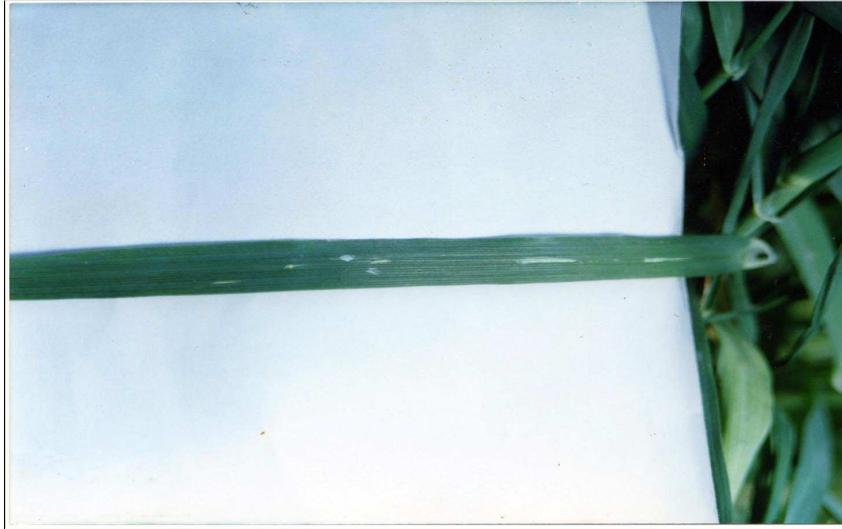
**Figure 6 :** Pourcentage des deux symptômes SPCJ et PSB chez les deux variétés Acsad60 et Saïda inoculées

#### **4.2.1.2.2. Analyse statistique des résultats**

L'analyse de la variance a révélé un effet non significatif (Prob=0,119846) au seuil de 5% du facteur variété, concernant l'expression du symptôme PSB chez les deux variétés Acsad60 et Saida inoculées (Tableau A5, Annexe2).

Par contre, l'analyse de la variance pour l'expression du symptôme (SPCJ) a mis en évidence l'effet significatif (Prob= 0,010450) du facteur variété (Tableau A6, Annexe2).

Ainsi, le test LSD a révélé la différence significative (Prob=0,010450) de l'expression du symptôme (SPCJ) qui est importante chez la variété Acsad60 (Tableau A7, Annexe2).



**Photo 7.** Symptôme de petites stries blanchâtres observé sur feuilles de la variété Acsad 60 inoculée



**Photo 8.** Symptôme de stries plus courtes jaunâtres et eyespot observé sur feuilles de la variété Acsad 60 inoculée



**Photo 9.** Symptôme de jaunissement systémique observé sur feuilles de la variété Acsad 60 inoculée

#### 4.2.1.3. Analyse des résultats par la comparaison des deux essais

Une étude, concernant la comparaison des deux essais, infection naturelle et inoculation artificielle, pour les deux variétés d'orge présentant les deux types de symptômes séparément (PSB et SPCJ) a été réalisée afin de mettre en évidence les différences significatives entre les deux facteurs (Variété et Test) (Tableau 15, Figure 7,8).

**Tableau 15.** Moyennes de plants présentant les symptômes SPCJ et PSB sur les deux variétés d'orge pour les deux essais (plants inoculés et non inoculés)

Variétés	Tests	Moyennes (%)	
		SCJ	PSB
Saïda	NIN	1,5	22
	INO	42,5	14
Acsad 60	NIN	26,5	2,5
	INO	66	3,5

NIN : Non inoculé ; INO : Inoculé

- L'analyse de la variance, des deux variétés d'orge Acsad60 et Saïda inoculée et non inoculées présentant le symptôme PSB a révélé l'effet significatif (Prob=0,001470) du facteur variété (Tableau A8, Annexe2).

Ainsi, le test LSD a mis en évidence les deux différences significatives ( Prob=0,003378) et (Prob=0,00281) de l'importance de l'expression du symptôme PSB chez la variété Saïda non inoculée par rapport à Acsad60 non inoculée et inoculée respectivement (Tableau A9, Annexe2).

- L'analyse de la variance, des deux variétés d'orge Acsad60 et Saïda inoculée et non inoculées présentant le symptôme SPCJ a révélé, les deux effets significatifs du facteur Variété (Prob= 0,00045) et du facteur Test (Prob=0,00000) (Tableau A10, Annexe2).

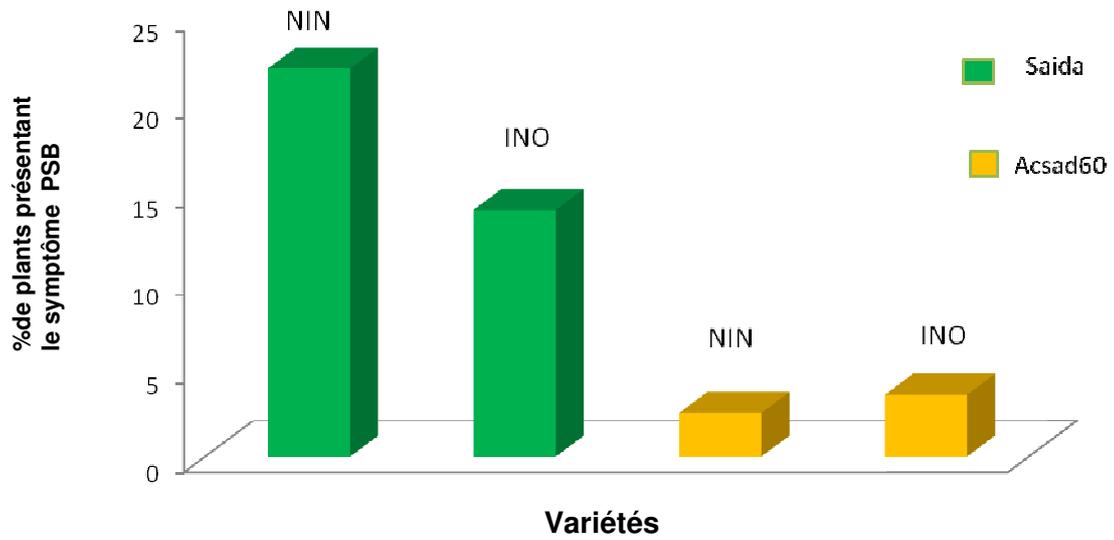
Ainsi Le test LSD a mis en évidence certaines différences significatives à savoir :

- La différence significative (Prob=0,000008) de l'importance de l'expression du symptôme SPCJ chez la variété Saïda inoculée par rapport à Saïda non inoculée et la différence significative (Prob=0,000005) de l'importance de l'expression de ce même symptôme chez la variété Acsad60 inoculée par rapport à Acsad60 non inoculée (Tableau A11, Annexe2).

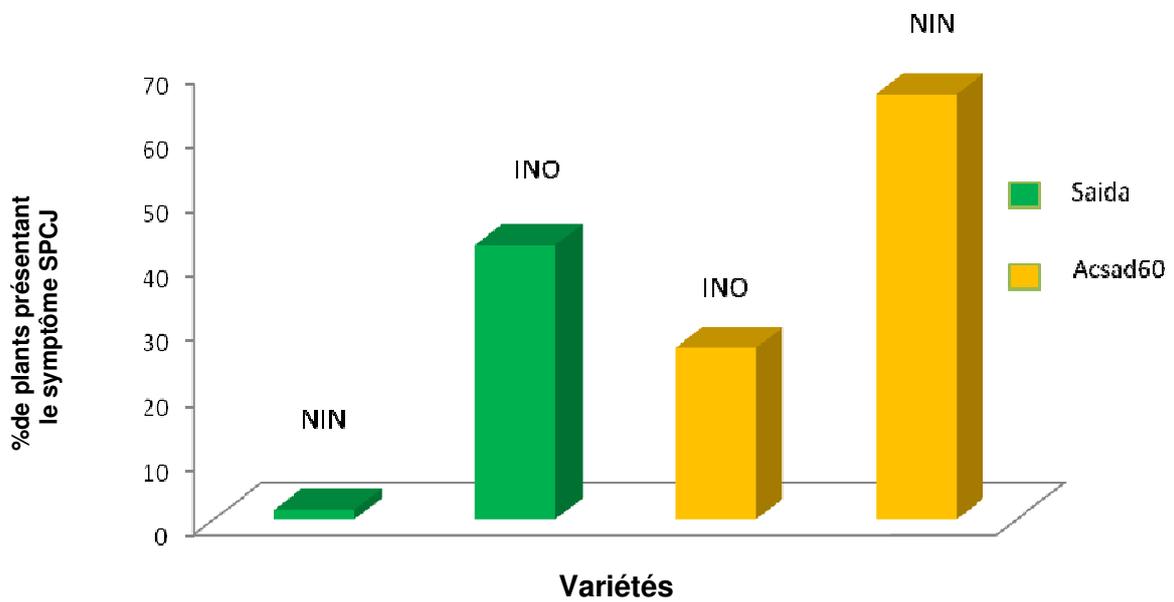
Ces deux différences significatives montrent l'importance du facteur Test (inoculation mécanique) dans l'introduction de la souche provenant de la variété (GTA dur) de blé dur,

induisant le symptôme SPCJ sur les deux variétés d'orges Acsad60 et Saida, contrairement à l'essai mené en condition naturelle où aucune source d'inoculum n'a été apportée et les symptômes observés sont induits par les souches existant déjà dans la semence de ces deux variétés.

- La différence significative (Prob=0,003886) de l'importance de l'expression du symptôme SPCJ chez la variété Acsad60 non inoculée par rapport à Saida non inoculée, et la différence significative (Prob=0,00000) de l'importance de l'expression du symptôme SPCJ chez la variété Acsad60 inoculée par rapport à Saida non inoculée (Tableau A11, Annexe2).



**Figure 7 :** Pourcentage du symptôme PSB chez les deux variétés Acsad 60 et Saïda au niveau des deux essais



**Figure 8 :** Pourcentage du symptôme SPCJ chez les deux variétés Acsad 60 et Saïda au niveau des deux essais

#### 4.2.1.4. Discussion

L'étude du pouvoir pathogène du BSMV vis-à-vis de deux variétés d'orge, Acsad 60 et Saïda a été réalisée sur deux essais, l'un sur des plantes non inoculés et infectées en conditions naturelles et l'autre sur des plantes inoculées par inoculation mécanique. L'analyse a porté sur l'observation des symptômes pour chacun des deux essais et une comparaison de ces derniers sur l'apparition de ces mêmes symptômes.

Au cours des deux essais, deux types de symptômes sont apparus : des petites stries blanchâtres (PSB) et des stries plus courtes jaunâtres (SPCJ) rappelant les symptômes causés par le BSMV sur orge (Jackson et Lane, 1981). La phase chronique est apparue lorsque l'infection est devenue systémique et où les feuilles sont devenues toutes jaunes, semblables à la description de l'évolution des symptômes de cette maladie (Atabekov et Novikov 1971 ; Phatak, 1974 ; Wiese , 1998 ; Brunt et *al.*, 1997).

