

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mohamed Khider Biskra

Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



N°ordre:.....

Série :.....

THÈSE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT LMD

EN SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : VALORISATION ET CONSERVATION DE RESSOURCES NATURELLES

Présentée par : RAHALI Maha

THÈME

Contribution à L'analyse génétique et virale de quelques variétés de vignes cultivées à Babar, Khenchela

Soutenue le : 24 /06/ 2020

Devant le jury composé de :

MOUSSI Abdelhamid

Professeur Président Université de Biskra

LAIADI Ziane

Professeur Directeur Université de Biskra

CRESPAN Manna

Docteur Co-Directeur centre de recherche en viticulture et œnologie (CREA) à Conegliano, Italie

ROUAG Noureddine

Professeur Examineur Université Ferhat Abbas de Sétif 1

BENMEDDOUR Tarek

M C A Examineur Université de Biskra

Année universitaire 2019-2020

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier notre **Dieu**, le tout puissant qui m'a donné la force et la résolution pour réaliser ce travail.

Je remercie vivement le professeur **Laiadi Ziane**, mon directeur de thèse, qui m'a accueillie dans son équipe et pour sa grande volonté à me suivre tout au long de ce travail.

Je remercie aussi tous les membres de jury, Monsieur **MOUSSI Abdelhamid** professeur à l'Université de Biskra, Monsieur **ROUAG Noureddine** professeur à l'Université Ferhat Abbas de Sétif 1, Monsieur **BENMEDDOUR Tarek** Maître de conférences classe A à l'Université de Biskra pour avoir accepté de juger et d'évaluer ce travail.

J'exprime ma plus sincère gratitude au docteur **Manna Crespan** pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire, pour son aide, son grand sens d'humanisme, sa grande générosité, sa compréhension, sa tendresse, et ses encouragements.

J'exprime ma reconnaissance au docteur **Daniele Migliaro** qui m'a appris le goût de la biologie moléculaire, je tiens à le remercier pour sa patience et disponibilité, ses précieux conseils...

Merci pour le temps et l'énergie qu'il a investis pour le bon déroulement de ce projet de sa conception à sa réalisation.

Grâce à **Manna** et **Daniele**, je garde des souvenirs idylliques de mon séjour à Italie !

Un grand merci pour la sympathie, la confiance et la liberté d'action dont j'ai bénéficié tout au long de mon stage à Conegliano en Italie

Je remercie mes co-auteurs le docteur **Elisa Angelini**, le docteur **Nadia Bertazon** pour leur contribution, j'ai beaucoup apprécié nos interactions et j'ai énormément appris à votre contact ; cela m'a fait plaisir d'avoir travaillé avec vous !

Je tiens à remercier le docteur **Riccardo Velasco** pour m'avoir accueilli au sein du centre de recherche en viticulture et œnologie à Conegliano, Italie et à toute l'équipe de recherche à ce centre.

Je tiens à remercier l'équipe de travail à la Direction de l'agriculture de Khenchela.

GRAZIE

Esprimo la mia sincera gratitudine alla Dott.ssa **Manna Crespan** per avermi accolto nel suo laboratorio, per il suo aiuto, il suo grande senso di umanesimo, la sua grande generosità, la sua comprensione, la sua tenerezza e il suo incoraggiamento.

Esprimo la mia gratitudine al Dr. **Daniele Migliaro** che mi ha insegnato il gusto della biologia molecolare, voglio ringraziarlo per la sua pazienza e disponibilità, i suoi preziosi consigli, grazie per il tempo e l'energia che ha investito per il buon funzionamento di questo progetto dal concepimento al completamento.

Un grande grazie per la simpatia, la fiducia e la libertà di azione di cui ho goduto durante il mio tirocinio a Conegliano in Italia

Grazie a Manna e Daniele, conservo ricordi idilliaci del mio soggiorno in Italia!

Ringrazio la mia coautrice, la dott.ssa **Elisa Angelini**, la dott.ssa **Nadia Bertazzon** per il loro contributo, ho molto apprezzato le nostre interazioni e ho imparato molto da voi ; mi ha fatto felice di aver lavorato con te !

Vorrei ringraziare il Dott. **Riccardo Velasco** per avermi dato il benvenuto al Centro di Ricerca in Viticoltura ed Enologia a Conegliano, in Italia e all'intero gruppo di ricerca in questo centro.

ملخص

هذا العمل يمثل الدراسة الأولى من نوعها في الجزائر المعتمدة على الإستراتيجية الأوروبية لحفظ المادة الوراثية للكروم، يركز هذا البحث على تقييم التنوع البيولوجي والحالة الصحية للكروم المهملة في منطقة بابار شمال شرق الجزائر. من اجل ذلك، تم تحليل 37 عينة من الكروم باستخدام 12 علامة SSR نووية، مع تحديد الشحنة الفيروسية بواسطة تقنية RT-qPCR. النتائج المحصل عليها توضح الموروث المعقد والغني والمثير للدهشة للتنوع البيولوجي للعنب في هذه المنطقة الصغيرة جداً، وذلك بفضل تحديد ثلاثة عشر نوعاً مختلفاً؛ تبين أن عشرة منها عبارة عن مرادفات جديدة لأصناف تزرع حول البحر الأبيض المتوسط، نتيجة لتبادل المواد الوراثية عبر التاريخ. كما أن هذه الدراسة هي التقرير الأول عن وجود الصنف الإيطالي «باسكال دي كاغلياري» خارج إيطاليا. هذا العمل يشير إلى وجود ثلاث أصناف جديدة يمكن أن تمثل أصناف جزائرية فريدة من نوعها خاصة بمنطقة بابار. علاوة على ذلك، نتائج هذا البحث بينت ان الحالة الصحية لكروم العنب في بابار جيدة جداً عموماً، وبذلك تشكل هذه الكروم مصدرًا بيولوجيًا مهمًا للانتقاء النسيلي والتربية المستدامة وتحسين العنب في المستقبل. بالتالي، يُنصح بشدة بالحفاظ على هذه الأنماط الجينية المهددة بالانقراض.

الكلمات المفتاحية: أصناف الكروم الجزائرية، الميكروستيلات النووية، المترادفات، الحالة الفيروسية، باسكال دي كاغلياري، بابار.

RÉSUMÉ

Ce travail constitue la première étude en Algérie menée sur la stratégie Européenne pour la conservation des matériels génétiques de la vigne. Cette recherche porte sur l'évaluation de la biodiversité et le statut sanitaire des vignes négligées à Babar, le Nord-est Algérien. Pour atteindre cet objectif ; 37 échantillons de vignes ont été analysés à l'aide de 12 marqueurs SSR nucléaires, en déterminant la charge virale en utilisant la technique RT-qPCR. Les résultats obtenus montrent l'héritage complexe, riche et même surprenant de la biodiversité viticole dans cette région si petite, grâce à l'identification de treize génotypes différents ; dix d'entre eux se sont révélées d'être de nouveaux synonymes de variétés cultivées autour de la Méditerranée, à la suite d'échanges de matériel génétique a travers l'histoire. En revanche, cette étude est le premier rapport sur l'existence de la variété Italienne "Pascale di Cagliari" en dehors de l'Italie. D'autre part, ce travail suggère l'existence de trois nouvelles variétés peuvent représenter des variétés Algériennes uniques et spécifiques à la région de Babar. De plus, l'état sanitaire de la vigne de Babar étant généralement très bon, donc ces vignes constituent une source biologique précieuse pour la sélection clonale et l'amélioration de la vigne. Alors, la conservation de ces génotypes en voie de disparition est fortement recommandée.

Mots-clés : variétés de vignes Algériennes, microsatellites nucléaires, synonymie, l'état viral, Pascale di Cagliari, Babar.

SUMMARY

This work is the first study in Algeria based on the European strategy for the conservation of vine genetic material. This research focuses on the assessment of biodiversity and the sanitary status of neglected vines in Babar in northeastern Algeria. To reach this goal, 37 vine samples analyzed using 12 nuclear SSR markers, with a viral status study by determining the viral load by the RT-qPCR technique. The obtained results demonstrate the complex, rich, and even surprising inheritance of grapevine biodiversity in this so small region, thanks to the identification of thirteen different genotypes; ten of them revealed to be new synonyms of varieties grown around the Mediterranean, as a result of previous exchanges of genetic material that occurred throughout history. On the other hand this study is the first report on the existence of the Italian variety «Pascale di Cagliari» outside Italy. This work suggests the existence of three new varieties could represent unique Algerian varieties specific to Babar area. Furthermore, the sanitary status of Babar's grapevines was generally very good, so these vines constitute a valuable biological source for clonal selection and improvement of grapevine. So, the conservation of these endangered genotypes is highly recommended.

Key words: Algerian vine varieties, nuclear microsatellites, synonymy, viral status, Pascale di Cagliari, Babar.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES PHOTOS

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INTRODUCTION.....1

PARTIE 1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. APERÇU HISTORIQUE ET ÉCONOMIQUE.....4

1.1. Origine et domestication de la vigne..... 4

1.1.1 La diffusion de la vigne autour de la Méditerranée.....5

1.1.2. Le périple mondial de la vigne.....6

1.2. Histoire de la viticulture Algérienne.....7

1.2.1. Vignoble de l'ancienne Algérie.....7

1.2.2. Vignoble de l'Algérie coloniale (1830-1962)8

1.2. 3. Vignoble de l'Algérie indépendante.....9

1.2.4. Vignoble de l'Algérie actuelle.....9

1.3. Situation économique de la viticulture.....10

1.3.1. Situation économique de la viticulture mondiale.....10

1.3.2. Situation économique de la viticulture Algérienne.....12

2. BIOLOGIE DE LA VIGNE.....14

2.1. Description botanique.....14

2.2. Position systématique.....15

2.2.1. Le sous genre *Muscadinia*.....16

2.2.2. Le sous genre *Vitis*.....16

2.2.2.1. *Vitis* Américains.....17

2.2.2.2. *Vitis* Asiatiques.....17

2.2.2.3. *Vitis* Européens.....17

2.3. Le génome de la vigne.....18

2.4. Les majeures viroses de la vigne.....19

2.4.1. Le court-noué ou dégénérescence infectieuse.....19

2.4.1.1. Description.....19

2.4.1. 2. Symptômes.....	20
2.4.1.3. Transmission.....	21
2.4.2. L'enroulement viral de la vigne.....	22
2.4.2.1. Description.....	22
2.4.2.2. Symptômes.....	22
2.4.2.3. Transmission.....	24
2.4.3. Le complexe du bois strié.....	24
2.4.3.1. Description.....	24
2.4.3.2. Symptômes.....	25
2.4.3.3. Transmission.....	26
3. MICROSATELLITES ET BIODIVERSITÉ VITICOLE.....	27
3.1. Définition des microsatellites.....	27
3.2. Classification des microsatellites.....	27
3.3. Microsatellites comme marqueurs de choix.....	28
3.4. Les marqueurs SSR et la vigne.....	29
3.4.1. Nombre de microsatellites développés pour la vigne.....	29
3.4.2. Les SSR nucléaires et la vigne.....	30
3.4.3. Les SSR chloroplastiques et la vigne.....	30
3.4.4. Les applications des microsatellites dans le domaine <i>VITIS</i>	32

PARTIE 2. RÉALISATION EXPÉRIMENTALE

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	33
1.1. Présentation de la région d'étude.....	33
1.2. Description des échantillons.....	34
1.3. Identification génotypique	61
1.3.1. Extraction de l'ADN génomique.....	62
1.3.2. Quantification et contrôle de pureté de l'ADN extrait.....	62
1.3.3. Amplification des SSR par PCR.....	63
1.3.3.1. Préparation des solutions mixtes.....	63
1.3.3.2. Conditions de PCR.....	65
1.3.4. Préparation des produits de PCR pour l'analyse.....	65

1.3.5. Analyse des produits de PCR	66
1.3.6. Analyse bioinformatique des données	66
1.4. Analyses statistiques des données.....	69
1.4.1. La diversité génétique.....	69
1.4.2. Analyse des regroupements.....	70
1.4.2.1. Analyse en Coordonnées Principales (PCoA)	70
1.4.2.2. Analyse phylogénétique.....	70
1.5. Étude de la charge virale	71
1.5.1. Extraction des ARN totaux.....	71
1.5.2. Rétro transcription (RT)	72
1.5.3. PCR quantitatif	72
1.5.4. Évaluation de la spécificité de qPCR.....	73
2. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	74
2.1. Quantification et contrôle de pureté de l'ADN extrait.....	74
2.2. Identifications des variétés.....	75
2.3. Résultats statistiques	81
2.3.1. Estimation de la diversité génétique.....	81
2.3.2. Résultats des regroupements	83
2.3.2.1. Analyse en Coordonnées Principales (PCoA)	83
2.3.2.2. Résultats phylogénétiques	84
2.4. Analyse de statut sanitaire.....	88
2.4.1. Quantification de la charge virale	88
2.4.2. Validation de la qPCR.....	94
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	96
BIBLIOGRAPHIE.....	100
ANNEXES	

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Intitulé	Page
Tableau 1	Répartitions géographiques et certaines caractéristiques des chlorotypes principaux chez <i>Vitis vinifera</i> L.	31
Tableau 2	Liste des accessions analysées, y compris le nom, la couleur des baies, signification de nom de l'échantillon.	60
Tableau 3	Noms, séquences d'amorces et références des microsatellites utilisés.	64
Tableau 4	Composition de cocktail des amorces.	64
Tableau 5	Composition de la solution mixte pour la PCR.	65
Tableau 6	Sites Web de tous les logiciels de génétique de population utilisés lors de cette étude.	70
Tableau 7	Les paires d'amorces oligonucléotidiques utilisées pour l'analyse qPCR.	73
Tableau 8	Concentration et pureté de l'ADN extrait.	74
Tableau 9	Variétés analysées avec leurs génotypes correspondants aux locus SSR nucléaires.	76
Tableau 10	Couleur des baies, correspondances variétales et pays d'origine des 37 vignes.	77
Tableau 11	Paramètres de variabilité génétique en basant sur 12 marqueurs SSR pour les 13 génotypes obtenus.	81
Tableau 12	Matrice des distances génétiques.	82
Tableau 13	Les valeurs de quantification Cycle (Cq) obtenues.	89
Tableau 14	État sanitaire des échantillons de vigne, testé par RT-qPCR pour huit virus.	90

LISTE DES FIGURES

Numéro	Intitulé	Page
Figure 1	Scène illustrée sur les murs de la tombe de Khâemouaset 1450 av. J-C (Unwin, 1991).	4
Figure 2	L'un des six pots néolithique contenant du vin résiné à Iran (McGovern, 2003).	5
Figure 3	Carte postale 1910 d'une image des expéditions de vin au départ d'Oran, en Algérie, pour la France (Maia, 2013).	8
Figure 4	Évolution de superficie du vignoble mondial (O IV, 2019).	11
Figure 5	Description botanique de <i>Vitis vinifera sativa</i> (Dufour, 2011).	14
Figure 6	Localisation géographique des groupes de <i>Vitis</i> : Américains, Asiatiques et Européens (Zah-bi, 2014).	16
Figure 7	Principales différences morphologiques entre la vigne sauvage (<i>V. vinifera</i> L. ssp <i>silvestris</i> , à droite) et la vigne cultivée (<i>V. vinifera</i> L. ssp <i>sativa</i> , à gauche) au niveau des feuilles, fleurs, grappes à maturité et pépins (This et al., 2006).	17
Figure 8	Symptômes de la maladie du court-noué de la vigne sur la plante entière, les feuilles (A et B), les sarments (C) les fruits (D) (Samaali et al., 2015).	21
Figure 9	Les symptômes de l'enroulement, chez une variété rouge (A), chez une variété blanche (B) (Martinson, 2008).	23
Figure 10	Symptômes du bois rugueux, piqûres et gorges sur la tige (Maliogka et al., 2014).	25
Figure 11	Principe de distinction inter-variétale en utilisant les SSR (Yang et al., 2015).	28
Figure 12	Situation géographique de Babar en Algérie.	33
Figure 13	Carte des localisations des échantillons.	59
Figure 14	Schéma physique simplifié les étapes d'identification génotypique.	61
Figure 15	Le déroulement d'analyse bioinformatique.	68
Figure 16	Exemples d'électrophorogrammes avec des pics colorés représentant des allèles SSR.	75
Figure 17	Graphique PCoA, l'axe 1 explique 21,72% de variation et l'axe 2 avec	83

	14,80% de variation.	
Figure 18	Dendrogramme illustrant les relations génétiques entre 13 géotypes construit selon l'algorithme NJ.	83
Figure 19	Profils d'amplification qPCR obtenus pour le virus GRSPaV.	88
Figure 20	Un diagramme circulaire montrant en pourcentages le statut sanitaire de la vigne cultivée à Babar.	91
Figure 21	Un diagramme circulaire montrant en pourcentages l'infection par chaque virus de la vigne cultivé à Babar.	92
Figure 22	Carte de propagation géographique du virus à Babar.	93
Figure 23	Profils de fusion des produits qPCR obtenus pour GVA, Représentation de la fluorescence en fonction de la température.	95
Figure 24	Représentation de la dérivée de la fluorescence sur la dérivée de la température ($-dF/dT$) en fonction de la température.	95

LISTE DES PHOTOS

Numéro	Intitulé	Page
Photo 1	La feuille adulte de l'échantillon 1	35
Photo 2	La feuille adulte de l'échantillon 2	35
Photo 3	La feuille adulte de l'échantillon 3	36
Photo 4	La feuille adulte de l'échantillon 4	37
Photo 5	La feuille adulte de l'échantillon 5	37
Photo 6	La feuille adulte de l'échantillon 6	38
Photo 7	La feuille adulte de l'échantillon 7	39
Photo 8	La feuille adulte de l'échantillon 8	39
Photo 9	La feuille adulte de l'échantillon 9	40
Photo 10	La feuille adulte de l'échantillon 10	41
Photo 11	La feuille adulte de l'échantillon 11	41
Photo 12	La feuille adulte de l'échantillon 12	42
Photo 13	La feuille adulte de l'échantillon 13	43
Photo 14	La feuille adulte de l'échantillon 14	43
Photo 15	La feuille adulte de l'échantillon 15	44
Photo 16	La feuille adulte de l'échantillon 16	45
Photo 17	La feuille adulte de l'échantillon 17	45
Photo 18	La feuille adulte de l'échantillon 18	46
Photo 19	La feuille adulte de l'échantillon 19	47
Photo 20	La feuille adulte de l'échantillon 20	47
Photo 21	La feuille adulte de l'échantillon 21	48
Photo 22	La feuille adulte de l'échantillon 22	49
Photo 23	La feuille adulte de l'échantillon 23	49
Photo 24	La feuille adulte de l'échantillon 24	50
Photo 25	La feuille adulte de l'échantillon 25	51
Photo 26	La feuille adulte de l'échantillon 26	51
Photo 27	La feuille adulte de l'échantillon 27	52
Photo 28	La feuille adulte de l'échantillon 28	53
Photo 29	La feuille adulte de l'échantillon 29	53
Photo 30	La feuille adulte de l'échantillon 30	54
Photo 31	La feuille adulte de l'échantillon 31	54
Photo 32	La feuille adulte de l'échantillon 32	55
Photo 33	La feuille adulte de l'échantillon 33	56
Photo 34	La feuille adulte de l'échantillon 34	56
Photo 35	La feuille adulte de l'échantillon 35	57
Photo 36	La feuille adulte de l'échantillon 36	58
Photo 37	La feuille adulte de l'échantillon 37	58

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- ADN : Acide DésoxyRibonucléique
- ADNc : ADN complémentaire
- ARN : Acide RiboNucléique
- av. J.-C : Avant Jésus-Christ
- BP : Before Present
- °C : Degré celsius
- CE : CONSEIL Européenne
- cpSSR : SSR chloroplastique
- CSIRO : organisme de recherche scientifique et industriel du Commonwealth
- Cv : Cultivar
- dNTP : désoxycléoside triphosphate
- -dRFU/dT la dérivée de l'unité de fluorescence relative sur de la température
- EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétra-Acétique
- FAO : Food and Agriculture Organization
- g : gramme
- ha : hectares
- Hsp70 : heat shock proteins
- INA l'Institut national agronomique
- IPGRI: International Plant Genetic Research Institute
- km² : Kilomètre carré
- M : Mole
- M1 : Multiplex1
- M 2 : Multiplex2
- mg : Milligramme.
- µg : microgramme
- min : minute
- ml : millilitre
- µl : Microlitre
- µM : Micromolaire
- mM : milliMolaire

- MMLV : Moloney murine leukemia virus
- ng : nanogramme
- NJ : Neighbor-Joining algorithm
- pb : Paire de bases
- PCR : Polymerase Chain Reaction / Réaction de polymérisation en chaîne
- pH : Potentiel Hydrogène
- PVP : Poly VinylPyrolindone
- qPCR : PCR quantitative
- RFU : unité de fluorescence relative
- RNase : ribonucléase
- rpm : Rotation Par minute
- RpRSV : Raspberry Ringspot Virus
- RT : Reverse Transcription, transcription inverse
- RT-PCR : Reverse transcription- PCR
- RT-qPCR : Reverse transcriptase quantitative PCR
- ssp : sous-espèce
- SSR : (Short sequence repeat) petite séquence répétée ou microsatellite
- subg : (subgenus) sous-genre
- subsp : (subspecies) sous-espèce
- T : Température
- Taq : *Thermus aquaticus*
- TE : Tris-EDTA
- UV : Ultra violet
- UV-Vis : Ultraviolet-Visible
- U/ml : Unité d'activité enzymatique / millilitre
- *V.* genre *Vitis*

INTRODUCTION

En raison de son caractère irremplaçable, la biodiversité est le meilleur héritage que l'on puisse léguer aux futures générations et la préservation de la biodiversité est l'un des principaux enjeux auxquels est confrontée l'humanité.

De ce fait, les ressources génétiques représentent un patrimoine qui nécessite une préservation et exploration afin d'avoir une meilleure exploitation, pour assurer une agriculture durable, la caractérisation de la diversité génétique de ces ressources naturelles devient indispensable.

Le contexte vigne est l'une des cultures horticoles les plus précieuses au monde, chargée d'histoire de symboles et offrant une diversité exceptionnelle (This et *al.*, 2006).

La diversité de l'encépagement Algérien est issue de nombreuses civilisations durant l'histoire de l'Algérie, sachant que, la viticulture en Algérie y avait commencé avant l'arrivée des Romains par la population autochtone d'Afrique du Nord les «Berbères» ou «Numidiens» (Jallet-Huant, 2006 ; Sarolta et Farah, 2015).

Cependant, l'Algérie était un jour le quatrième producteur et le premier exportateur mondial du vin, mais, en 1996, la FAO avait déclaré que la destruction des forêts en Afrique était la principale cause de l'érosion génétique (Vié et *al.*, 2009). En plus en (2005), le ministère de l'environnement Algérien a déclaré que la perte de biodiversité viticole est de 95 % (Mediouni, 1997 ; Meloni et Swinnen, 2014).

Cette situation est due au fait qu'une disparition rapide des variétés locales sans protection ni conservation systématique, ce qui accélère les risques d'érosion génétique chez cette espèce et limite les recherches dans ce domaine. Quoique nombreuses études moléculaires de cultivars de vigne ont été réalisées dans le monde entier, mais peu d'entre elles ont décrit les variétés Algériennes.

Concernant l'Algérie, la plupart des travaux publiés jusqu'alors ne comptent que sur l'identification génétique telle que l'étude de Laiadi et *al.*, (2009) qui ont caractérisé certains cultivars autochtones de la partie orientale de l'Algérie, suivis de ceux de Riahi et *al.*, (2010) ; El oualkadi et *al.*, (2011) et Riahi et *al.*, (2012) qui s'intéressent aux certains cultivars de la région du Maghreb mais toutes ces études ont porté sur des variétés conservées dans des collections.