Les observations montrent d'une part, que l'inoculation a permis le passage du BSMV provenant d'une variété de blé (GTA dur) aux deux variétés d'orge et d'autre part, que la présence des deux types de symptômes, PSB et SPCJ, est systématique pour les deux essais, mais ne sont jamais rencontrés en même temps sur la même feuille ou la même plante. Ces résultats suggèrent, qu'au moins deux souches seraient présentes dans les semences des deux variétés utilisées en conditions naturelles d'infection et dans la source d'inoculum utilisées pour l'inoculation artificielle. L'une exprimerait le type de symptôme PSB et l'autre celui du symptôme SPCJ.

Par ailleurs, les observations ont montré que les deux types de symptômes ne s'exprimaient pas de la même manière et ceux provoquant les petites stries blanchâtres étaient modérés alors que ceux provoquant les courtes stries jaunâtres étaient sévères. Cette hypothèse a déjà été démontrée par l'existence de différentes souches de BSMV en fonction de la sévérité des symptômes et de leur couleur sur orge, blé et avoine et qui sont nommées, Moyenne, Modérée, Sévère, Stries jaunâtres, Stries blanchâtres (Atabkov et Novikov, 1971 ; Wiese , 1998 ; Edwards et Timian, 1986).

En conditions naturelles d'infection, le type de symptôme PSB est rencontré sur la variété Saïda, alors que le type SPCJ est dominant sur la variété Acsad 60, ce qui suggérerait l'existence d'une spécificité entre souches du virus et variétés d'orge. Ceci a été démontré

par l'effet significatif du facteur variété mise en évidence par les analyses de la variance (Tableau A1, A3 et A8, Annexe2) et par les tests LSD (Tableau A2, A4, A9 et A11 Annexe2)

Par ailleurs, en conditions d'inoculation artificielles, le type de symptôme SPCJ a été retrouvé pour la majorité des plants des deux variétés suggérant l'existence de la souche sévère provoquant le type de symptômes SPCJ dans la source d'inoculum et la présence de la souche provoquant le type de symptômes PSB naturellement rencontré dans certaines plantes ayant empêchée l'infection par l'autre souche. Ainsi, l'analyse de la variance a également relevé l'effet significatif du facteur Test (Tableau A10, Annexe2) et le test LSD a fait ressortir la différence significative du symptôme SPCJ qui est plus important dans le cas du test inoculé par rapport au test non inoculé chez les deux variétés (Tableau A11, Annexe2).

Un symptôme nommé « Eyes spot » a été observé sur quelques plantes accompagnant les types de symptômes PSB et SPCJ. Ce dernier pourrait être attribué à une réaction de résistance des plantes vis-à-vis du virus ou à la présence d'une autre souche moins dominante qui se trouverait en association avec d'autres souches comme cela a été suggéré dans le cas de l'infection de l'avoine sauvage par le BSMV (Edwards et Timian, 1986 ; Chiko, 1984).

## 4.2.2. ANALYSE SEROLOGIQUE

### 4.2.2.1. Résultats obtenus

Les résultats du test ACP-ELISA effectué à partir de l'essai réalisés en conditions naturelles d'infection ont permis de confirmer la présence du BSMV dans certains échantillons des deux variétés d'orge (Tableau 16).

Pour la variété Saïda, tous les échantillons présentant le type de symptômes PSB ont montré une réaction sérologique positive alors que celle-ci est négative pour les échantillons ayant présenté le type de symptômes SPCJ. En revanche, pour la variété Acsad60, seuls trois échantillons ont montré une réaction positive et présentaient le type de symptômes SPCJ.

**Tableau 16.** Résultats du test ACP-ELISA sur les plants non inoculés des deux variétés d'orge

Variété Saïda				Variété Acsad 60			
N°pot	Symptôme	DO <sub>moy</sub> ± Et	Réaction	N°pot	Symptôme	DO <sub>moy</sub> ± Et	Réaction
S3	-	0,134 ± 0,0056	-	A1	SPCJ	0,1225 ± 0,00071	-
S5	-	0,1455 ± 0,00071	-	A2	PSB	0,1325 ± 0,0063	-
S6	PSB	0,158 ± 0,0014	+	A4	SPCJ	0,1375 ± 0,00071	-
S7	PSB	0,157 ± 0,0014	+	A8	-	0,1325 ± 0,00071	-
S10	PSB	0,148 ± 0,0000	+	A9	-	0,1355 ± 0,0063	-
S11	-	0,1375 ± 0,0063	-	A13	SPCJ	0,1425 ± 0,0092	-
S12	-	0,140 ± 0,0084	-	A14	SPCJ	0,1535 ± 0,00071	+
S15	PSB	0,154 ± 0,0000	+	A18	PSB	0,1355 ± 0,0035	-
S16	PSB	0,1495 ± 0,00071	+	A27	SPCJ	0,137 ± 0,0084	-
S17	-	0,1465 ± 0,0106	-	A30	SPCJ	0,1415 ± 0,0092	-
S19	PSB	0,1925 ± 0,00071	+	A31	-	0,125 ± 0,0042	-
S20	-	0,1405 ± 0,00071	-	A32	-	0,1295 ± 0,0021	-
S21	-	0,142 ± 0,0084	-	A34	-	0,137 ± 0,00071	-
S22	-	0,1325 ± 0,0063	-	A35	PSB	0,136 ± 0,0056	-
S23	-	0,1415 ± 0,00071	-	A39	-	0,1345 ± 0,0021	-
S24	-	0,147 ± 0,0028	-	A41	-	0,132 ± 0,0056	-
S25	PSB	0,158 ± 0,0056	+	A42	SPCJ	0,1505 ± 0,00071	+
S26	-	0,140 ± 0,0014	-	A43	-	0,1375 ± 0,00071	-
S28	-	0,142 ± 0,0084	-	A44	SPCJ	0,1375 ± 0,00071	-
S29	PSB	0,173 ± 0,0014	+	A45	SPCJ	0,149 ± 0,0000	+
S33	-	0,132 ± 0,0000	-	A46	-	0,138 ± 0,0014	-
S36	SPCJ	0,1365 ± 0,00071	-	A47	-	0,1395 ± 0,0035	-
S37	-	0,1345 ± 0,00071	-	A48	SPCJ	0,1405 ± 0,0035	-
S38	SPCJ	0,130 ± 0,0028	-	A49	SPCJ	0,1455 ± 0,0035	-
S40	-	0,131 ± 0,0028	-	A50	-	0,1365 ± 0,0063	-

PSB : Petites stries blanchâtres ; SPCJ : Stries plus courtes jaunâtres ; A : Acsad60 ; S : Saïda ; DO<sub>moy</sub> : densité optique moyenne ; Et : Ecart type ; seuil de détection = 0,14725

Les résultats du test ACP-ELISA réalisé à partir de l'essai de l'inoculation artificielle ont permis de confirmer la présence du BSMV dans certains échantillons des deux variétés d'orge (Tableau 17). Pour les deux variétés, Saïda et Acsad 60, tous les échantillons analysés présentant les 2 types de symptômes PSB et SPCJ ont montré une réaction sérologique positive.

**Tableau 17.** Résultats du Test ACP-ELISA sur les plants inoculés

Variété Saïda				Variété Acsad 60			
N°pot	Symptôme	DO <sub>moy</sub> ± Et	Réaction	N°pot	Symptôme	DO <sub>moy</sub> ± Et	Réaction
SI1	SPCJ			AI2	SPCJ	0,214± 0,00141	+
SI3	SPCJ	0,210±0,0000	+	AI4	SPCJ		
SI5	SPCJ			AI6	SPCJ		
SI8	SPCJ			AI7	SPCJ	0,282±0,00141	+
SI9	-			AI10	SPCJ		
SI12	SPCJ	0,210±0,0000	+	AI11	SPCJ		
SI13	-			AI16	SPCJ		
SI14	PSB			AI18	SPCJ	0,215 ±0,0071	+
SI15	SPCJ			AI19	SPCJ		
SI17	SPCJ			AI20	SPCJ	0,2175±0,00071	+
SI21	SPCJ			AI24	SPCJ		
SI22	SPCJ			AI25	SPCJ		
SI23	PSB	0,2115±0,00071	+	AI29	PSB		
SI26	-			AI30	SPCJ	0,2175±0,00071	+
SI27	SPCJ			AI31	SPCJ		
SI28	SPCJ			AI34	SPCJ		
SI32	PSB			AI37	SPCJ		
SI33	SPCJ	0,220±0,0000	+	AI38	SPCJ		
SI35	SPCJ			AI39	PSB		
SI36	SPCJ			AI40	SPCJ		
SI41	PSB			AI43	SPCJ		
SI42	PSB			AI45	SPCJ		
SI44	SPCJ	0,215±0,0071	+	AI47	SPCJ	0,214±0,00141	+
SI46	SPCJ	0,213±0,00141	+	AI48	SPCJ		
SI50	PSB			AI49	PSB	0,2175±0,00071	+

PSB : Petites stries blanchâtres ; SPCJ : Stries plus courtes jaunâtres ; AI : Acsad60 Inoculée ; SI : Saïda Inoculée ; DO<sub>moy</sub> : densité optique moyenne ; Et : Ecart type ; seuil de détection = 0,2084

#### 4.2.2.2. Discussion

Des réactions positives ont été observées sur les échantillons provenant des plants des deux variétés d'orge, en conditions naturelles d'infection et en inoculation artificielle. Ces réactions sérologiques ont été observées aussi bien sur les deux variétés, que sur les échantillons présentant les deux types de symptômes, PSB et SPCJ. Ces résultats, confirment que les deux types de symptômes sont induits par le BSMV et le sérum utilisé permet de détecter

éventuellement plusieurs souches du virus. L'obtention de résultats négatifs peut être liée à une concentration peu élevée du virus dans l'échantillon.

Les réactions positives obtenues lors de l'essai en conditions naturelles d'infection pour les deux variétés Acsad60 et Saïda confirment la transmission par semence de la maladie causée par le BSMV puisqu'aucune source d'inoculum n'a été apportée et donc ne pouvait être présente que dans les graines ayant été semées pour l'essai.

#### 4.2.3. ESTIMATION DU TAUX DE TRANSMISSION PAR SEMENCE DES DEUX VARIETES D'ORGE

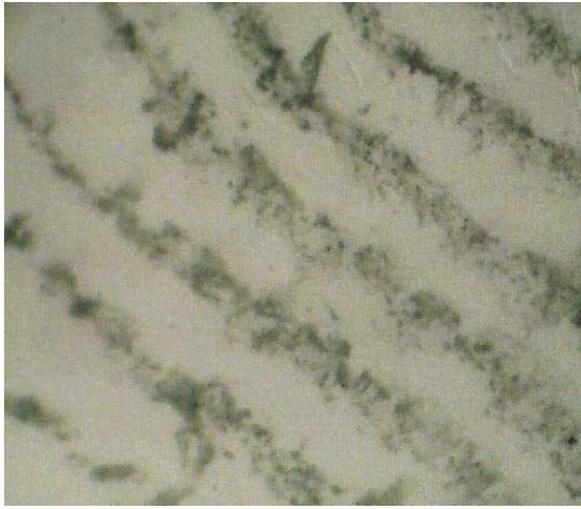
##### 4.2.3.1. Sur jeunes semis par le test TBIA

Le taux de transmission par semence a été obtenu par l'application du test TBIA sur des jeunes semis issus de semence de plantes inoculées et non inoculées, des deux variétés d'orge, Saïda et Acsad 60 (Photos 10 et 11). Le taux de jeunes semis réagissant positivement au test TBIA sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 18).

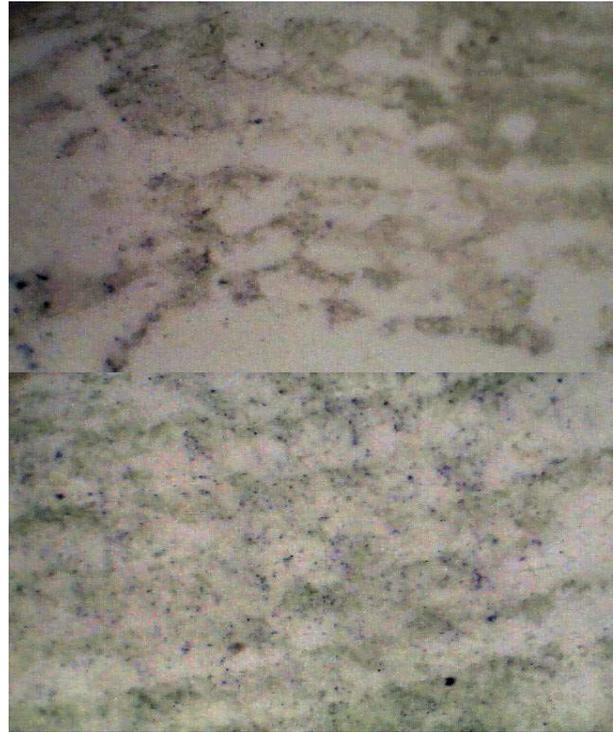
**Tableau 18.** Taux de jeunes semis réagissant positivement au test TBIA

Variétés et numéros de pots	Test	Taux de transmission par semence	$2\text{Arc sinus}\sqrt{x/n}$
A13	NIN	53,3	94
A30	NIN	15,6	47
A42	NIN	84,4	133
A45	NIN	31,1	67,780
A49	NIN	26,7	62,225
S6	NIN	60	102
S7	NIN	13,3	43
S15	NIN	100	180
S19	NIN	97,8	163
S29	NIN	62,2	104
AI2	INO	8,9	35
AI18	INO	20	53
AI20	INO	15,6	47
AI45	INO	24,4	59
AI47	INO	57,8	99
SI21	INO	66,7	110
SI23	INO	75,6	121
SI35	INO	88,9	141
SI44	INO	51,1	91
SI46	INO	86,7	137

A : Acsad60 non inoculée, S : Saïda non inoculée, AI : Acsad60 inoculée, SI : Saïda inoculée  
x/n : taux de transmission par semence /100



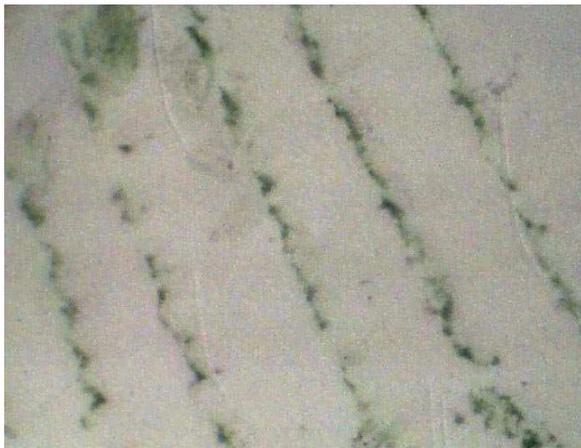
Négatif



Positif

---

**Photo 10.** Résultats du test TBIA sur la variété Saïda



Négatif



Positif

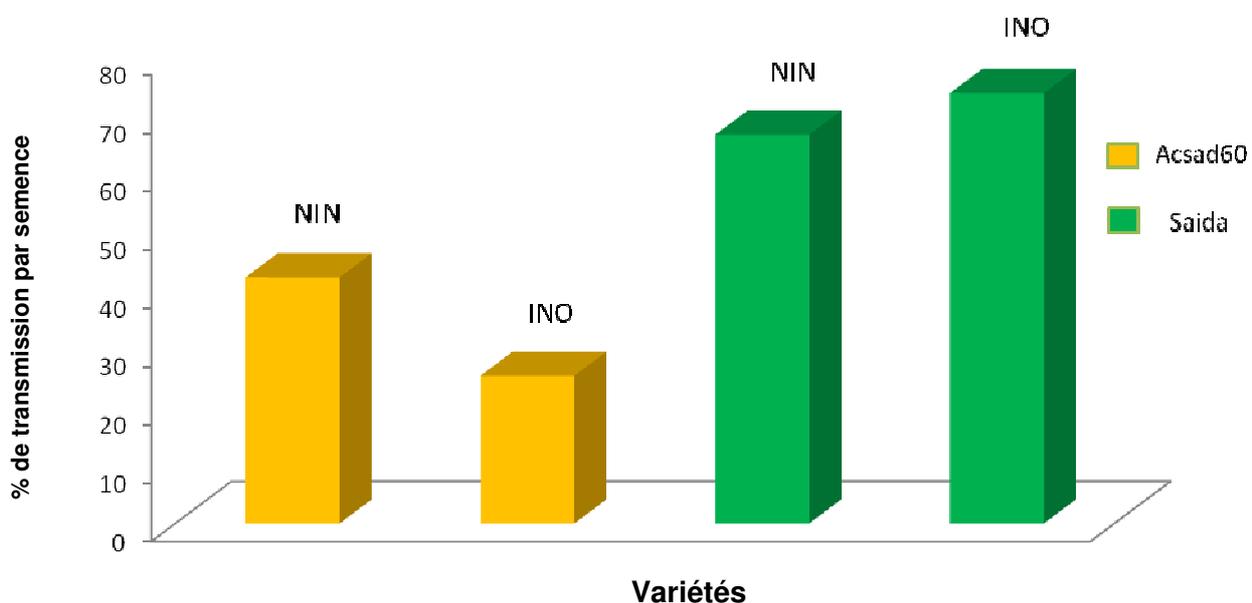
---

**Photo 11.** Résultats du test TBIA sur la variété Acad 60

Les résultats montrent que le taux de transmission est plus élevé pour la variété Saïda par rapport à la variété Acsad 60, notamment sur l'essai d'infection par inoculation artificielle (Tableaux 19, figure9).

**Tableau 19.** Moyennes du taux de transmission par semence des deux variétés d'orge en conditions d'infection naturelles et par inoculation mécanique

Variétés	Tests	Moyennes (%)
<b>Acsad</b>	Infection naturelle	42,213
	Inoculation mécanique	25,336
<b>Saïda</b>	Infection naturelle	66,666
	Inoculation mécanique	73,800



**Figure 9 :** Taux de transmission par semence du BSMV sur jeunes semis des deux variétés Acsad60 et Saïda au niveau des deux essais

L'analyse de la variance du taux de transmission par semence des deux variétés Acsad60 et Saïda non inoculées a révélé un effet non significatif (Prob= 0,22688) au seuil de 5% (Tableau A12, Annexe2).

Par ailleurs, cette analyse a mis en évidence l'effet significatif (Prob= 0,002522) du taux de transmission par semence des deux variétés d'orges inoculées. (Tableau A13, Annexe2).

Ainsi, le test LSD a révélé cette différence significative (Prob=0,002522) entre la variété Saïda et Acsad 60 et confirme que le taux de transmission par semence est plus important pour la variété Saïda que pour la variété Acsad60 (Tableau A14, Annexe2).

#### 4.2.3.2. Sur semences par le test DAS-ELISA

Les semences utilisées correspondent à celles récoltées lors des deux essais d'infection, en conditions naturelles et en inoculation artificielle des deux variétés d'orge, Saïda et Acsad 60. Le taux de transmission a été estimé par une analyse sérologique de 20 groupes de 25 graines des deux variétés. Ces réactions positives sont obtenues sur la base d'un seuil de détection égal à 0,1699 pour la variété Acsad60 et de 0,1626 pour la variété Saïda. Les résultats révèlent la présence du BSMV au niveau de la semence de ces deux variétés. Le taux de transmission par semences est calculé selon la méthode préconisée par Maury et *al.* (1985).

Pour la variété Acsad60, les semences issues de l'essai d'infection en conditions naturelles ont présenté un taux d'infection de 1,15% et les semences issues de l'essai d'inoculation mécanique ont montré un taux d'infection de 2,03% (Tableau 20).

Cette variation, peut s'expliquer par le fait que Acsad 60 inoculée a plus de chance d'avoir des semences infectées, mais cela n'empêche pas que cette même variété a présenté le BSMV à l'état de témoin naturel non inoculé. Bien que ce taux soit considéré comme étant faible (Makkouk et *al.*, 1992), sa présence n'est pas tolérée, car ce virus est considéré comme un agent de quarantaine.

**Tableau 20** : Taux (%) de transmission par semence de la variété Acsad60

Conditions naturelles				Conditions artificielles			
Groupe	DO <sub>moy</sub> ± Et	Réaction	P (%)	Groupe	DO <sub>moy</sub> ± Et	Réaction	P (%)
G1	0,1745±0,0049	+	1,15	G1	0,1725 ± 0,0091	+	2,03
G2	0,147 ± 0,0113	-		G2	0,1595 ± 0,00071	-	
G3	0,1525 ± 0,00212	-		G3	0,166 ± 0,0042	-	
G4	0,156±0,0084	-		G4	0,180±0,00282	+	
G5	0,1665± 0,0077	-		G5	0,1655±0,00636	-	
G6	0,1485 ± 0,00636	-		G6	0,1745 ± 0,0021	+	
G7	0,1535±0,012	-		G7	0,170±0,0000	+	
G8	0,1575±0,0049	-		G8	0,1755 ± 0,00636	+	
G9	0,174 ± 0,000	+		G9	0,188±0,00989	+	
G10	0,1595±0,0095	-		G10	0,1685 ± 0,00071	-	
G11	0,1485 ± 0,00636	-		G11	0,1675±0,00636	-	
G12	0,151 ± 0,0028	-		G12	0,170 ± 0,00141	+	
G13	0,1625 ± 0,00071	-		G13	0,1725 ± 0,0035	+	
G14	0,1715 ± 0,00071	+		G14	0,162±0,00424	-	
G15	0,1715 ± 0,00071	+		G15	0,167 ± 0,00565	-	
G16	0,1555 ± 0,0091	-		G16	0,159±0,00848	-	
G17	0,1525 ± 0,0035	-		G17	0,157 ± 0,0042	-	
G18	0,160 ± 0,0098	-		G18	0,165 ± 0,0028	-	
G19	0,1725 ± 0,012	+		G19	0,163 ± 0,00141	-	
G20	0,162 ± 0,0028	-		G20	0,163±0,0070	-	

T<sub>moy</sub> + 5ds = 0,169; DO<sub>moy</sub> : densité optique moyenne ; Et : écart type ; P (%) : taux de transmission par semence.