Actuellement, pour la vigne il est pratique de vérifier la variété à conserver en utilisant des marqueurs moléculaires, mais il est également très important de vérifier l'état sanitaire des plantes, les désinfecter si nécessaire pour fournir une culture optimale.

La thématique de ce projet de thèse s'inscrit dans l'axe de préservation de la biodiversité, il s'agit de caractérisation approfondie des ressources génétiques centrées sur le compartiment cultivé de la vigne encore présente à Babar au pied des Aurès le Nord-est Algérien.

Cette étude qui est la première en Algérie qui reposée sur la stratégie Européenne de la conservation des matériels génétiques de la vigne, s'est basée sur ces questions importantes :

Est-ce qu'il existe des variétés de vignes Algérienne originales et uniques menacées d'extinction qui nécessite une intervention urgente pour les conserver ?

D'une autre part, est-ce que ces variétés locales sont en bonne santé pour les sauver dans une collection ?

De ces questions principales découlent nos objectifs qui sont :

Objectif 1 : D'une part, explorer le patrimoine variétal de la vigne encore présente à Babar, et contribuer à la conservation des ressources génétiques des cépages autochtones indigènes en Algérie.

D'autre part, l'identification des homonymies pour éviter la perte de variabilité et la détection de synonymies pour éviter le maintien de matériaux dupliqués qui ne seront pas contribuées à augmenter la variabilité mais à augmenter les coûts.

À ce propos, ce travail s'est effectué en utilisant les microsatellites les plus efficaces pour identifier les cépages et analyser la diversité de population, en raison de leur degré élevé de polymorphisme par rapport aux autres marqueurs moléculaires (Aradhya et *al.*, 2003 ; Cabello et *al.*, 1999 ; Laucou et *al.*, 2011 ; This et *al.*, 2004).

À un niveau plus fondamental, ce type d'étude permet également de préciser les relations historiques qui ont existé entre les variétés et les peuples qui les cultivées.

Nous parions sur l'existence des cépages uniques dans cette région pleine d'histoire, car en 2016, « Babar » est sélectionné comme échantillon représentatif de la richesse et de la diversité naturelle en l'Algérie, dans les dix villes pilotes du projet de coopération entre le gouvernement Algérien et l'Union Européenne et le Programme des Nations Unies pour le

développement (PNUD), parmi 1541 communes Algérienne (Ministère de l'Intérieur, des Collectivités Locales et de l'Aménagement du Territoire, 2017).

En plus, Gauquelin (1999) et Beghami et *al.*, (2013) ont prouvé que les Aurès constituent un écosystème unique en présence d'espèces végétales qui n'existent pas dans toute l'Algérie.

Objectif 2 : Découvrir le statut sanitaire de la vigne de Babar, pour cela la réalisation de ce travail comporte la détection et la quantification de la charge virale en utilisant la technique RT-qPCR.

PARTIE. 1

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

1. APERÇU HISTORIQUE ET ÉCONOMIQUE

1.1. Origine et domestication de la vigne

Deux grandes périodes de propagation caractérisent l'histoire de la vigne, la première se fait essentiellement aux abords du bassin méditerranéen, la seconde prend une envergure mondiale, aujourd'hui la vigne est cultivée dans les 5 continents (Legouy et Boulanger, 2015). La religion était fortement associée à la domestication de la vigne et particulièrement à la découverte du vin comme une boisson chargée de significations mystiques et considérée par les cultures anciennes comme un cadeau des dieux.

Cette signification du vin a donné à la vigne une position privilégiée parmi les plantes cultivées, donc la culture de raisin occupe une place prépondérante dans la mythologie de toutes les civilisations qui l'adopteraient (Bouquet et *al.*, 2008 ; McGovern, 2003).

Les anciens Égyptiens (2500 avant J-C) ont attribué le don du vin à «Osiris» qui reçut le titre de seigneur du vin (Figure 1), chez les Grecs c'est «Dionysos» (Dieu hellénique du vin), de leur côté les Romains ont attribué le don du vin à «Bacchus» et dans les textes des évangiles chrétiens le vin représente le sang de Jésus-Christ (Arnold, 2002 ; Mullins et *al.*, 1992).

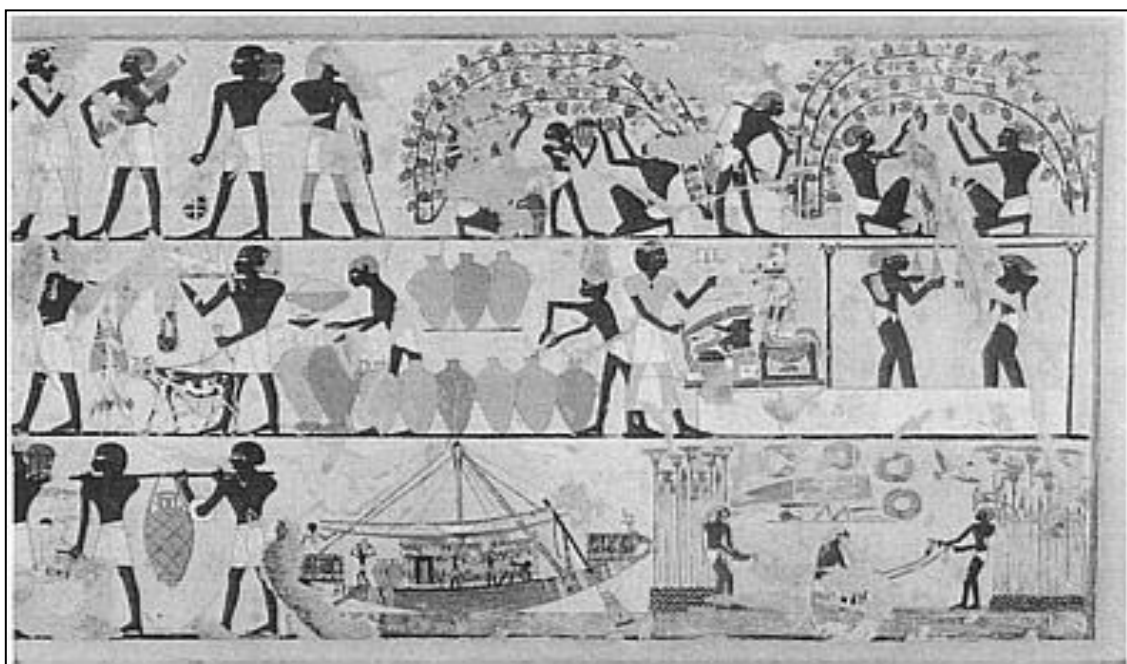


Figure 1. Scène illustrée sur les murs de la tombe de Khâemouaset 1450 av.J-C (Unwin, 1991).

1.1.1. La diffusion de la vigne autour de la Méditerranée

Vu son importance économique, la vigne est suggérée d'avoir paru pour la première fois depuis 65 millions d'années. La plupart des preuves indiquent que la vigne actuellement plantée dans le monde entier a été domestiquée entre 6000 et 5000 av. J-C ; dans une région connue sous le nom de Transcaucasie occupée aujourd'hui par : le Nord-ouest de la Turquie, le Nord de l'Irak, l'Azerbaïdjan, la Géorgie, l'Anatolie, Iran et l'Arménie (McGovern, 2003 ; Mullins *et al.*, 1992 ; This *et al.*, 2006 ; Zohary, 1995).

Les premières preuves de la production du vin sous la forme de résidus chimiques dans un pot de stockage à Hajji Firuz Tepe (le Nord de Zagros dans les régions montagneuses du Proche-Orient d'Iran), ce pot, avec un volume d'environ 10 litres (Figure 2) a été trouvé avec cinq pots similaires sur un mur d'une cuisine néolithique (daté à 5400-5000 av. J-C) sont pour l'instant les témoins les plus anciens du vin de raisin (McGovern, 2003 ; Riaz *et al.*, 2007).

Les gens qui vivaient dans ces régions dans les temps anciens connus sous le nom d'Asiatiques ont découvert l'utilité des raisins et ont pris la vigne avec eux sur leurs routes de commerce (Creasy et Creasy, 2009 ; Levadoux, 1956).



Figure 2. L'un des six pots néolithique contenant du vin résiné à Iran (McGovern, 2003).

À partir des sites de primo-domestication, la viticulture s'est étendue à des régions voisines telles que la Basse Mésopotamie, le Croissant Fertile, le delta du Nil (environ 5500-5000 BP), puis à partir de ces régions, la viticulture se propagée autour du bassin méditerranéen. De ce fait, le Proche-Orient, le Moyen-Orient et l'Europe centrale peuvent avoir constitué des centres de domestications secondaires (Arroyo-Garcia et *al.*, 2006 ; Grassi et *al.*, 2003 ; McGovern, 2004 ; This et *al.*, 2006).

Ce sont les Perses et les Phéniciens qui propageaient la vigne d'Est vers l'Ouest, particulièrement vers la Grèce, les débuts de la viticulture auraient commencé lors de cinquième millénaire av. J.-C au Maghreb et en Espagne, mais en Italie, le témoignage le plus antique de la viticulture remonte au neuvième siècle av. J.-C. Plus tard, grâce aux Romains qui ont été les premiers à donner des noms aux cépages, mais il est difficile de les relier aux cultivars modernes, la vigne s'étendait à travers l'Europe depuis les rives occidentales jusqu'au Rhin et au Danube (Bouquet, 1982, 2011 ; Di Vora et Castelletti, 1995 ; Terral et *al.*, 2010 ; This et *al.*, 2006).

Après la chute de l'empire Romain, la culture de vigne est entrée en déclin, mais la propagation du Christianisme vers le nord de l'Europe a conduit à l'établissement d'un nouveau commerce international du vin, du coup l'église catholique a remplacé les Romains dans la propagation de la viticulture (Bouquet et *al.*, 2008 ; Johnson, 1989 ; Legouy et Boulanger, 2015).

1.1.2. Le périple mondial de la vigne

La seconde grande période de propagation de la vigne correspond à la conquête du monde par les populations Européennes aux temps modernes, la vigne se propage alors sur presque tous les continents.

Au sixième siècle, l'extension de l'islam en Afrique du Nord, en Espagne et au Moyen-Orient a également joué un rôle important dans la diffusion du raisin (en particulier raisins de table), cela a conduit à l'introduction de raisins de table en Espagne d'où ils se propagent à la France et l'Italie (Bouquet, 2011 ; Royer, 1988 ; This et *al.*, 2006).

Du seizième au dix-neuvième siècle, la viticulture a connu une croissance importante, malgré les attaques du phylloxéra, l'avantage le plus important de cette époque était la propagation de la vigne Européenne ; de l'Europe vers l'Amérique du Nord en raison de la

colonisation Espagnole du Mexique en 1524. Puis en accompagnant les colonisations et les missions, les raisins se sont propagés au Pérou en 1550, au Chili et en Argentine, sachant que la première introduction de raisin aux États-Unis était enregistrée en 1621 (Legouy et Boulanger, 2015 ; Olmo, 1976 ; Pouget, 1990).

Ensuite, la vigne est passée du Mexique à la Californie au milieu des années 1700, plus tard, de Bretagne la vigne s'est propagée vers l'Australie en 1788, puis à la Nouvelle-Zélande (Creasy et Creasy, 2009 ; Johnson, 1989 ; Riaz et *al.*, 2007).

1.2. Histoire de la viticulture Algérienne

1.2.1. Vignoble de l'ancienne Algérie

La viticulture a une longue histoire en Algérie suite à l'influence de diverses civilisations, invasions pendant plusieurs siècles, en fait, les baies de raisins sauvages ont été régulièrement consommées comme des fruits par les Berbères de l'Atlas avant les civilisations Romaines.

Les premières formes de vignes cultivées ont été introduites en Algérie par les Phéniciens, ces introductions et leurs dérivés putatifs résultant d'hybridations spontanées entre les formes cultivées et les formes sauvages peuvent être considérées comme les plus anciennes vignes dans la région (Isnard 1951 ; Levadoux et *al.*, 1971).

Plus tard, les Romains ont élargi la viticulture, ils ont utilisé l'Algérie comme grenier à blé de l'empire, mais la culture de la vigne ne fut pas absente en Algérie comme le montrent plusieurs mosaïques romaines qui attestent la viticulture en Algérie (Leroux, 1894).