Pour la variété Saïda le taux de transmission est calculé sur la base du seuil de détection de 0,1626 selon la méthode préconisée par Makkouk et *al.* (1992). Il est de 0% pour les semences issues de l'essai d'infection en conditions naturelles et de 0,65% pour les semences issues de l'inoculation mécanique (Tableau 21).

**Tableau 21** : Taux (%) de transmission par semence de la variété Saïda

Conditions naturelles				Conditions artificielles			
Groupe	DO <sub>moy</sub> ± Et	Réaction	P (%)	Groupe	DO <sub>moy</sub> ± Et	Réaction	P (%)
G1	0,1515±0,00071	-	0	G1	0,165 ± 0,0000	+	0,65
G2	0,134 ± 0,00141	-		G2	0,139 ± 0,00141	-	
G3	0,135 ± 0,0000	-		G3	0,153 ± 0,0056	-	
G4	0,1405±0,00071	-		G4	0,1695±0,00071	+	
G5	0,133 ± 0,00141	-		G5	0,1535±0,00212	-	
G6	0,1295 ± 0,0077	-		G6	0,183 ± 0,0000	+	
G7	0,131±0,00565	-		G7	0,1425±0,00071	-	
G8	0,1385±0,00071	-		G8	0,138 ± 0,00424	-	
G9	0,136 ± 0,00565	-		G9	0,1515±0,00071	-	
G10	0,1325±0,00071	-		G10	0,137 ± 0,0000	-	
G11	0,1395 ± 0,0077	-		G11	0,1465±0,00071	-	
G12	0,1105 ± 0,0077	-		G12	0,152 ± 0,00424	-	
G13	0,134 ± 0,0000	-		G13	0,1395 ± 0,0035	-	
G14	0,133 ± 0,00565	-		G14	0,1305±0,00212	-	
G15	0,133 ± 0,00282	-		G15	0,153 ± 0,0000	-	
G16	0,1285 ± 0,0091	-		G16	0,1525±0,00071	-	
G17	0,135 ± 0,00707	-		G17	0,1495 ± 0,0035	-	
G18	0,134 ± 0,00141	-		G18	0,139 ± 0,0028	-	
G19	0,135 ± 0,00141	-		G19	0,133 ± 0,0098	-	
G20	0,142 ± 0,0000	-		G20	0,1425±0,00212	-	

$T_{moy} + 5ds = 0,1626$  ; DO<sub>moy</sub> : densité optique moyenne ; Et : écart type ; P (%) : taux de transmission par semence.

Le taux de transmission du virus à partir des semences issues de l'inoculation mécanique de la variété Saïda est considéré comme étant un taux faible (Makkouk et *al.*, 1992). Cependant, la présence du virus a été mise en évidence ce qui pose problème dans la mesure où le BSMV constitue un agent de quarantaine et qu'une tolérance zéro est exigée.

#### 4.2.3.3. Variation du taux d'infection en fonction du seuil de détection

L'estimation du taux de transmission par semence en utilisant le test DAS-ELISA, et dont la méthode de l'analyse par groupe était adoptée est basé sur les réactions négatives des groupes de semences (25graines par échantillon). Les réactions positives reposent sur les moyennes des densités optiques obtenues à 405nm et comparées à un seuil de discrimination.

Ce seuil varie d'un utilisateur à un autre, où chacun conçoit que ce dernier est plus précis et plus pratique pour pouvoir donner une analyse générale des résultats obtenus. Pour cela le taux de transmission varie selon ce seuil de  $T_{moy+2ds}$  à  $T_{moy+3ds}$  et  $T_{moy+5ds}$  (Tableau22).

**Tableau 22:** Différents taux (%) de transmission par semence selon le seuil de discrimination

Variétés	$T_{moy+2ds}$	$T_{moy+3ds}$	$T_{moy+5ds}$
Saïda non inoculée	0,21	0,21	0
Saïda inoculée	3,15	2,37	0,65
Acsad60 non inoculée	4,12	2,37	1,15
Acsad60 inoculé	100	7,31	2,03

\*Pour la variété Saïda :  $T_{moy+2ds}=0,1440$ ,  $T_{moy+3ds}=0,1502$ ,  $T_{moy+5ds}=0,1626$

\*Pour la variété Acsad60 :  $T_{moy+2ds}= 0,1542$ ,  $T_{moy+3ds} = 0,1594$ ,  $T_{moy+5ds}= 0,1699$

Concernant la variété Saïda, pour les semences issues des plantules infectées en conditions naturelles, le taux de transmission par semence passe de 0% en utilisant un seuil moins strict ( $T_{moy+5ds}$ ) à 0,21% en utilisant un seuil strict ( $T_{moy+3ds}$  et  $T_{moy+2ds}$ ) dans la mesure où un groupe parmi les 20 groupes testés a réagi positivement. Pour les semences issues des plantules infectées par inoculation mécanique, ce taux de transmission passe de 0,65%, considéré comme un taux faible de transmission, à 2,37 et 3,15%, taux considérés comme moyens.

Concernant la variété Acsad 60, pour les semences issues des plantules infectées en conditions naturelles, le taux de transmission par semence passe de 1,15% en utilisant un seuil moins strict ( $T_{moy+5ds}$ ) à 2,37 et 4,12% en utilisant un seuil strict ( $T_{moy+2ds}$  et  $T_{moy+3ds}$ ) et donc passe d'un faible taux de transmission à un taux moyen de transmission. Pour les semences issues des plantules infectées par inoculation mécanique, ce taux de transmission passe de 2,03% à 7,31 et 100% ( $T_{moy+3ds}$  et  $T_{moy+2ds}$ ), ce qui revient à dire que lorsque l'on utilise le seuil de détection strict ( $T_{moy+2ds}$ ), tout le lot issu de cet échantillonnage comporte un fort taux de transmission.

#### 4.2.3.4. Discussion

Les résultats obtenus avec le test TBIA montrent que la variété Saïda permet des taux élevés de transmission du virus par la semence. En revanche, la variété Acsad 60 présente un taux de transmission par semence relativement faible par rapport à la variété Saïda même si les essais d'infection ont montré des symptômes liés au BSMV. Ces résultats suggèrent qu'il n'existe pas forcément une corrélation entre les symptômes observés liés à l'infection par le BSMV dans les conditions naturelles ou bien dans le cas d'une inoculation mécanique et le taux de transmission par semences et ceci corroborent les observations déjà réalisées (Jackson et Lane, 1981).

De même, la plus part des semences utilisées pour la variété Saïda (inoculée et non inoculée) sont issues de plantes mères ayant montré des réactions positives par le test ACP-ELISA. Ceci peut être expliqué par l'effet significatif du facteur variété pour la transmission par semence qui est plus important pour la variété Saïda inoculée (Tableau A13 et A14, Annexe2).

Par contre, on a constaté que la détermination du taux de transmission par semence par le test DAS-ELISA pour les deux variétés a augmenté dans le cas de l'essai mené en condition artificielle, surtout concernant le seuil de détection ( $T_{moy} \pm 2ds$ ) où ce taux est passé de 4,2% (Acsad60 non inoculée) à 100% (Acsad60 inoculée) et de 0,21% pour Saïda non inoculée à 3,15% pour Saïda inoculée.

Ainsi, les résultats obtenus par les deux tests TBIA et ELISA ne peuvent pas être comparés en ce qui concerne le taux de transmission par semence pour les deux variétés dans les conditions d'infection naturelles ou artificielles et ceux pour :

- Le test TBIA a été réalisé sur des semences provenant de cinq (5) pots différents choisis d'une manière aléatoire pour chacune des deux variétés (Acsad60 et Saïda) et concernant les deux essais (inoculé et non inoculé), alors que pour le test ELISA par groupe l'échantillonnage a été réalisé d'une manière aléatoire sur toutes la semence provenant des deux variétés et appartenant aux deux essais.

- Les paramètres pris en considération pour le calcul du taux de transmission par semence ne sont pas les mêmes. En effet le taux de transmission par semence déterminé par le test TBIA repose sur le nombre de chaque jeune semis réagissant positivement sur le nombre total de jeunes semis testé que multiplie 100 par contre l'analyse par groupe par le test ELISA comme son nom l'indique repose sur une formule mathématique qui prend en

considération le nombre de groupes sains , le nombre total des groupes analysés et le nombre de graine par groupe. Ce qui justifie l'utilisation de ce test dans les analyses de diagnostic de routine à grande échelle d'une part et vue la simplicité, rapidité sensibilité et fiabilité de ce test d'autre part.( Makkouk et Kumari, 2008).

L'utilisation des différents seuils de détection pour l'évaluation du taux de transmission montre que le seuil de détection préconisé par Makkouk et *al.* (1992) reste un seuil très souple et ne permet pas d'analyser de manière précise la présence du virus dans les semences. Ceci a été posé par Makkouk *et al.*, 1992, concernant l'utilisation de ce seuil de discrimination, mais ce dernier reste précis et convenable pour pouvoir différencier les échantillons malades de ceux qui sont sains et selon ces mêmes auteurs des recherches plus poussé doivent être effectués pour opter pour un seuil plus précis.

# Conclusion Générale

## 5. Conclusion Générale

Durant, ce travail qui s'inscrit dans le cadre d'une contribution à l'étude du virus transmis par semence de céréales, Barley Stripe Mosaic Virus (BSMV), ce dernier nous a permis d'avoir plus de connaissances sur ce virus, concernant sa symptomatologie en plein champs et sur deux variétés d'orge en condition naturelle et artificielle ainsi que sa réaction sérologique et taux d'infection (taux de transmission par semence) sur quelles que variétés appartenant à différentes espèces de céréales (blé dur, blé tendre et orge).

En effet, les prospections réalisées au cours de ce travail, nous ont permis de confirmer la présence du BSMV sur différentes espèces de céréales, entre autre une variété de blé dur (GTA dur), une variété de blé tendre (Hiddab) et une variété d'orge (Rihane). Ce virus a également été détecté sur des lots de semences d'une variété de blé dur (Chen's), une variété de blé tendre (HD1220) et deux variétés d'orge (Rihane, Saïda de Bouira et Saïda de Berrouaghia). Cependant, ce virus a été mis en évidence sur la variété Belliouni 3848, lors des prospections et sur lot de semence au niveau de la région de Sétif.

La variabilité des taux d'infection obtenue pour les différentes variétés de blé et d'orge par l'utilisation de différents seuils de détection a montré que l'utilisation de seuils plus stricts nous permette de passer d'un taux faible à un taux moyen d'infection, comme pour la variété HD1220 où son taux d'infection est passée de 0,89% ( $T_{moy} \pm 5ds$ ) à 4,71 et 6,24% obtenus par des seuils plus stricts ( $T_{moy} \pm 3ds$  et  $T_{moy} \pm 2ds$ ) respectivement et d'un taux moyen à un taux élevé, c'est le cas de la variété Rihane (4,71%,  $T_{moy} \pm 5ds$ ) à 6,24 et 11,3% ( $T_{moy} \pm 3ds$  et  $T_{moy} \pm 2ds$ ) respectivement. Ainsi, notre travail nous a permis de résoudre le problème du choix de seuil de détection où nous avons constaté qu'il est important selon l'objectif visé par son utilisateur, les plus stricts leurs applications sont justifiées pour des analyses visant à prendre des mesures de quarantaine, à fin d'éviter toute tentative d'entrée de semences infectées à l'intérieur du pays et pour les seuils moins stricts, ils sont appliqués pour d'autres mesures telles que les prospections et inventaire des maladies virales.

Les variétés présentant des taux d'infection relativement élevé et dont le nombre de groupe réagissant positivement est aussi important, même avec un seuil moins strict (Rihane : 14 groupes positifs, Belliouni3848 : 12 groupes positifs et Saïda de Bouira : 10 groupes positifs) sur 20 groupe analysés pour chaque variétés, doivent être prise en considération et retenues pour des études approfondies sur la symptomatologie, transmission par semence et sélection variétale pour la résistance vis-à-vis du BSMV.

Concernant l'étude du pouvoir pathogène du BSMV vis-à-vis de la variété Acsad 60 et Saïda (inoculées et non inoculées), deux types de symptômes sont observés et rappelant ceux causés par le BSMV, se sont des petites stries blanchâtres (PSB) et stries plus courtes jaunâtres (SPCJ). Les réactions positives mises en évidence par le test ACP- ELISA sur les échantillons des plants des deux essais confirment que ces derniers sont induits par le BSMV. Dans le cas de l'essai (conditions naturelles d'infections), ces réactions déduisent la transmission du BSMV par la semence des deux variétés d'orge du moment que aucune source d'inoculum n'a été apportée.

Ces deux types de symptômes ne s'expriment pas de la même manière, vue que le (PSB) était modéré alors que le (SPCJ) était sévère et ils ne se retrouvent pas ensemble ni sur la même feuille ni sur le même plant, d'une part et en conditions naturelles d'infections le type (PSB) est rencontré sur la variété Saida alors que le type (SPCJ) est dominant sur la variété Acsad60 d'autre part, ceci nous a permis de suggérer la présence de deux différentes souches du BSMV, et une spécificité entre souches du virus et variétés d'orge.

Par ailleurs en condition d'inoculation mécanique le type de symptômes (SPCJ) a été retrouvé pour la majorité des plants des deux variétés d'orge. Ceci implique que l'inoculation mécanique a permis le passage du BSMV provenant d'une variété de blé dur GTA dur (présentant le symptôme de stries plus courtes jaunâtres) aux deux variétés d'orge.

Pour les résultats du taux de transmission du BSMV par la semence des deux variétés d'orge, Acsad60 et Saida obtenues par le test TBIA. La variété Saida a connue les taux les plus élevés dans le cas des deux essais non inoculé (66,66%) et inoculé (73,8%) par rapport à la variété Acsad60 (42,21% et 25%). Ces résultats suggère qu'il n'existe pas forcément une corrélation entre les symptômes observés sur les plantes mères des deux variétés et le taux de transmission du BSMV par la semence issue de ces dernières.

Par contre pour le test d'analyse par groupe on utilisant la DAS- ELISA ce taux est pour la variété Acad60 (2,03% et 1,15%) pour les deux essais inoculé et non inoculé respectivement, et concernant la variété Saïda, ce dernier est de 0% pour les semences issues de l'essai d'infection en condition naturelle et de 0,64% pour les semence issues d'inoculation mécanique. Ainsi les deux tests ne peuvent pas être comparé puisque la méthode d'échantillonnage réalisée et la méthode de calcul utilisée n'est pas la même ; mais on a constaté que l'application du test ELISA est plus pratique pour les analyses de routine à grande échelle surtout lorsque 'il s'agit d'une analyse de semence.

La même constatation est fait pour le choix du seuil de détection que pour l'analyse des lots de semences dans la mesure où l'application d'un seuil plus strict a permis la détection du BSMV pour la semence issue de la variété Saïda non inoculée trouvées indemne par le seuil

de détection moins strict et également a fait augmenter les taux d'infection surtout pour la variété Acsad60 inoculée où ce taux est passé de 2,03 à 100% ( $T_{moy}+2ds$ ). Ainsi avec le test d'analyse par groupe l'effet de l'inoculation mécanique sur les deux variétés d'orge a été mise en évidence surtout pour la variété Acad60.

Les résultats obtenus au cours de ce travail restent préliminaires et méritent d'être pris en considération pour la réalisation d'autres études plus approfondies afin d'orienter ces dernières dans l'axe de ces résultats pour confirmer les hypothèses suggérées en ce qui concerne la présence de deux souches différentes et spécificité entre souche et variété.

Ainsi pour cerner davantage l'étude sur le BSMV, il faudra élargir les prospections dans l'espace et dans le temps en touchant toutes les zones céréalières et réaliser des analyses de lots de semence provenant de ces mêmes prospections. Cette étude va nous permettre de travailler sur les variétés trouvées sensibles et résistantes vis-à-vis du BSMV sous nos conditions pour la sélection variétale.

La présence du BSMV en plein champs et sur lots de semence nous informe sur la transmission par semence de ce virus ainsi la source d'inoculum (semences infectées) existera toujours si aucune mesure de son irradiation n'est entreprise. Sachant que ce dernier est un organisme de quarantaine, ceci nous oblige à mettre en place un mécanisme de contrôle de la maladie relativement strict.

# Références Bibliographiques

## Références Bibliographiques

- Adams, A., R. Gaboryjanyi, I. Tobias et A. Riraly. 1987.** Effect of nitrogen nutrition on the concentration of viruses. Phospholipides and galactolipids of barley leave infected with barley stripe mosaic virus. *Anna. Appl. Biol.* 110: 313-319.
- Adams, M.j., D.R. Jones, T.M. O' neill et S.A. Hilmi. 1993.** The effect of cereal break crops on Barley Mild Mosaic Virus. *Anna. Appl Biol.* 123:37-45.
- Anonyme, 1983.** Barley Stripe Mosaic Virus .In European and Mediterranean Plant Protection Organisation EPPO. *Bulletin OEPP.* Liste A<sub>2</sub> 13: 1-5.
- Anonyme, 1997.** Barley / Orge. In European and Mediterranean Plant Protection Organisation EPPO. *Bulletin OEPP.* 27: 339-361.
- Anonyme, 1998.** Céréales .In MEDAGRI. Ed centre international de hautes études agronomiques méditerranéennes. 400p.
- Anonyme, 2003.** Statistique agricole. Superficie et Production .Série (B). Ed Ministère de l'Agriculture et du Développement rural.
- Anonyme, 2006.** Statistique agricole. Superficie et Production .Série (B). Ed Ministère de l'Agriculture et du Développement rural.
- Anonyme, 2007.** Les filières végétales .Situation et développement. INRA-comité scientifique des Assises.
- Astier, S., J. Alboury, Y. Maury et H. Lecoq. 2001.** Principes de virologie végétales: génome, pouvoir pathogène, écologie des virus. Ed. INRA, France, 444p.
- Atabekov, J.G. et U.K. Novikov. 1971.** Barley Stripe Mosaic Virus. *Description of plant viruses. CMI/AB.* N°68
- Belfihadj, L. 2000.** Contribution à la connaissance de la striure bactérienne des céréales : Détection de l'inoculum à partir des semences et diagnostic de la maladie. Mémoire. Ing. INA.EL Harrach. 125p.
- Belkahla, H. 2001.** Les virus associant à la jaunisse nanisante de l'orge (BYD). Des genres BYDV et CYDV chez les céréales à paille en Algérie. Thèse. Doctorat d'Etat. INA. 80p.
- Bendif, N. 1994.** La situation actuelle des maladies des céréales en Algérie. *Céréaliculture.* ITGC. 27: 8-12.
- Bennett, C.W. 1969.** Seed transmission of plant viruses. *Advanced in virus research.* 14: 221-261.
- Benbelkacem, A.K. 1997.** La recherche variétale sur les blés en Algérie. *Céréaliculture.* ITGC. 31: 3-8.
- Benbelkacem, A.K. et K.Kellou. 2000.** Evaluation du progrès génétique chez quelques variétés de blé dur (T.durum) cultivées en Algérie. In Actes du premier symposium international sur la filière blé. Ed. Ezzahiri B., Sayoud R., Algérie. Pp. 123-132.