Depuis la chute de l'empire Romain, le commerce du vin est entré en déclin, mais la propagation du Christianisme était une raison d'en porter le flambeau partout dans le monde grâce à son symbolisme dans la liturgie catholique (Albert, 1988 ; Bouquet et *al.*, 2008 ; Johnson, 1989 ; Mullins et *al.*, 1992).

Ensuite, la culture arabe a déterminé une nouvelle phase de l'histoire viticulture Algérienne axée sur la production de raisins destinés à la consommation directe, frais ou secs, donc des nouvelles variétés ont été largement introduites grâce à la conquête islamique, certaines d'entre elles venant de l'est de la Méditerranée comme «Muscat d'Alexandrie», alors que les autres variétés qui ont une taille considérable de grappes d'origine de la péninsule arabe (Aldebert et Orsat 1959 ; Isnard, 1951).

Isnard (1951) mentionne qu'au quatorzième siècle, la viticulture avait sa place dominante au Maghreb grâce aux musulmans durant leur époque. Plus tard, la contribution Turque n'est pas négligeable, cette époque est attestée par la présence de certains cépages de table d'origine Turque tels que « Chaouch », « Sultanina », « Rozaki ».

Pendant l'occupation Turque, il y avait un foyer important de viticulture à Tlemcen et les maisons étaient parées de différentes variétés de vigne (Belhout, 1990).

1.2.2. Vignoble de l'Algérie coloniale (1830-1962)

Depuis 1830, les Français ont été surpris par l'importance accordée à la viticulture en Algérie et l'incroyable vigne locale aimant le sol alluvionnaire, tel que les Aurès. En outre, durant la première année de l'occupation française en Algérie, environ 2 000 hectares de vignes ont été cultivés, principalement ceux appartenant à des fonctionnaires turcs et à des marchands berbères (Lequément, 1980 ; Leroux, 1894). Pendant cette période coloniale, malgré un million de colons d'européens qui consommaient une partie du vin produit, l'essentiel de cette production était destinée au marché français (Figure 3) pour en faire ce que l'on appelle un « vin médecin » ou un vin de coupage (Imache et *al.*, 2011).



Figure 3. Carte postale 1910 d'une image des expéditions de vin au départ d'Oran, en Algérie, pour la France (Maia, 2013).

Cette opportunité offrait donc un marché important et économiquement intéressant qui poussa les colons français à se spécialiser dans la production de vins de coupage destinés au marché français (en 1958, 39 % des importations coloniales sont constituées par le vin Algérien).

La production de vin en Algérie est destinée au marché français comme le vin de coupage qu'avait un rôle important dans l'économie du pays ; (en 1958, 39 % des importations coloniales sont constituées par le vin Algérien). Jusqu'à l'indépendance, le vin était le fondement de l'économie Algérienne, permettant au pays à 1960 d'être le quatrième producteur et le premier exportateur du vin dans le monde. L'Algérie avec ses 7 à 8 millions d'hectolitres exportés, assure à elle seule le quart du volume des transactions internationales (Gérard, 1967 ; Imache et *al.*, 2011 ; Meloni et Swinnen, 2014 ; Mullins, 1992).

1.2.3. Vignoble de l'Algérie indépendante

Depuis l'indépendance, l'Algérie était avec une production de 15 millions d'hectolitres de vin qui ne trouvait pas un marché intérieur, par conséquent le secteur vinicole est entré dans une phase négative, en réduisant la production et la superficie. Le gouvernement Algérien au début est essayé de soutenir l'économie du vin dans les années qui ont suivi l'indépendance, mais à chaque fois qu'un problème politique surgissait entre l'Algérie et la France, le gouvernement français n'hésitait pas d'utiliser les importations de vin d'Algérie comme moyen de pression sur le gouvernement Algérien.

A la fin des années 1960, la France a décidé, de façon unilatérale, de suspendre ses importations de vin d'Algérie, sachant qu'à cette époque le vin représentait l'activité économique la plus importante et constituait la principale source de revenus Algériens. Au début des années 1970, au cours de la crise diplomatique qui accompagne la nationalisation des hydrocarbures ; à cause des menaces françaises de ne plus acheter de vin Algérien. Le président «Houari Boumédiène» a décidé de reconvertir quatre-vingt-dix pour cent des vignobles à vin par la vigne de table et raisin sec (Aouf, 1972 ; Imache et *al.*, 2011 ; Isnard, 1969 ; Maia, 2013).

1.2.4. Vignoble de l'Algérie actuelle

L'Algérie a hérité une importante ressource génétique de la vigne avec des cas de synonymies et d'homonymies, Galet (2000) dans son dictionnaire mentionne 96 cépages Algériens, ainsi que le VIVC en 2019, (Catalogue international des variétés *Vitis*, VIVC; <http://www.vivc.de/>), contient quatre-vingt-trois variétés Algériennes.

Actuellement, une régression importante a touché le secteur de vignes en Algérie ; où les collections des cépages qui existaient autrefois au niveau de la station centrale de l'INA, de la ferme pilote de Khemis El Khechna, ferme pilote de Chebli et la ferme pilote viticole de Sidi-Bel-Abbes ont disparu à cause de l'urbanisation et la restructuration des terres agricoles.

Donc, la viticulture se heurte à plusieurs menaces et contraintes dues principalement à l'érosion importante du patrimoine génétique viticole, aux maladies de dégénérescence de la vigne, avec à l'absence d'une stratégie de conservation de ces ressources naturelles (Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement, 2014).

1.3. Situation économique de la viticulture

La vigne (*Vitis vinifera* L.) est largement utilisée dans l'industrie vinicole mondiale, aujourd'hui cette espèce est la source des 10 000 cultivars estimés qui produisent 99 % des vins du monde et des raisins de table (Burger et al., 2009 ; Olmo, 1976).

Les raisins sont principalement utilisés pour le vin, alors que, les raisins de table et les raisins secs forment le deuxième et le troisième rang, respectivement (FAO, 2006).

Le jus de raisin est produit à travers une combinaison de la douceur et l'acidité et peut être consommé immédiatement ou transformé (par exemple pasteurisé) pour créer un produit plus durable, les raisins sont également utilisés dans la production de gelée et d'autres conserves (Creasy et Creasy, 2009 ; Olien, 1990 ; Winkler et al., 1974).

En outre, il existe de nombreuses utilisations de produits de raisin, y compris la production d'éthanol, de vinaigre et l'huile de pépins de raisin (Thomas et al., 2005).

1.3.1. Situation économique de la viticulture mondiale

L'organisation internationale de vigne et du vin en 2019, a présenté un bilan global du secteur vitivinicole et signalé que la superficie viticole mondiale en 2018, correspondant aux surfaces totales plantées en vignes, y compris les surfaces n'étant pas encore en production

pour toutes destinations (cuve, table et séchage), serait presque équivalente à celle de 2017 et atteindrait les 7,4 millions d'hectares (Figure 4).

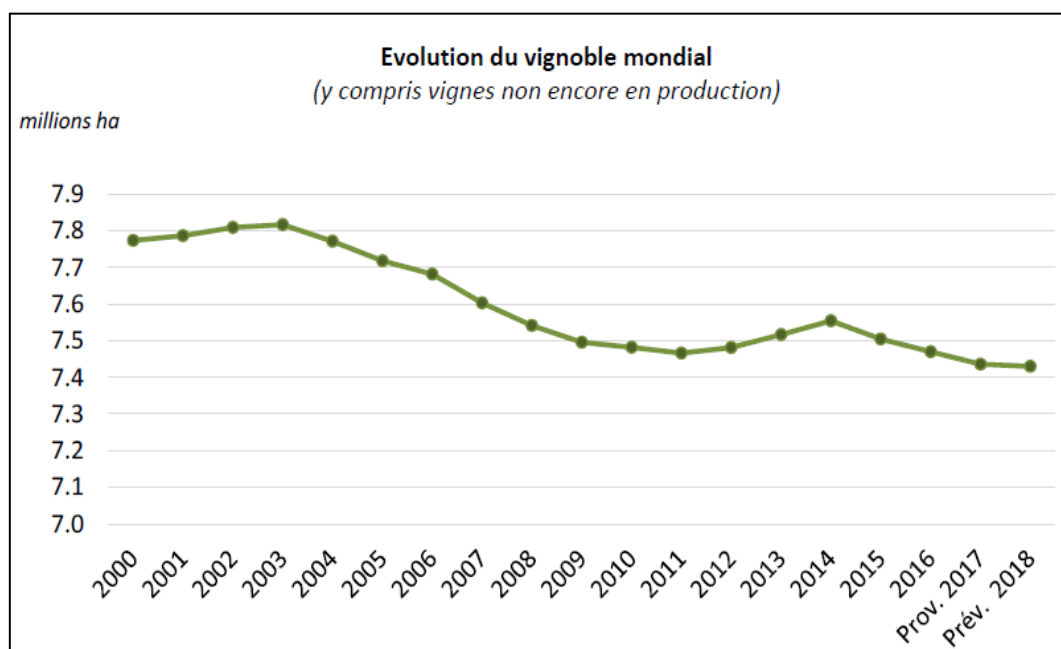


Figure 4. Évolution de superficie du vignoble mondial (O IV, 2019).

D'une autre part, la production mondiale de raisin atteint 78 millions de tonnes, alors que, la production mondiale de raisin de table est de 27,3 millions de tonnes et la production de raisin sec est de 1,3 millions de tonnes.

Par ailleurs, la production mondiale de vin est évaluée à 292 millions d'hectolitres.

Ainsi, la figure 4 montre que la superficie mondiale du vignoble est en baisse depuis 2014, induite notamment par la diminution de la superficie viticole en Turquie, en Iran, aux États-Unis et au Portugal.

En Europe, les dernières données disponibles montrent une stabilisation des superficies des vignobles d'Espagne, de France, de Roumanie, de Grèce, d'Allemagne et de Suisse. En revanche, la superficie serait en croissance en Italie entre 2017 et 2018, d'environ 5 000 ha. Seuls deux pays européens enregistreraient une légère régression de leurs surfaces viticoles entre 2017 et 2018. La Moldavie, montre une baisse de sa superficie, le Portugal enregistre une baisse, expliqué notamment par l'arrachage de parcelles.

En Asie, après plus de 10 ans de forte progression, la croissance du vignoble chinois ralentit, alors que celui de la Turquie voit sa taille se stabiliser en 2018 après une baisse

soutenue depuis 2003. Ainsi après avoir constitué le foyer principal de croissance du vignoble mondial, l'Asie connaîtrait une stabilisation de la superficie de son vignoble.

Concernant le continent américain, les évolutions des superficies des vignobles entre 2017 et 2018 sont à la baisse. Les États-Unis montrent une légère baisse depuis 2014, pour lequel l'OIV estime une superficie de 430 ha en 2018. En Argentine, le vignoble poursuit sa diminution pour atteindre 219 ha (-2 800 ha par rapport à 2017).

Le Chili voit son vignoble baissé aussi de -1 300 ha, arrivant à 212 ha. Le Brésil poursuit aussi sa baisse, arrivant à (-2 200 ha par rapport à 2017). Le seul pays américain dont le vignoble augmente est le Mexique, atteignant. Le vignoble d'Afrique du Sud continue de se rétracter lentement depuis 2012, pour atteindre 125 ha en 2018 (O IV, 2019).

1.3.2. Situation économique de la viticulture Algérienne

Il est intéressant de noter que *V. vinifera* L. est une espèce hautement adaptable et que les vignes peuvent être cultivées dans un très large éventail d'environnements, les pays du bassin méditerranéen sont les principaux producteurs mondiaux de raisins (Bouquet, 2011).

La viticulture s'adapte bien aux terroirs disponibles et aux conditions climatiques de l'Algérie compte tenu du climat, du terroir disponible, par conséquent, la viticulture a sa place en Algérie et représente une utilisation optimale du sol dans beaucoup de zones, notamment au centre et à l'Ouest du pays (Ain Temouchent, Mostaganem, Boumerdes, Sidi Bel Abbes, Tlemcen).