- Benmokhtar, K. et M. Kari. 1999.** Contribution à l'étude des virus des céréales caractérisation biologique des virus de la mosaïque du blé et de l'orge : WSSMV, WSMV et BSMV. Mémoire .Ing. INA. El Harrach. 55p.
- Benslimane, H. 2003.** Caractérisation de quelques isolats de *Pyrenophora graminéa*. S.Ito & Kuribay et leur comportement à l'égard de cinq génotypes d'orge. Thèse. Magister. INA. El Harrach. 77p.
- Bonjean, A. et E.Picard. 1990.** Les céréales à paille. Ed Sofword / ITM, France. 205P.
- Boubetra, S. et F. Mohamedi. 1998.** Contribution à l'étude des virus affectant les céréales à paille au niveau de la région centre d'Algérie .Identification sérologique et biologique de quelques isolats. Mémoire. Ing. INA. El Harrach. 55p.
- Boubetra S., F. Mohamedi., A. Aït Yahia., M.Aït Ouda. et M.Louanchi.1999.** Identification sérologique et biologique de quelques virus des céréales dans la région centre de l'Algérie. In proceeding du deuxième symposium régional sur les maladies des céréales et légumineuses alimentaires. Nabeul, Tunisie. Pp10-11.
- Boufenar-Zaghouane, F. et O. Zeghouane. 2006.** Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (Blé dur, Blé tendre, Orge et Avoine). Première édition. ITGC, ICARDA. 154P.
- Boulal, H., O. Zaghouane., M. El Mourid. et S. Rezgui. 2007.** Conduite des céréales d'automne (blé et orge) dans le Maghreb. Ed. ICARDA, ITGC, INRAA. 176p.
- Bounasseur, K. 2000.**Contribution à l'étude de l'effet du virus de la mosaïque striée de l'orge (BSMV) sur quelques paramètres de croissance et du rendement Mémoire. Ing. INA. El Harrach. 47p.
- Boukris, L.1992.** Identification des bactéries phytopathogènes transmissibles par semences de blé en Algérie. Mémoire. Ing. INA. El Harrach.73p.
- Bouzerzour, H., A. Benmhamed et K.L.L . Hassou.1997.** Variabilité génétique héritabilité et corrélation entre caractères mesurés sur orge en milieu semi-aride. *Céréaliculture*. ITGC. 10: 25-26.
- Bovey, R. 1972.** Défense des plantes cultivées. Ed. Payot. Lausanne, Paris. 683p.
- Brunt, A.A., K. K. Crabtree.,M.J. Dallwitz., A.J. Gbbs et L. Watson.1997.** Viruses of plants descriptions and lists from the vide database. Ed. Brunt A. Walling ford: CAB international.
- Carroll, T.W. et D.E. Mayhew. 1976a.** Anther and pollen infection in relation to the pollen and seed transmissibility of two strains of Barley stripe.Mosaic Virus. *Can.J. Bot.* 54: 1604-1621
- Carroll,T.W. et D.E. Mayhew 1976b.** Occurrence of virions in developing ovules and embryos sacs of barley in relation to the seed transmissibility of Barley stripe Mosaic Virus. *Can. J. Bot.* 54: 2497-2512.

- Carroll, T.W. et S.R. Chapman. 1970.** Variation in embryo infection and seed transmission of Barley Stripe Mosaic Virus within and between two cultivars of barley. *Phytopathology*. 60: 1079-1081.
- Carroll, T. W. 1981.** Seed borne viruses: virus host interaction .In Plant disease and Vectors ecology and epidemiology. Ed. Maramoroch K. et Harris K.F. Pp.293-314.
- Catton, M.B. 2000.** Années d'exploitation de blé vers l'Algérie .In Acte du premier symposium international sur la filière blé. Ed Ezzahiri B., Sayoud R., Algérie .Pp .87-90.
- Cavelier, M. 1992.** La mosaïque de l'orge. In les maladies des céréales. Ed Centre de recherche Agronomique de l'état Belgique .Fiche N°44.
- Clark, M. F. et A.N. Adams. 1977.** Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J.Gen. Virol.* 34:475-483.
- Cheloufi, H. 2000.** Influence de la profondeur du semis sur quelques caractères morphophysiques d'une céréale sous pivot dans la région de Ourgla. In Acta du premier symposium international sur la filière blé. Ed Ezzahiri B., Sayoud R., Algérie Pp.247-249.
- Chiko, A.W. 1975.** Natural occurrence of BSMV in wild Oat. *Canadian Journal of Botany.* 53: 417-420.
- Chiko A.W., 1984-** Increased Virulence of Barley Stripe Mosaic Virus for Wild Oats: Evidence of Strain Selection by Host Passage. *Phytopatology.* 74: 585-599.
- Cornuet, P. 1959.** Maladies à virus des plantes cultivées et méthodes de luttés. Ed. INRA. Paris. 440p
- Cornuet, P. 1987-** Elément de virologie végétale. Ed. INRA. Paris. 206p
- Dagnelie, p. 1975.** Théories et méthodes statistiques. Tome 2. Ed Presses agronomique de Gembloux.
- Dan Niffeneggar., I.K. Mills et D.J. Davis. 1974.** Effect of Barley Stripe mosaic Virus worn-Growth of infected Barley plants. *Crop science.* 14: 227-225.
- Edwards, M.C. et R.G. Timian 1986.** Genetics analysis of BSMV. *Phytopathology.* 76: 360-365.
- Edwards, M.C. 1995.** Mapping of the seed transmission determinants of Barley Stripe mosaic Virus. *Molecular plant- Microbe interactions.* 8: 906-915.
- Edwards, M.C. et B.J. Steffenson. 1996.** Genetics and mapping of Barley Stripe Mosaic Virus resistance in barley. *Phytopathology.* 86: 184-187.
- El Yamani, M.et B. Bencherki. 1996.** La jaunisse nanisante de l'orge caractérisation des virus et épidémiologie au Magreb. In : Procceeding du symposium Régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires. Ed. Ezzahiris B., El Yamani A. et El Yamani M. INRA, Maroc .Pp. 63-67.
- Engsbro, B. 1977.** Barley Stripe Mosaic Virus (BSMV) comparison of symptom intensity of yield and of seed infection in spring barley. *Annal of Phytopathology.* 9: 273-276.

**FAO, 2005.** Bulletin statistique de la F.A.O. Vol11. 140p.

**Feliachi, K. 2000.** Programme de développement de la céréaliculture en Algérie .In Actes du premier symposium international sur la filière blé. Ed Ezzahiri B., Sayoud R., Algerie. Pp.21-27.

**Francki R.I.B., G.Robert., Milne et T. Hatta.1985.** Atlas of plant viruses. Vol II. Ed CRC. Press.

**Gregorio Vazquez., G.A. Peterson et A.O. Jackson., 1974.** Inheritance of Barley Stripe Mosaic reaction .In crosses among three Barley varieties. *Crop Science*. 14: 429-432.

**Hamilton, R.I. 1965.** An embryos test for detecting seed born Barley Stripe Mosaic virus in Barley. *Phytopathology*. 55: 798-799.

**Hebert,T.T. et C.H. Panizo., 1975.** Oat Mosaic Virus. *Description of plant virus*. CMI / AAB. N°145.

**Hunter, B.G., L.A. Heaton., C.A. Bracker et A.O. Jackson. 1986.** Structural comparaison of poa semilent virus and Barley Stripe Mosaic Virus. *Phytopathology*. 78: 429-432

**Hsu, H.T. et R.H. Lawson. 1991.** Direct tissue blotting for detection of tomato spotted with virus in impatiens. *Plant disease*. 75: 292-295.

**Inouye, T. et Y. Saito., 1975-** Barley Yellow Mosaic virus. *Description of plant virus* CMI/AAB N°143.

**Ibris, M., P. Monneveux., J. Chery et A. Comeaux. 1993.** Etude des interactions entre le déficit hydrique et la jaunisse nanisante chez l'orge. *El awamia*. 81: 49-87.

**Jackson, A.O. et C. Lane. 1981.** Hordeivirus. In Hand book of plant virus infections and comparative diagnosis. Ed. Kurstake. E, Amsterdam. Pp 565-625.

**Jackson, A. O., B. G. Hunter et G.D. Gustafson. 1989.**Hordeivirus relationships and genome organisation. *Ann. Revie. Phytopathology*. 2: 95-121.

**Jianping, C.et T.M.A. Wilson. 1995.** Taxonomy of rigid rod-shaperd viruses transmited by fungi. *Agronomie*.15: 421-426.

**Khris, B. 2007.** L'Algérie reste le premier importateur mondial de blé dur. *Liberté*, 14 novembre 2007

**Kyous, N. 2002.** Essai d'identification et de caractérisation d'isolats bactériens fermentatifs issus de semence de céréales. Mémoire. Ing.INA. El Harrach. 65p.

**LeBoulc'b, V., S. Bédour., V. Poyet., T. Barchiette., A. Pfolleszkowicz et J.M. seng. 2000.** l'évaluation de la qualité sanitaire du blé. *Phytoma*. Défence des végétaux . 530:21-26.

**Lommel, S.A., W.G. willis et T.L. kendall.1986.** Identification of wheat Spindel Streak Moaic Virus and its role in a new disease of winter Wheat in Kansas. *Plant disease*. 7: 964-968.

**Lin, N.S., Y.H. Hsu et H.T. Hsu. 1990.** Immunological detection of plant virus and a mycoplasma like organism by direct tissue blotting nitrocellulose membrane. *Phytopathology*. 80: 824-828.

- Mandahar, C.L. 1981.** Virus transmission through seed and pollen. In plant diseases and vectors ecology and epidemiology. Ed. Maramoroch K. et Harris K.F. Pp 241-276.
- Makkouk, K. M., I. Braker et J. Skaf. 1989.** Serotyping of barley Yellow Dwarf Virus isolates on cereal crops in countries of west Asia and North Africa. *Phytopathology Mediteranean*. 28. 164-168.
- Makkouk, K. M., W. Radwan et A. Haj Kassem. 1992.** Survey of seed-borne virus in barley, Lentil and faba bean seeds in Syria. *Arab Journal of plant protection*.10: 3-8.
- Makkouk, K.M., M.Rifaet, M. Eweida et A.Tohamy. 1995.** Diagnosis of plant viruses regional training course .Cairo. 13-21 Semptember. 83p.
- Makkouk, K. M., L. Bertschinger., M. Conti., N. Bolat. et F. Dusunceli. 1996.** Barley Yellow Mosaic Rhabdovirus naturally infects cereal crops in the Anatolian plateau of Turkey. *Journal Phytopathology*. 144: 413-415.
- Makkouk, K. M. et S.G. Kumari. 1997** Natural occurrence of wheat Streak Mosaic Virus on wheat in Syria. *Rakis*. 16: 74-76.
- Makkouk, K. M. et S.G. Kumari. 2008.** Specialized Training Course on “ Diagnosis of Plant Viruses”. Ed. INRAA, Algiers, Algeria 21-27 April. 63p
- Masmoudi, K. 1993.** Etude du Pea seed Borne Mosaic Virus dans la graine de pois. Variabilité de séquence et de structure de la protéine capsidique. Construction d'un ADNc complet en vue d'une étude de la transmission par la graine. Thèse Doctorat Science biologique. Université Pierre et Marie Curie. Paris VI.92p
- Maude, R.B. 1996.** Seed borne diseases and their control principles and practice. Ed CAB International. walling ford.
- Maury, Y., C. Duby., J.M. Bossennec et G. Boudazin., 1985** – Group analysis using ELISA : determination of the level of transmission of soy bean mosaic virus in soy bean seed. *Agronomie*. 5: 405-415.
- Mayhew, D.E. et T.W. Carroll. 1974.** Barley Stripe Mosaic Virus in the egg cell and egg sac of infected barley. *Virology* 58: 561-567.
- Medjahed, K. 2006.** Connaissance sur les virus des céréales. Identification Immuno-Enzymatique TAS-ELISA du virus de la mosaïque striée de l'orge. Thèse. Magister. USD. Blida. 76p.
- Meyer, M. 1989.** Les virus de l'orge. *Phytoma* - Défense des végétaux. 411: 21-23.
- Mc Kinney, H.H. 1951.** A seed borne virus causing false stripe in barley. *Phytopathology* 41: 563-564.
- Mink, G.L. 1993.**Pollen and seed transmitted viruses and viroids. *Ann.Rev.Phytopathology*. 31:375-402
- Moule, C. 1980.** Céréales. Ed Maison rustique, Paris.318p.

**Namoune, H. et R. Kezih. 2000.** Utilisation du blé dur en Algérie et méthodes d'évaluation de la qualité. In Acte du premier symposium sur la filière blé. Ed Ezzahiri B., Sayoud R., Algérie. Pp.341-345.

**Neergard, P. 1979.** Seed borne viruses. In Seed pathology. Vol 1. Ed Mac millan.Press. London and Madras. 839p.

**Nutter, F.W., J.V.D. Pederson et R.G Timian. 1984.** Relationship between seed infection by BSMV and yield loss. *Phytopathology*. 74:63-66.

**Petty, I.T.D., G.K. Donald et A.O. Jackson. 1994.** Multiple genetic determinants of Barley Stripe Mosaic Virus influence lesion phenotype on *Chenopodium amaranticolor*. *Virology*, 198: 218-226.

**Phatak, H.C. 1974.** Seed borne plant viruses identification and diagnosis in seed health testing. In Seed Sci technology. Ed Hemant christaman Phatak. Copenhagen. Pp 89-120.

**Rapilly, F., J.N. Lemaire et R. Cassini. 1971.** Les principales maladies cryptogamiques des céréales. Ed. INRA. Dept.Path.Veg. 189p.

**Slack, S.A. et Shepherd 1975.** Serological detection of seed borne BSMV by a simplified radial diffusion technique. *Phytopathology*. 65: 9487-955.

**Slack, S.A., R.J. Shepherd et DH. Hall. 1975.** Spread of seed borne Barley Stripe Mosaic Virus and effect of the virus on barley in California. *Phytopathology*. 65: 1218-1225.

**Sayoud, R. 1997.** Les maladies des céréales. *Céréaliculture*. ITGC. 17:..20-21.

**Sayoud, R. et K. Benbelkacem.1996.** Situation des maladies des céréales en Algérie .In proceeding du symposium régional sur les maladies des céréales et légumineuses alimentaires. Rabat, Maroc, 11-14 Nov 1996.

**Sayoud, R.,B.Ezzahiri et Z. Bouznad.** Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. ITGC, Alger.

**Shukla, D.D., C.W. Ward et A.A. Brunt. 1994.**The potyviridae. Ed .CAB international 516p

**Simon, H., P. Cadaccini. et X. Leceur. 1989.** Produire des céréales à paille. Ed Techniques et documentation. Lavoisier, Paris. 329p.

**Slykuis, J.T. 1976.** Wheat Spindel Streak Mosaic Virus. *Description of plant viruses*. CMI/ A.A.B. N°167.

**Smith, K.M. 1972.** A text book of plant virus disease. Ed. Longman, London, 684p

**Soltner, D. 1992.** Les grandes productions végétales. Ed collection science et Techniques agricoles. 454p.

**Stace, S.R et R.I. Hamilton. 1988.** Viruses. *Phytopathology*. 78: 875-880.

**Talamali, L. 2000.** La libération du marché des céréales en Algérie. In Acte du premier symposium international sur la filière blé. Ed. Ezzahiri B., Sayoud R .Algérie. Pp:11-19.

**Thernyck C.K et S. Avrameas. 1987.**Techniques immuno-enzymatiques. Ed Société française d'immunologie (Technique en immunologie). 102 p.

**Timian, R.G. 1967.** Barley Stripe Mosaic Virus. Seed transmission and barley yield influenced by time of infection. *Phytopathology*. 57: 1375-1377.

**Van Regenmortel, M.H.V. 1982.** Serology and immunochemistry of plant viruses. Ed Academic Press New York. 191p.

**Van Regenmortel, M.H.V. 1999.** Virus species :Virus species Concepts, names and orthography.  
XI th international congress of virology. 9-13. August Sidney. Convention centre, Darling Harboux, Sidney Australie

**Voller, A., D.E Bidwell et A.Bartlett. 1976.** Enzyme immunoassays in diagnostic medicine. Theory and practice. Bulletin of the world health organization. 53: 55-64.

**Waterhouse, P. M et P.W.C Chu. 1995.** Nucleic acid based approaches to plant viruses and viroid diagnostics. In New Diagnostics in Crops Sciences. Ed Skerrit J.HG. et Appels R. CAB international.

**Wiese, M.V. 1998.** Diseases caused by viruses and virus like agents. In compendium of wheat Diseases. Second Edition..St Paul (Minnesota): Ed. APS, USA. 112p.

**Zillenskey, F.J. 1984.** Maladies communes des céréales à pailles. Guide d'identification. Ed. Centre international pour l'amélioration du maïs et du blé. Mexico.140p.

# Annexes

# ANNEXE 1 : COMPOSITION DES TAMPONS UTILISES POUR LES DIFFERENTS TESTS

## 1-Tampons utilisés pour le test ACP- ELISA

### ● Tampon Carbonate Bicarbonate (PH9,5)

Dissoudre dans 800 ml d'eau distillée

- Carbonate de Sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ).....3.5g
- Bicarbonate de Sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ).....5.6g

Compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée

### ● Tampon PBS (phosphate buffered saline) (PH 7,4 )

Dissoudre dans 800 ml d'eau distillée

- Chlorure de Sodium ( $\text{NaCl}$ ).....8,0g
- Phosphate de Sodium Dibasique ( $\text{Na}_2 \text{HPO}_4$ ).....1,15g
- Phosphate de Potassium, monobasique ( $\text{KH}_2 \text{PO}_4$ ).....0,2g
- Chlorure de Potassium ( $\text{KCl}$ ).....0,2g
- Azide de Sodium ( $\text{NaN}_3$ ).....0.2g

Compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée

### ● Tampon PBS –Tween

- Tween 20.....0,5ml

Compléter à 1000 ml avec du PBS

### ● Tampon de Révélation (Diéthanolamine)

Dissoudre dans 800 ml d'eau distillé

- Diéthanolamine .....97ml
- Chlorure de Magnésium ( $\text{MgCl}_2$ ).....0,1g
- Azide de Sodium ( $\text{NaN}_3$ ).....0, 2g

Ajuster le pH à 9,8 avec HCl , Complété a 1000 ml avec de l'eau dis tillée

## 2-Tampons utilisés pour le test DAS- ELISA

### ● Tampon Général d'Extraction

Dissoudre dans 1000 ml de PBST 1x

- Sulfite de Sodium anhydre ( $\text{Na}_2 \text{SO}_3$ ).....	1,3g
- Polyvinylpyrrolidone (PVP) PM 24-40000.....	20,0g
- Azide de Sodium ( $\text{NaN}_3$ ).....	0,2g
- Albumine de poulet, grade II.....	2,0g
- Tween 20.....	20,0g

Ajuster le PH à 7,4

### ● Tampon du Conjugué (ECI)

Ajouter à 1000 ml de PBST 1x

-Sérum Albumine Bovine (BSA).....	2g
- Polyvinyl pyrrolidone (pvp) PM24-40000.....	20g
- Azide de sodium ( $\text{NaN}_3$ ) .....	0,2g

Ajuster le PH à 7,4

### ● Tampon PBS ( phosphate buffered saline) (PH 7,4 )

Dissoudre dans 800 ml d'eau distillée

- Chlorure de Sodium (NaCl).....	8,0g
- Phosphate de Sodium Dibasique ( $\text{Na}_2 \text{HPO}_4$ ).....	1,15g
- Phosphate de Potassium, monobasique ( $\text{KH}_2 \text{PO}_4$ ).....	0,2g
- Chlorure de Potassium (KCl).....	0,2g
- Azide de Sodium ( $\text{NaN}_3$ ).....	0,2g

Compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée

### ● Tampon PBS –Tween

- Tween 20.....	0,5ml
-----------------	-------

Compléter à 1000 ml avec du PBS

### ● Tampon de Révélation (Diéthanolamine)

Dissoudre dans 800 ml d'eau distillé

- Diéthanolamine .....	97ml
- Chlorure de Magnésium ( $\text{MgCl}_2$ ).....	0,1g
- Azide de Sodium ( $\text{NaN}_3$ ).....	0,2g

Ajuster le pH à 9,8 avec HCl , Complété a 1000ml avec de l'eau dis tillée

### 3-Tampon utilisés pour le test TBIA (Tissue blot immuno- assay)

#### ● Tampon PBS ( phosphate buffered saline) (PH 7,4 )

Dissoudre dans 800 ml d'eau distillée

- Chlorure de Sodium (NaCl).....8,0g
- Phosphate de Sodium Dibasique ( $\text{Na}_2 \text{HPO}_4$ ).....1,15g
- Phosphate de Potassium, monobasique ( $\text{KH}_2 \text{PO}_4$ ).....0,2g
- Chlorure de Potassium (KCl).....0,2g
- Azide de Sodium ( $\text{NaN}_3$ ).....0.2g

Compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée

#### ● Tampon PBS –Tween

- Tween 20.....0,5ml

Compléter à 1000 ml avec du PBS

#### ● Tampon de blocage

1ug / ml de PVA. ( Polyvinyl Alcohol) dilué dans du PBS -T

#### ● Tampon du conjugué

PBS-Tween + 2% de PVP ( Sigma PVP- 40 polyvinyle pyrrolidone) + 0,2%-d'albumine de l'œuf (Sigma A-5253).

#### ● Tampon de substrat.

0,1M Tris PH 9, 5, contenant 0,05 M de  $\text{MgCl}_2$  et 0,1M de NaCl

On ajoute : 20  $\mu\text{g}$  de NBT (Solution N°1) + 20  $\mu\text{g}$  de BCIP (Solution N°2 ) dans 5 ml du tampon de substrat.

**Solution N°1** : P-Nitro Blue Tétrazolium (NBT), solution mère de 75 mg / ml dans 70% diméthylformamide.

**Solution N°2** : 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolylphosphate (BCIP), solution mère de 50mg /ml dans diméthylformamide non diluée

### 4- Tampons utilisés pour l'inoculation mécanique

#### ● Tampon phosphate à 0,1M, pH7, 4

- Phosphate monopotassique ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )....13.609g/L d'eau distillée
- Phosphate dissodique ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) .....17,4, g/Ld'eau distillée

## ANNEXE 2 : ANALYSE STATISTIQUE

**Tableau A1.** Analyse de la variance des deux variétés d'orge Acsad60 et Saïda infectées en conditions naturelles et présentant le symptôme de Petite stries blanchâtres

Effet	DI Effet	MC Effet	DI Erreur	MC Erreur	F	P
1	1	14180,29	48	1586,82	8,93632	<b>0,004399</b>

1 -Varietes: Saïda, Acsad 60.