La plus importante production est réalisée dans les régions du centre avec 75% et environ 25% à l'Ouest du pays, mais elle est très faible à l'Est du pays. Cette production est liée principalement à raisin de table puis à raisin de cuve, puis à raisin de séchage (Office National des Statistiques, 2014 ; Toumi, 2006).

L'Algérie en 1960, était le plus grand exportateur de vin du monde et de loin elle exportait deux fois plus de vin que les trois autres grands exportateurs (France, Italie et Espagne) combinés (Meloni et Swinnen, 2014).

En 1962, le vignoble occupait 366.000 ha dont 346.000 ha de raisins de cuve, produisant jusqu'à 18 millions d'hl de vin, cette culture représentait 50 % des exportations et 30 % de la production agricole (Temmar, 2007).

Aujourd'hui, les informations détenues par l'organisation internationale de vigne et du vin (OIV), en 2019, montre que la superficie viticole en Algérie a connu une augmentation durant la période (2006-2016), par rapport à la décennie précédente (1995-2005) elle est passé de 60894 ha à 76836 ha (voir annexe A1).

En Algérie, la culture de la vigne concerne essentiellement les vignes à raisin de table avec une production moyenne 380315 tonnes durant la période (2006-2016) (voir annexe A2).

En ce qui concerne l'évolution de la production de vin a connu des fluctuations en enregistrant une légère augmentation durant la période (2006-2016), par rapport à la décennie précédente (1995-2005) (voir annexe A3).

L'importation de vin est à l'augmentation du fait de l'arrachage massif dans les années 70 pour des raisons politiques avec une consommation croissante elle est passé de 254 x1000 hl durant la période (1995-2005) à 341 x1000 hl durant la période (2006-2016)(voir annexes A4 et A5).

2. BIOLOGIE DE LA VIGNE

2.1. Description botanique

La vigne est une plante grimpante, capable de se multiplier par voie sexuée, par bouturage ou par greffage. Botaniquement, la vigne est une liane, une plante vigoureuse, le fruit est une vraie baie contenant la graine à l'intérieur, la plupart des vignes sont arboricoles. Elles se caractérisent par l'habitude d'escalade, les bourgeons terminaux développant des vrilles apparemment latérales, avec des inflorescences opposées aux feuilles au niveau du nœud, étamines opposées aux pétales (Figure 5) (Alleweldt et Possingham, 1988 ; goldy, 1992).

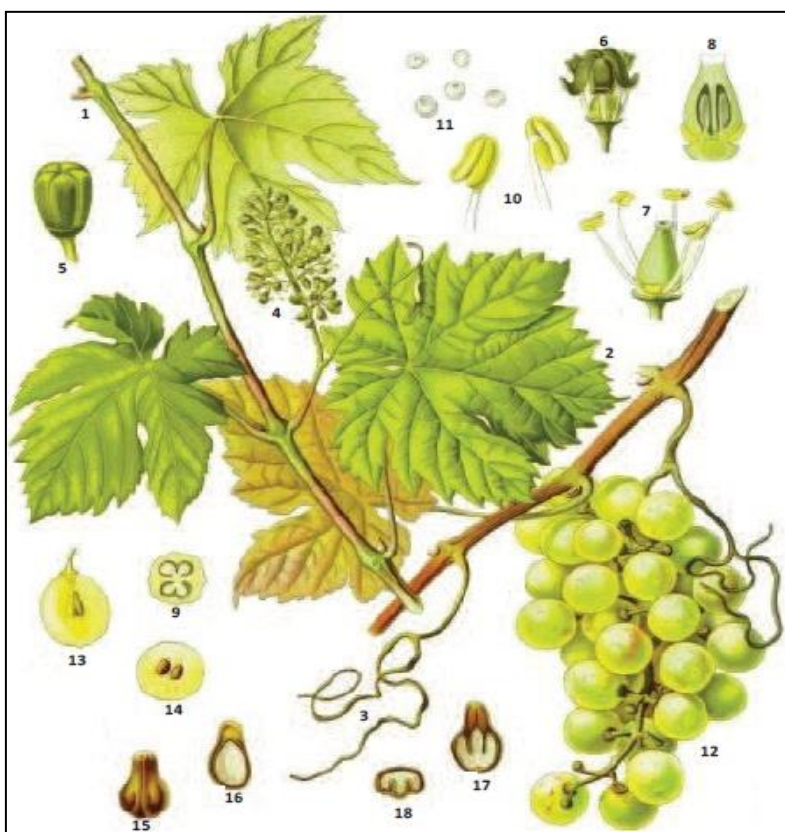


Figure 5. Description botanique de *Vitis vinifera sativa*.

(1) sarment ; (2) feuille à 5 nervures principales ; (3) vrille ; (4) Inflorescence ; (5) bouton floral (jeune fleur fermée) ; (6) ouverture de la corole de la fleur (fleur déhiscente) ; (7) fleur hermaphrodite possédant à la fois des étamines ($n=5$) et un pistil ; (8) coupe longitudinale de l'ovaire ; (9) coupe transversale de l'ovaire ; (10) étamine ; (11) grain de pollen ; (12) grappe de raisins ; (13) coupe longitudinal d'une baie ; (14) coupe transversale d'une baie ; (15) pépin de raisin (graine) ; (16 et 17) coupes longitudinales d'une graine et (18) coupe transversale d'un pépin (Dufour, 2011).

2.2. Position systématique

Selon la nouvelle classification des plantes à fleurs proposée par les botanistes basés sur l'analyse de séquences d'ADN nucléaire et chloroplastique, les vignes cultivée (*V. vinifera* L.) appartiennent à la famille *Vitaceae* qui se positionne dans la division des Angiospermes, clade des *Rosidées*, ordre des *Vitales* dont elle est la seule famille (Hilu et *al.*, 2003 ; savolainen et *al.*, 2000).

D'après la littérature, la famille des *Vitaceae* fait l'objet de nombreuses controverses taxonomiques, et comprend 18 ou 19 genres selon la classification utilisée. Les révisions génétiques ont élargi la famille *Vitaceae* à dix-neuf genres, 17 genres vivants et deux genres fossiles (*Cissites* et *Paleovitis*).

Botaniquement, la vigne fait partie du genre *Vitis* dont le nom «Vitis» signifie «bague du centurion» en latin ancien où le sens d'un mot centurion c'est un officier de l'armée de Rome antique responsable de 100 soldats (Bouquet et *al.*, 2008 ; Gaffiot, 1934 ; Robinson et Harding, 2015).

Planchon (1887) a divisé le genre *Vitis* entre deux sous-genres, à savoir *Euvitis* (grappe de raisin) et *Muscadinia* (raisins de muscadine), mais en raison de ses propriétés anatomiques et caractéristiques morphologiques la muscadine diffère d'*Euvitis* par des grappes plus petites, des vrilles non ramifiées et des baies à la peau épaisse avec un arôme fruité unique, les baies aussi s'éclatent à maturité (Conner, 2009 ; Olien, 1990).

Small (1903), propose que la section *Muscadinia* soit classée dans une catégorie distincte comme genre, la découverte que les nombres chromosomiques étaient différents dans *Vitis* ($2n = 38$) et *Muscadinia* ($2n = 40$) a apporté un nouveau soutien à cette proposition. Bien que, cette proposition n'a pas encore atteint l'acceptation générale, car la proximité phylogénétique entre le sous-genre *Euvitis* et *Muscadinia* explique pourquoi les différences de caryotype n'ont pas été insurmontables obstacle aux croisements entre les deux sous-genres. Actuellement, la division de Planchon (1887) est adoptée par la plupart des scientifiques (Branas, 1932 ; Bouquet et *al.*, 2008 ; Pauquet et *al.*, 2001).

2.2.1. Le sous genre *Muscadinia*

Le sous genre *Muscadinia* n'est actuellement représenté que par trois espèces (*V. rotundifolia*, *V. munsoniana* et *V. popenoei*) dont l'aire de répartition naturelle est limitée au sud-est des États-Unis (Reynier, 2011). Les raisins muscadins poussent mieux sur sol sableux et sol alluvionnaire et se développent mal sur sols humides et lourds, ils ne sont pas tolérants aux températures extrêmement froides en hiver. Seule l'espèce *Vitis rotundifolia* L. est cultivée, cette espèce est d'un grand intérêt pour les programmes d'amélioration végétale (Bouquet, 1982 ; Conner, 2009).

2.2.2. Le sous genre *Vitis*

Le sous-genre *Vitis* (anciennement dénommé *Euvitis*), le seule sous-genre produise des fruits comestibles et regroupe une soixantaine d'espèces inter-fertiles, mais sont morphologiquement et écologiquement variées et isolés par zone géographique, barrières écologiques et phénologiques réparties selon leur origine géographique en : Européens, Asiatiques, Américains (Figure 6) (Mullins et *al.*, 1992).

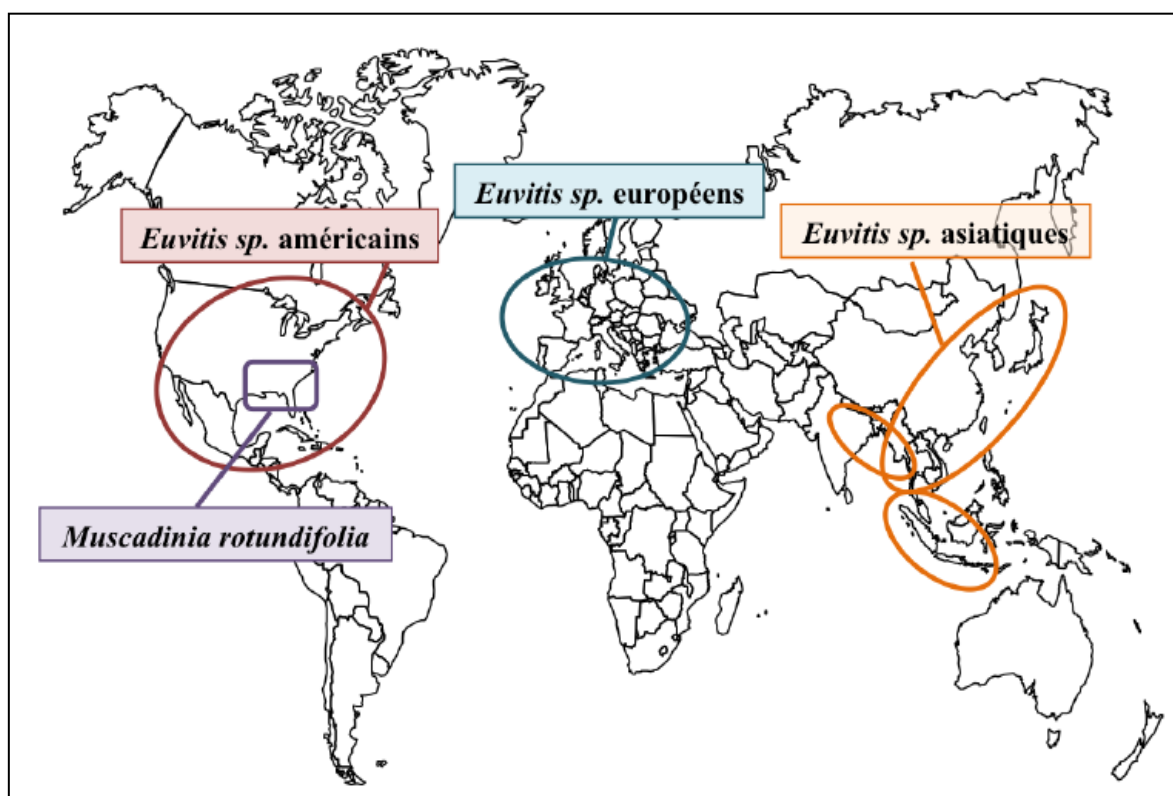


Figure 6. Localisation géographique des groupes de *Vitis* : Américains, Asiatiques et Européens (Zah-bi, 2014).

2.2.2.1. *Vitis* Américains

Plusieurs espèces de *Vitis* Américains introduites en Europe au début du dix-neuvième siècle, ces espèces jouent un rôle énorme dans l'amélioration génétique de la vigne et sont utilisées aujourd'hui comme porte-greffe pour la constitution d'hybrides résistants aux multiples maladies et ravageurs au premier rang desquels l'épidémie de phylloxéra (causées par l'insecte dévoreur de racines) (Bouquet, 1983).

2.2.2.2. *Vitis* Asiatiques

Plus de vingt espèces sensibles au phylloxéra et en général aux maladies cryptogamiques, mais résistante à l'oïdium, au mildiou et au froid (Galet, 2000 ; Reynier, 2007).

2.2.2.3. *Vitis* Européens

Il existe une diversité considérable au sein de (*Vitis vinifera* L.) une des plus anciennes cultures et la seule espèce représentant des pays méditerranéens du genre *Vitis*, sa domestication a créé des cultivars adaptés à une grande diversité de climats (Imazio *et al.*, 2006). Sur la base de différences écologiques, biologiques et morphologiques l'espèce (*Vitis vinifera* L.) se subdivise en deux sous-espèces la vigne sauvage (*V. vinifera* L. ssp *silvestris*) et la vigne cultivée (*V. vinifera* L. ssp *sativa*) (Figure 7) (Huglin et Schneider, 1998 ; This *et al.*, 2006).

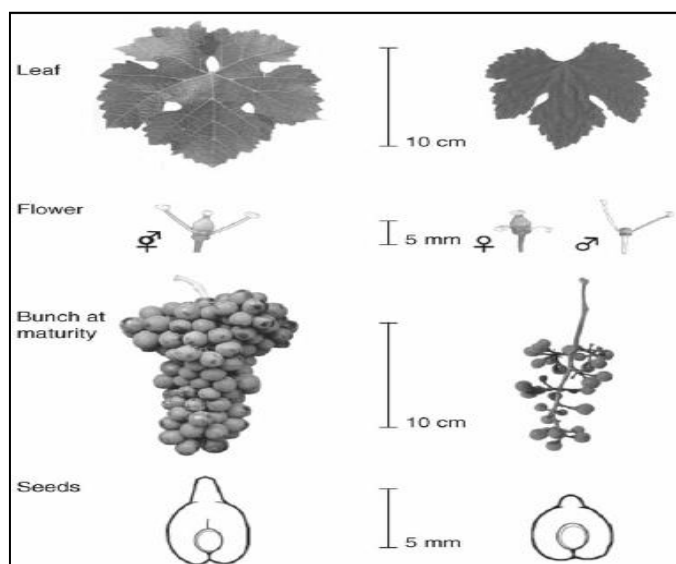


Figure 7. Principales différences morphologiques entre la vigne sauvage (*V. vinifera* L. ssp *silvestris*, à droite) et la vigne cultivée (*V. vinifera* L. ssp *sativa*, à gauche) au niveau des feuilles, fleurs, grappes à maturité et pépins (This *et al.*, 2006).

La distribution de la vigne sauvage a été considérablement réduite au cours de la dernière 150 ans, avec la propagation d'agents pathogènes d'Amérique du Nord (phylloxera, oïdium), aujourd'hui, cette sous-espèce n'est pas représentée en Europe que par les populations de très faibles effectifs et menacées (Arnold et *al.*, 2005).

La sous espèce *Vitis vinifera* subsp. *Vinifera* (ou subsp. *Sativa*) représentant la forme cultivée ou domestique de la vigne qui comprend entre 5000 et 8000 variétés connues avec 14 000 à 24 000 noms différents (homonymes et synonymes). Plus de 9 600 variétés cultivées à travers le monde ont été répertoriées par Galet (2000), en plus, il ya 11 000 noms principaux apparaissent dans le catalogue International VIVC (Bouquet et *al.*, 2008 ; Boursiquot et *al.*, 1987 ; Boursiquot et *al.*, 2007 ; Trifa et *al.*, 2015)

2.3. Le génome de la vigne

Le génome nucléaire de vigne cultivée est diploïde composé de 19 paires de chromosomes de petite taille par rapport à d'autres plantes cultivées (Morrell et *al.*, 2012). Le génome de la vigne est très hétérogène le long de chaque chromosome, entre les chromosomes, la densité des gènes dans le génome de la vigne est la plus faible en per centomère. Un pourcentage de 96% du génome de *Vitis* est non codant avec un ensemble de 30 434 gènes codant pour une protéine et 239 634 éléments microsatellites (Celestino Pérez et *al.*, 2013 ; Di Gaspero et Foria, 2015 ; Jaillon et *al.*, 2007 ; Lodhi et *al.*, 1995).

La publication de la séquence de référence de la vigne a fourni un cadre pour comparer ente les variétés

La première publication du génome nucléaire d'un modèle de vigne était par le consortium international Franco-Italien (collaboration Franco-Italienne). Le génome d'un clone de Pinot Noir issu de neuf générations d'auto-fécondation d'un Pinot noir (l'individu PN40024 8X) ce génome a été entièrement assemblé et décodé puis considéré comme la séquence de référence de la vigne, actuellement, la version 12X (estimation à 93% homozygote) (Celestino Pérez et *al.*, 2013 ; Jaillon et *al.*, 2007 ; Mardis, 2011 ; Velasco et *al.*, 2007).

2.4. Les majeures viroses de la vigne

Les virus vivent dans les cellules des plantes contaminées, y provoquent des troubles en entraînant une modification des aptitudes de la plante comme : diminution de récolte en quantité et généralement en qualité, affaiblissement et vieillissement prématuré des vignes, reprise plus difficile au greffage et au bouturage.

Par conséquent, des progrès importants ont été accomplis ces dernières années dans ce domaine de maladies. Jusqu'à présent, plus de 70 espèces virales affectant la vigne appartenant à différents genres ont été identifiées (Martelli, 2017 ; Reynier, 2011).

Les plus graves sont : le court-noué, l'enroulement viral de la vigne, et le complexe du bois strié, car elles peuvent influencer gravement le comportement végétatif, le rendement ou encore la qualité des moûts et des vins. D'autres viroses dites secondaires n'entraînent généralement que peu ou pas de symptômes sur la vigne, le GFkV (Grapevine fleck virus) fait partie de ces derniers et sa présence n'est donc pas éliminatoire sur des clones de variétés de vigne certifiés (Spring et *al.*, 2012).

2.4.1. Le court-noué ou dégénérescence infectieuse

2.4.1.1. Description

Le court-noué est la maladie à virus la plus grave, dommageable et très répandue dans la quasi-totalité des vignobles du monde, elle engendre des pertes de récolte jusqu' à 80% (Esmenjaud et *al.*, 2013).

Le court-noué est considéré comme la plus ancienne maladie virale qui existait en Méditerranée et au Proche-Orient depuis le début de la viticulture et se répandre ensuite dans le monde entier.

Dans la littérature Européenne, cette maladie a été répertoriée depuis environ 150 ans et des feuilles de vigne présentant des symptômes typiques du court-noué ont été découvertes dans des herbiers établis avant l'introduction des hybrides Américains à porte-greffes, actuellement, cette maladie est connue dans le monde entier (Martelli, 2017; Martelli et Boudon-Padiou, 2006).

L'impact économique de cette maladie varie avec la tolérance du cultivar aux virus, les cultivars tolérants produisent des récoltes assez bonnes, tandis que les cultivars sensibles sont

gravement affectés par un déclin progressif, rendements faibles et qualité des fruits médiocre, durée de vie productive réduite, faible prise de greffe, capacité d'enracinement réduite et résistance réduite aux facteurs climatiques défavorables.

Les agents responsables de cette maladie sont deux virus appartenant au genre *Nepovirus* de la famille *Comoviridae*, principalement : *Grapevine fanleaf virus* (GFLV), et *Arabis mosaic virus* (ArMV) en deuxième lieu (Andret-Link et *al.*, 2004).

2.4.1.2. Symptômes

Il y a deux distincts symptômes induits par les *Nepovirus* sont des malformations, des distorsions et une mosaïque jaune ou une panachure.

-Sur les feuilles

En général, les symptômes apparaissent au début du printemps et pourraient durer toute la période végétative, se manifestent par une réduction des angles entre les nervures donnant un aspect d'éventail aux feuilles (Figure 8A), avec parfois de modification du nombre des nervures avec des dents pointues et élargissement des sinus.

Dans le cas des souches chromogènes, le feuillage développe des panachures qui est un jaunissement des nervures ou du limbe ; le jaunissement est du type jaune d'or visible au printemps, mais pouvant blanchir un peu en fin de saison. En plus de ce qui précède une mosaïque correspond l'apparition de quelques taches de couleur jaune sur le feuillage est induit aussi par les souches chromogènes (Figure 8B) (Andret-Link et *al.*, 2004 ; Martelli et Boudon-Padieu, 2006).

-Sur les sarments

Il s'agit de raccourcissements des entre-nœuds (Figure 8C), de division du rameau en fourche à 2, 3 ou 4 ramifications terminales, développement anormal de rameaux (Carbonneau et Escudier, 2017 ; Reynier, 2011). Les rameaux provenant de vignes infectées montrent également des nœuds doubles et des zig-zag entre les nœuds (Hewitt, 1950).

-Sur les fruits

La qualité des fruits et la vie productive des vignobles contaminés peuvent être considérablement réduites avec diminutions du nombre et de la taille des grappes, de coulures (Figure 8D) (Maliogka et al., 2014 ; Martelli et Boudon-Padieu, 2006 ; Samaali et al., 2015).

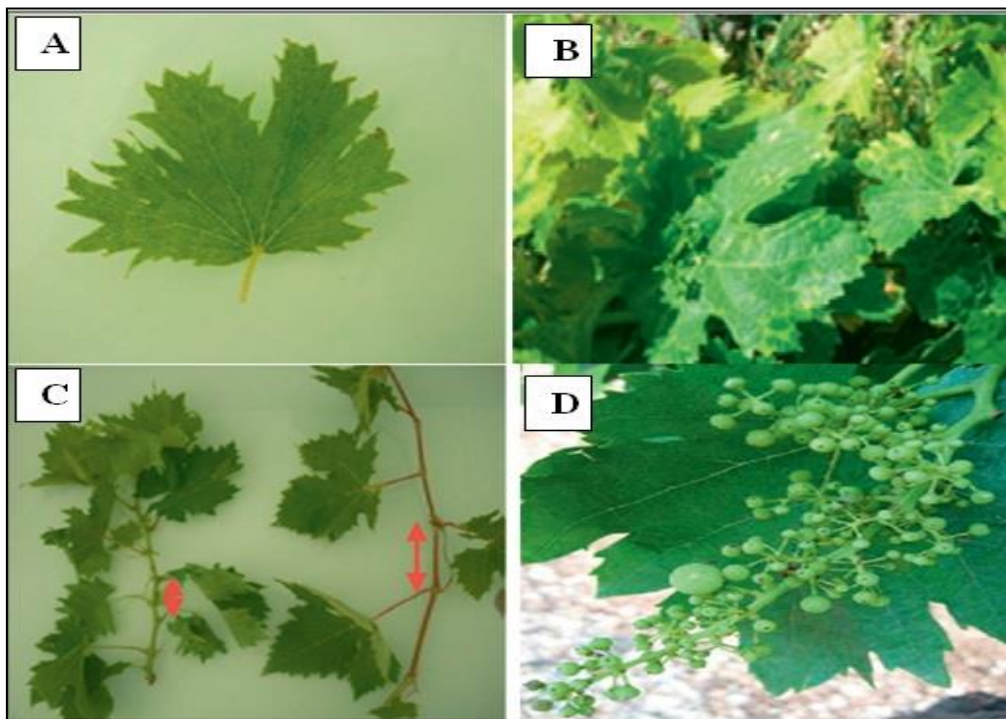


Figure 8. Symptômes de la maladie du court-noué de la vigne sur la plante entière, les feuilles (A et B), les sarments (C) les fruits (D) (Samaali et al., 2015).