**Tableau A2.** Test LSD pour l'effet variété

V	S		{1} 40,138	{2} 6,4564
S	PSB	{1}		<b>0,004399</b>
A	PSB	{2}	<b>0,004399</b>	

V : Variétés, S : Symptôme, S : Saïda, A : Acsad60, PSB : Petites stries blanchâtres.

**Tableau A3.** Analyse de la variance des deux variétés Saïda et Acsad 60 infectées en conditions naturelles et présentant le symptôme de stries plus courtes jaunâtres

Effet	DL effet	MC effet	DL Erreur	MC Erreur	F	P
1	1	21185,46	48	1586,93	13,34997	<b>0,000639</b>

1 - Variétés: Saïda, Acsad 60

**Tableau A4.** Test LSD pour l'effet variété

V	S		{1} 4,0564	{2} 45,225
S	SPCJ	{1}		<b>0,000639</b>
A	SPCJ	{2}	<b>0,000639</b>	

V : Variétés, S : Symptôme, S : Saïda, A : Acsad60, SPCJ : Stries plus courtes jaunâtres.

**Tableau A5.** Analyse de la variance des deux variétés d'orge Acsad60 et Saïda infectées en conditions artificielles et présentant le symptôme PSB

Effet	DI Effet	MC Effet	DI Erreur	MC Erreur	F	P
1	1	3321,94	48	1324,61	2,507867	0,119846

1 - Variétés: Saïda inoculée, Acsad 60 inoculée.

**Tableau A6.** Analyse de la variance des deux variétés d'orge Acsad60 et Saida infectées en conditions artificielles et présentant le symptôme SPCJ

Effet	DI Effet	MC Effet	DI Erreur	MC Erreur	F	P
1	1	23100,9	48	3252,1	7,1033	<b>0,010450</b>

1 - Variétés: Saïda inoculée, Acsad 60 inoculée.

**Tableau A7.** Test LSD pour l'effet variété

V	S		{1}	{2}
			<b>69,637</b>	<b>112,63</b>
<b>SI</b>	SPCJ	{1}		<b>0,004399</b>
<b>AI</b>	SPCJ	{2}	<b>0,004399</b>	

V : Variétés, S : Symptôme, S : Saïda Inoculée, A : Acsad60 Inoculée, SPCJ: Stries plus courtes jaunâtres.

**Tableau A8.** Analyse de la variance des deux variétés d'orge Acsad60 et Saida inoculées et non inoculées présentant le symptôme PSB

Effet	DI Effet	MC Effet	DI Erreur	MC Erreur	F	P
1	1	15614, 50	96	1455,712	10,72637	<b>0,001470</b>
2	1	1386,82	96	1455,712	0,95267	0,331493
12	1	1887,73	96	1455,712	1,29677	0,257637

1 -Varietes: Saïda, Acsad 60. 2-Tests : NIN, INO, 12: interaction des deux facteurs Variétés-Tests.

**Tableau A9.** Test LSD pour l'interaction Variété-Test

V	T		{1}	{2}	{3}	{4}
			<b>40,13760</b>	<b>24,00000</b>	<b>6,456400</b>	<b>7,698000</b>
<b>S</b>	NIN	{1}		0,138091	<b>0,002381</b>	<b>0,003378</b>
<b>SI</b>	INO	{2}	0,138091		0,107295	0,13416
<b>A</b>	NIN	{3}	<b>0,002381</b>	0,107295		0,908643
<b>AI</b>	INO	{4}	<b>0,003378</b>	0,134167	0,908643	

V : Variétés, T : Tests, S : Saida non inoculée, SI : Saïda inoculée, A :Acsad60 non inoculée  
AI : Acsad60 inoculée , NIN : Non inoculée, .INO :Inoculée.

**Tableau A10.** Analyse de la variance des deux variétés d'orge Acsad60 et Saïda inoculées et non inoculées présentant le symptôme SPCJ

Effet	DI Effet	MC Effet	DI Erreur	MC Erreur	F	P
1	1	44265,6	96	2419,534	18,29500	<b>0,00045</b>
2	1	110525,7	96	2419,534	45,68055	<b>0,00000</b>
12	1	20,7	96	2419,534	<b>0,00856</b>	0,92646

1 -Varietes: Saïda, Acsad 60. 2-Tests : NIN, INO, 12: interaction des deux facteurs Variétés-Tests.

**Tableau A11.** Test LSD pour l'interaction Variété-Test

V	T		{1} 4,056400	{2} 69,63680	{3} 45,22480	{4} 112,6260
S	NIN	{1}		0,00008	0,003886	0,00000
SI	INO	{2}	0,000008		0,082508	0,002619
A	NIN	{3}	0,003886	0,082509		0,000005
AI	INO	{4}	0,000000	0,002619	0,000005	

V : Variétés, T : Tests, S : Saïda non inoculée, SI : Saïda inoculée, A :Acsad60 non inoculée AI : Acsad60 inoculée , NIN : Non inoculée, INO :Inoculée.

**Tableau A12.** Analyse de la variance du taux de transmission par semence des deux variétés d'orge Acsad60 et Saïda infectées en conditions naturelles

Effet	dL effet	MC Effet	DL Effet	MC Erreur	F	Niveau P
1	1	3534,21	8	2062,66	1,71343	0,226888

1-Variétés: Saïda, Acsad60.

**Tableau A13.** Analyse de la variance du taux de transmission par semence des deux variétés d'orge infectées en conditions artificielles

Effet	DI Effet	MC Effet	DI Erreur	MC Erreur	F	P
1	1	9424,90	8	503,40	18,7225	<b>0,002522</b>

1 - Variétés: Saïda inoculée, Acsad 60 inoculée.

**Tableau A14.** Test LSD pour l'effet variété

V		{1} 58,600	{2} 120,00
AI	{1}		0,002522
SI	{2}	0,002522	

V : Variétés, SI : Saïda Inoculée, AI : Acsad60 Inoculée,

## Résumé

Des prospections réalisées sur champs, dans les régions du centre et de l'est du nord de l'Algérie, ont mis en évidence la présence du Barley Stripe Mosaic Virus (BSMV) sur deux variétés de blé dur (Bellioni 3848 et GTA dur), une variété de blé tendre (Hiddab) et une variété d'orge (Rihane). Par ailleurs, une analyse phytosanitaire sur des lots de semences a été réalisée, et a révélé la présence de ce même virus sur deux variétés de blé dur (Chen's et Bellioni 3848), une variété de blé tendre (HD1220) et deux variétés d'orge (Rihane et Saïda).

L'étude du pouvoir pathogène du BSMV sur plants d'orge inoculés et non inoculés de la variété Acsad60 et Saïda a permis de noter deux types de symptômes (Petites stries blanchâtres et stries courtes jaunâtres). Le test ACP-ELISA appliqué pour ces derniers confirme que les deux symptômes relevés sont réellement induits par le BSMV.

L'étude du taux de transmission par semence du BSMV sur les jeunes semis issus de semence de plants inoculés et de plants non inoculés, des deux variétés d'orge a montré par le test TBIA que ces taux de transmission étaient plus élevés chez la variété Saïda pour les deux essais (66% inoculé et 73,8% non inoculé). Par contre l'analyse par groupe utilisant la DAS-ELISA a démontré que pour ces deux variétés le taux de transmission est comparativement très faible, variant de 0 à 2,05 %

**Mots clés :** Céréales, BSMV, ACP-ELISA, DAS-ELISA, TBIA, pouvoir pathogène, taux de transmission par semence.

## Abstract

Prospections have been conducted on fields in the areas of the center and the east of the north of Algeria, proved the presence of Barley Stripe Mosaic Virus (BSMV) on two varieties of durum wheat (Bellioni 3848 and GTA dur), a variety of soft wheat (Hiddab) and a variety of barley (Rihane). In addition, the virus identification was also conducted on some seeds batches, and revealed the presence of this same virus on two varieties of durum wheat (Chen's and Bellioni 3848), a variety of soft wheat (HD1220) and two varieties of barley (Rihane and Saida).

The study of the pathogenicity of the BSMV on inoculated and not inoculated varieties (Acsad60 and Saida) noted two types of symptoms (whitish Small stripes and yellowish short stripes). The test ACP –ELISA applied for the latter confirmed that the two symptoms are really induced by the BSMV.

The study of the rate of transmission by seed of the BSMV on seedlings, resulting from seed of inoculated and not inoculated plants of the two varieties of barley, showed by test TBIA that these rates of transmission were higher at the Saïda variety for the two tests (66% inoculated and 73, 8% not inoculated). On the other hand, group analysis using DAS-ELISA, showed that for these two varieties the rate of transmission is comparatively very weak, variable from 0 to 2, 05 %.

**Key words:** Cereals, BSMV, ACP-ELISA, DAS-ELISA, TBIA, Pathogenicity, rate of transmission by seed

## ملخص

المسح الحقلى للمناطق الوسطى و الشرقية لشمال البلاد كشف عن وجود فيروس الفسيفساء المخطط للشعير على أوراق صنفين من القمح الصلب ( Bellioim 3848 و GTA dur ) ، صنف من القمح اللين (Hiddab) و صنف من الشعير (Rihane) . و من جهة أخرى بين الفحص المخبري عن وجود نفس الفيروس على بذور صنفين من القمح الصلب ( chen's و Bellioim 3848 ) ، صنف من القمح اللين ( HD1220 ) و صنفين من الشعير ( Saïda et Rihane ) .

أما الدراسة المتعلقة بقدرة فيروس BSMV على إمرض نبات الشعير بالطريقة الطبيعية و طريقة العدوى الميكانيكية على الصنفين (Saïda et Acsad60) فقد أظهرت هذه الأخيرة وجود نوعيين من الاعراض : خطوط صغيرة بيضاء و خطوط صغيرة صفراء و قد تأكد ذلك عن طريق الاليزا الغير المباشر ACP-ELISA.

دراسة نسبة انتقال فيروس BSMV بإستعمال إختبار بصمة النسيج النباتي TBIA على باذرات ناتجة عن بذور المتحصل عليها من نبات الشعير المعالج و الغير المعالج بطريقة العدوى الميكانيكية للصنفين Acsad60 و Saïda أظهرت أن نسبة انتقال الفيروس كانت مرتفعة بالنسبة لصنف Saïda (غير المعالج: 78% و المعالج بالطريقة العدوى الميكانيكية : 66%). بعكس ذلك أظهرت نتائج "التحليل بالافواج" باستعمال الطريقة الاليزا المباشرة DAS-ELISA أن نسبة انتقال الفيروس ضعيفة عند الصنفين مقارنة بنتائج الطريقة السابقة ، و تتراوح ما بين 0 % إلى 2,5%.

**كلمات المفتاح:** الحبوب ، BSMV ، ACP-ELISA ، DAS-ELISA ، TBIA , القدرة الامراضية، نسبة إنتقال الفيروس عن طريق البذور.