2.4.1.3. Transmission

Les deux *Néporvirus* sont transmis spécifiquement vigne à vigne par deux espèces distinctes de nématodes ectoparasites : *Xiphinema index* pour le GFLV et *Xiphinema diversicaudatum* pour l'ArMV. Le vecteur de GFLV est *Xiphinema index* qu'est un nématode dont on pense qu'il est originaire d'Asie mineur (ancienne Perse, son origine orientale a été confirmée par l'analyse des gènes mitochondriaux et des microsatellites (Hewitt, 1968 ; Martelli, 2017 ; Mojtahedi et al., 1980).

La diffusion sur des distances moyennes et longues se fait par l'intermédiaire de bois de greffe et de porte-greffes infectés (Andret-Link et al., 2004 ; Esmenjaud et al., 2013 ; Martelli et Boudon-Padieu, 2006).

2.4.2. L'enroulement viral de la vigne

2.4.2.1. Description

La maladie de l'enroulement est l'une des maladies virales les plus importantes dans le monde. Cette virose entraîne des pertes de rendement significatives (jusqu'à 30–68%), elle réduit les rendements, retarde la maturation des fruits et augmente l'acidité dans les jus de fruits. Les premières descriptions de l'enroulement de la vigne remontent au milieu du dix-neuvième siècle dans la littérature Française et Italienne, respectivement (Atallah et *al.*, 2012 ; Martelli, 2014 ; Martelli et Boudon-Padiou, 2006).

L'impact sur la santé de la vigne, le rendement des cultures et sa qualité sont difficiles à évaluer en raison d'un nombre élevé de variables, mais des pertes économiques importantes régulièrement rapporté. Récemment, il a été estimé que le coût de cette maladie varie entre 25 000 et 40 000 dollars par hectare pour les vignobles d'une durée de vie de 25 ans, si les stratégies d'intervention ne sont pas mises en œuvre (Maliogka et *al.*, 2014 ; Maree et *al.*, 2013).

Selon la taxonomie actuelle, tous les virus de l'enroulement appartiennent à la famille des *Closteroviridae* et leur nom a été déterminé comme étant virus associé à l'enroulement, en anglais sont appelés *Grapevine leafroll-associated virus* (GLRaV) suivi d'un chiffre différenciés les uns des autres par un numéro de 1 à 10 par exemple (GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, etc.), sachant que les espèces les plus fréquents sont GLRaV-2 et GLRaV-3.

Tous les virus de l'enroulement appartiennent au genre *Ampelovirus*, seulement GLRaV-2 appartient au genre *Closterovirus* de même famille (Maree et *al.*, 2013). Cette séparation taxonomique de GLRaV-2 de tous autres virus est basé sur des différences de structure du génome (nombre de gènes et leur arrangement spatial dans le génome) et les vecteurs biologiques ; le GLRaV-2 pourrait être un virus originaire de l'Amérique du Nord (Angelini et *al.*, 2017 ; Boscia et *al.*, 1995 ; Martelli, 2017).

2.4.2.2. Symptômes

Généralement, les symptômes sont spectaculaires chez certains cépages rouges, mais demeurent plus discrets sur le cépage blanc. Cette maladie se manifeste par l'enroulement des feuilles, chez les cépages à baies rouges (Figure 9A), il ya un rougissement inter-nervures des

feuilles, d'un rouge violacé et durcissement du limbe ; chez les cépages à baies blanches, il ya un jaunissement et épaissement du limbe (Figure 9B) (Reynier, 2011).

Les symptômes de la maladie se développent vers la fin de l'été et en automne, habituellement, les nervures restent vertes et les bords des feuilles roulent à la baisse, alors que la diminution de la qualité des fruits et le retard de la maturation sont souvent observés (Atallah et *al.*, 2012 ; Martelli et Boudon-Padieu, 2006).

Les symptômes de l'enroulement varient en fonction du cépage de vigne et les virus impliqués ; Les espèces Américaines de *Vitis* qui sont principalement utilisés comme des porte-greffes ne présentent aucun symptôme de maladie, sauf diminution de la vigueur, en plus, certaines souches de GLRaV-2 sont impliquées dans des maladies graves ; cas d'incompatibilité de greffe sur certains porte greffes (Angelini et *al.*, 2017 ; Maliogka et *al.*, 2014 ; Martelli et Boudon-Padieu, 2006).

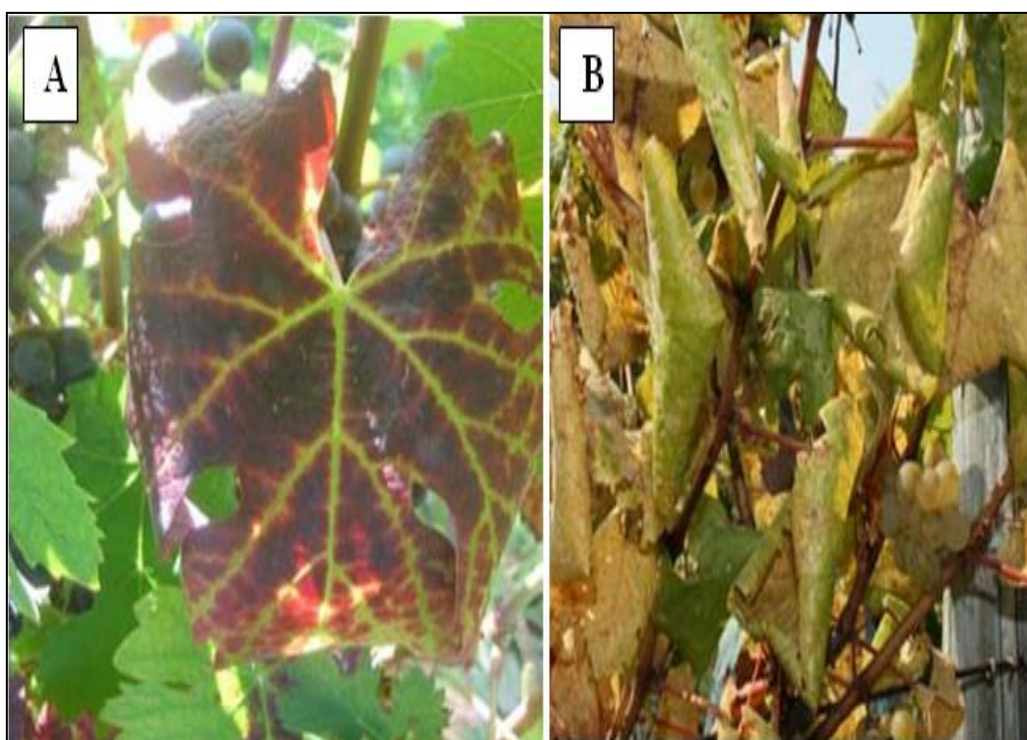


Figure 9. Les symptômes de l'enroulement, chez une variété rouge (A), chez une variété blanche (B) (Martinson, 2008).

2.4.2.3. Transmission

Tous les GLRaV sont facilement transmis par multiplication végétative et greffage, certains d'entre eux (GLRaV-1, GLRaV-3, GLRaV-5 et GLRaV-9) sont également véhiculés par plusieurs espèces de cochenilles farineuses et par insectes aériens, alors que jusqu'à présent, aucun vecteur n'a été identifié pour les souches GLRaV-7 et GLRaV-4 et aucun vecteur n'est suspecté pour GLRaV-2 (Atallah et *al.*, 2012 ; Maliogka et *al.*, 2014 ; Martelli et Boudon-Padieu 2006).

2.4.3. Le complexe du bois strié

2.4.3.1. Description

Le bois rugueux en anglais Rugose wood (RW) est l'un des principaux complexes de maladies affectant la vigne présente dans la plupart des régions productrices de vigne à l'échelle mondiale.

Historiquement, des altérations ressemblant à des symptômes de bois rugueux sont rapportées dans la littérature française du début des années 1900 comme des désordres physiologiques possibles. Le bois rugueux a été identifié et décrit pour la première fois dans le sud de l'Italie au début des années 1960 en tant que maladie transmissible par greffage. Il était considéré comme un problème local jusqu'à sa découverte en Hongrie en 1967, il est maintenant connu dans le monde entier (Martelli et Boudon-Padieu, 2006).

Le bois rugueux affecte les tiges provoquant des piqûres, des gorges et d'autres déformations, avec des réductions du rendement des cultures et de la qualité des fruits (Martelli et *al.*, 1993). Ce complexe de maladies induit par des virus à phloème restreint appartenant à deux genres de la famille *Betaflexiviridae*. Il s'agit des virus A, B et D de la vigne en anglais *Grapevine virus* (GVA, GVB et GVD, respectivement) appartenant au genre *Vitivirus* et *Grapevine rupestris virus* associé aux piqûres de tige en anglais *Grapevine Rupestris stem pitting-associated virus* (GRSPaV), qui appartient au genre *Foveavirus*. Le complexe de bois rugueux se compose de quatre syndromes différents qui sont latents chez les espèces auto-enracinées, mais développent des symptômes sur des vignes greffées. Les vignes affectées montrent une vigueur et une croissance réduite, en déclin et dans les cas les plus graves, elles meurent (Martelli et Jelkmann 1998 ; Minafra et *al.*, 1997 ; Selmi et *al.*, 2018). Il semble que GVA et GRSPaV sont les virus les plus répandus de RW, car ils ont été détectés

dans la plupart des variétés de vigne du monde entier (Bonavia et *al.*, 1996 ; Garau et *al.*, 1994 ; Maliogka et *al.*, 2014).

Les vignes greffées présentent souvent un gonflement et une différence marquée entre le diamètre relatif du greffon et du porte-greffe ; les plantes infectées présentent une diminution globale de la vigueur et du rendement et peuvent montrer une ouverture tardive des bourgeons au printemps ; les grappes peuvent être moins nombreuses et plus petites que les normales et la récolte réduite de 20 à 30%. Certaines plantes pourraient mourir quelques années après la plantation. De plus, des incompatibilités de greffe peuvent survenir, l'intensité des symptômes dépend de la combinaison scion/porte-greffe et les conditions climatiques (Maliogka et *al.*, 2014 ; Meng et *al.*, 1999 ; Martelli et Boudon-Padieu, 2006).

2.4.3.2. Symptômes

Le symptôme le plus caractéristique de le RW est l'apparition d'altérations du cylindre ligneux telles que des fosses et des rainures qui peuvent apparaître sur le greffon et le porte-greffe, ou sur les deux (Figure 10).



Figure 10. Symptômes du bois rugueux, piqûres et gorges sur la tige (Maliogka et *al.*, 2014).

2.4.3.3. Transmission

Les virus liés à RW sont transmis par propagation végétative et greffage. Cependant, la transmission vectorielle joue également un rôle dans l'épidémiologie de certaines de ces espèces de virus. La GVA est généralement disséminée dans les vignes par le matériel de propagation infecté, et peut être propagé par les cochenilles. Des études menées par divers chercheurs ont montré que la transmission de la GVA se produit souvent simultanément avec GLRaV-1 et GLRaV-3.

De même que pour les GLRaV les GVA, GVB et GVE sont vectorisées de manière semi-persistante par plusieurs insectes ; plus spécifiquement, les cochenilles des genres *Heliococcus*, *Planococcus*, *Pseudococcus* et *Phénacoques* (Maliogka et al., 2014 ; Selmi et al., 2018).

En fait, la transmission du *vitivirus* est non spécifique et semi-persistante, mais le vecteur de GRSPaV est encore inconnu, il en va de même pour le vecteur de GVD (La Notte et al., 1997 ; Martelli, 2014 ; Martelli, 2017).

3. MICROSATELLITES ET BIODIVERSITÉ VITICOLE

3.1. Définition des microsatellites

Le terme « microsatellites » a été utilisé pour la première fois en 1989, par (Litt et Luty) pour analyser l'abondance et la dispersion de (TG)_n dans le gène de l'actine cardiaque. Les microsatellites ou les simples répétitions de séquence (SSR) sont également appelées séquences marquées par sites de microsatellites (STMS) ou polymorphismes de répétition de séquences simples (SSRP) et parfois, nombre variable de répétitions en tandem (VNTR) ou bien, les polymorphismes de longueur de séquence simple (SSLP).

Les microsatellites sont des séquences d'ADN d'unités mono-, di-, tri-, tétra- penta et hexa-nucléotide répétées en tandem, (habituellement 5 à 20 fois) le long du génome avec une longueur de répétition minimale de 12 paires de bases (Chauhan et Kumar, 2015 ; Firas et Abdulkareem, 2015 ; Hoshino *et al.*, 2012 ; Reddy *et al.*, 2002).

Ces séquences sont largement distribuées dans le génome sur tous les chromosomes et toutes les régions du chromosome. Elles ont été trouvées dans des régions codantes de gènes et les introns, et dans les séquences de non gène. En plus du génome nucléaire, les microsatellites sont également connus pour se produire dans le génome organelle ; les SSR sont très abondantes dans les génomes eucaryotes et à moindre mesure chez les procaryotes, le type de SSR le plus abondant chez les plantes c'est le di-nucléotide (AT)_n (Abdel-Mawgood, 2012; Firas et Abdulkareem, 2015 ; Hoshino *et al.*, 2012 ; Jones *et al.*, 2009; Liu, 2011 ; Soranzo *et al.*, 1999).

3.2. Classification des microsatellites

Les SSR pourraient être classés en fonction de leurs origines :

- Microsatellites génomiques ou nucléaires (gSSR).
- Microsatellites organelles (SSR chloroplastiques, SSR mitochondriaux).

Ils sont également divisés en différentes catégories selon le type de séquence répétée :

- Simple parfait ; la séquence de répétition est continue et n'est pas interrompue par une base non appartenant au motif [par exemple : AGAGAGAGAGAG où (AG)₆].
- Simple imparfait ; les séquences consistent en une ou plusieurs unités répétées de différentes longueurs [par exemple :AGAGAGAGAGCTAGAGAG où (AG)₅ CT (AG)₃].

- Composé parfait ; les tableaux sont composés de deux ou plusieurs motifs de répétition différents de la même longueur [par exemple : AGAGAGAGCGTGAGAGAGAG où (AG) 4 CGTG (AG) 4].
- Composé imparfait ; les motifs sont interrompus par une ou plusieurs répétitions de longueur différente [par exemple : AGAGAGAGAGTCTCTCTC où (AG) 5 (TC) 4] (Firas et Abdulkareem, 2015 ; Temnykh *et al.*, 2001 ; Zhang, 2006).

3.3. Les microsatellites comme marqueurs de choix

Les marqueurs microsatellites présentent plusieurs avantages par rapport aux autres marqueurs moléculaires, car ils sont considérés comme robustes, plus variable, plus informatif et sont probablement le système de marquage de choix pour les analyses génétiques du fait de leur caractéristiques et de leur coût (Akkaya *et al.*, 1992 ; Phillis et Vasil, 2001).

Aujourd'hui, avec l'avancement de la technologie d'isolement de l'ADN, il est possible d'identifier les locus dans l'ADN même s'il est ancien et fortement dégradé en utilisant les SSR qui ne nécessitent qu'une faible quantité d'ADN, qui ne doit pas être de haute qualité ; c'est pourquoi les microsatellites sont devenus les marqueurs moléculaires les plus performants et les plus appréciés. En outre, ces marqueurs sont considérés comme le meilleur système de détection de polymorphisme inter-variétale (Figure 11) (Abdel-Mawgood, 2012 ; Firas et Abdulkareem, 2015 ; Zhang, 2006).

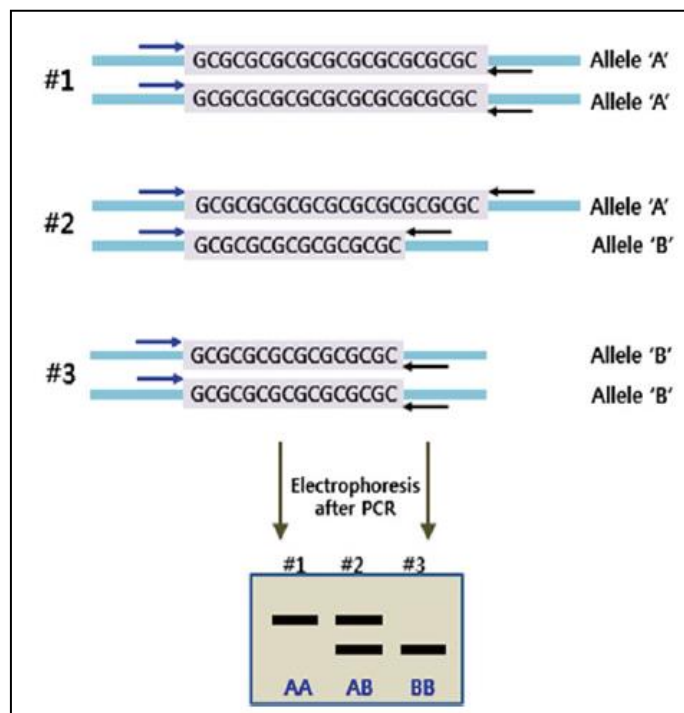


Figure 11. Principe de distinction inter-variétale en utilisant les SSR (Yang *et al.*, 2015).

Les microsatellites peuvent offrir un aperçu génétique plus détaillé que l'ADN mitochondrial héréditaire de la mère. Une recherche utilisant l'outil Web of Science (Thomson Reuters, <http://webofknowledge.com>) a confirmé que le microsatellite est le marqueur moléculaire le plus utilisé pour aborder la diversité génétique et pour conserver le matériel génétique (Jones et *al.*, 1997 ; Hoshino et *al.*, 2012 ; Thomas et *al.*, 1993).

3.4. Les marqueurs SSR et la vigne

Le polymorphisme SSR a été signalé pour la première fois dans les plantes cultivées chez le soja (Akkaya et *al.*, 1992).

Thomas et *al.*, (1993) ont d'abord étudié l'utilisation d'ADN répétitif pour identifier la vigne, ils ont montré que les séquences microsatellites sont abondantes dans le génome de la vigne et très efficaces pour identifier la variabilité génétique de la vigne. Ensuite, plusieurs groupes de chercheurs à travers le monde s'intéressent au microsatellite pour la vigne, ce qui a entraîné un développement de marqueurs SSR supplémentaires, en plus, le potentiel extraordinaire des marqueurs microsatellites pour la vigne a été montré dans plusieurs études telles que Thomas et *al.*, (1993, 1994) ; Cipriani et *al.*, (1994) ; Bowers et *al.*, (1996) ; Sefc et *al.*, (1998,1999) ; Sánchez-Escribano et *al.*, (1999).

3.4.1. Nombre de microsatellites développés pour la vigne

Théoriquement, cinq marqueurs non liés chacun à l'autre avec cinq allèles pour chacun pourrait produire plus de 700 000 génotypes différents. Afin de minimiser le nombre de marqueurs nécessaires pour une discrimination et identification fiable, les locus les plus informatifs doivent être sélectionnés et pour cette raison un ensemble de marqueurs comprenant six locus hautement variables ont été évalués et recommandés comme descripteur potentiel pour les cultivars de la vigne (Bowers et *al.*, 1996 ; Cabello et *al.*, 1999 ; Sefc et *al.*, 2001 ; This et *al.*, 2004).

Une collaboration internationale qui comprend la société Française privée « Agrogene » avec 21 laboratoires de recherche dans le monde entier ont récemment atteint l'objectif de développement 333 nouveaux marqueurs pour la vigne ce qui produit en même temps 700 séquences d'ADN uniques pour le génome de *Vitis vinifera* L. (Arroyo-García et Martínez-Zapater, 2004).

3.4.2. Les SSR nucléaires et la vigne

En raison du pouvoir discriminatif élevé, les microsatellites peuvent être utilisés pour identifier des matières végétales d'origine variétale inconnue en comparant le génotype obtenu à partir d'un échantillon avec des génotypes de référence stockés dans une base de données. Grâce à leur fort taux de polymorphisme, les SSR sont le type de marqueur moléculaire le plus utilisé chez la vigne, ces dernières années, ils se sont révélés très efficaces et très recommandés pour analyser la diversité d'une population viticole (Aradhya et *al.*, 2003 ;Cabello et *al.*, 1999 ; Laucou et *al.*,2011 ; Sefc et *al.*, 2009).

L'étude initiale des microsatellites pour la vigne est de Thomas et *al.*, (1993) à « CSIRO » en Australie, cette étude a signalé l'identification d'ADN de 26 cultivars de *Vitis vinifera* L. et 6 autres espèces de *Vitis*. En 2009, une base de données d'ADN contient d'environ 200 profils microsatellites se déroulent au CSIRO et beaucoup de données ont été mis à disposition dans des bases de données publiques où les chercheurs ont accumulé des profils microsatellites de centaines variétés de vigne de différentes régions (Sefc et *al.*, 2009).

Grâce à ces bases de données plusieurs études ont été réalisées en utilisant des marqueurs microsatellites pour étudier la diversité génétique de la vigne cultivé et sauvage de diverses régions géographiques ; en plus, plusieurs cas d'identification erronée ont été résolus (Thomas et *al.*, 1994 ; Walker et Boursiquot, 1992).

3.4.3. Les SSR chloroplastiques et la vigne

Contrairement au génome nucléaire diploïde le génome du chloroplaste est haploïde, l'étude réalisé par Strefeler et *al.*, (1992) ont montré l'hérédité maternelle des chloroplastes chez la vigne ; alors que, la première évaluation de la diversité de cpSSR de la vigne a été réalisée par Lefort et *al.*, (2000) ; de leur coté Arroyo-García et *al.*, (2002) a confirmé l'héritage maternel du génome chloroplastique de la vigne.

Le faible polymorphisme de microsatellites chloroplastiques ne permet pas de leur utilisation comme outil d'identification des cultivars, mais le génome des chloroplastique en fait un outil très utile pour étudier l'origine géographique des plantes cultivées (Breton et *al.*, 2009 ; Petit et *al.*, 2005 ; Provan et *al.*, 2001 ; Sefc et *al.*, 2009).

PARTIE 1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Plusieurs études en utilisant le marquage chloroplastique ont montrés qu'il ya quatre chlorotypes principaux : A, B, C et D rencontrés chez *V. vinifera* L., ces chlorotypes ont décrit la répartition géographique de la vigne, le Tableau 1 résume les répartitions géographiques et certaines caractéristiques des chlorotypes principaux chez *V. vinifera* L.

Tableau 1. Répartitions géographiques et certaines caractéristiques des chlorotypes principaux chez *Vitis vinifera* L.

	chlorotype			
	A	B	C	D
Répartitions géographiques et caractéristiques	Plus fréquent en Espagne (Arroyo-Garcia <i>et al.</i> , 2002) Rencontré exclusivement dans le bassin méditerranéen (De Mattia <i>et al.</i> , 2008) Deux fois plus fréquent chez les variétés de cuve que chez les variétés de table (Arroyo-Garcia <i>et al.</i> , 2006).	Représenté dans un groupe Italie-Grèce et absent d'Europe centrale, de France et d'Iran (De Mattia <i>et al.</i> , 2008 ; Imazio <i>et al.</i> , 2006 ; Santana <i>et al.</i> , 2010) typiques du groupe des variétés muscatées (Laiadi <i>et al.</i> , 2009 ; Santana <i>et al.</i> , 2010).	Absent de la région du Caucase (De Mattia <i>et al.</i> , 2008) Deux fois plus fréquent chez les variétés de table que chez les variétés de cuve (Arroyo-Garcia <i>et al.</i> , 2006)	Le plus fréquent en Grèce en Iran et spécifique de la Géorgie (Arroyo-Garcia <i>et al.</i> , 2002 ; De Mattia <i>et al.</i> , 2008 ; Imazio <i>et al.</i> , 2006). typiques du groupe des variétés muscatées (Laiadi <i>et al.</i> , 2009 ; Santana <i>et al.</i> , 2010)

3.4.4. Les applications des microsatellites dans le domaine *VITIS*

En raison de ses caractéristiques, les microsatellites ont une classe de choix pour diverses applications et ont été ces dernières années le type de marqueur moléculaire le plus utilisé pour la vigne (Sefc et *al.*, 2009).

Ils se sont révélés très efficaces pour les différentes études dans le domaine génétique des populations :

- Les analyses de la variabilité inter-variétale et pour l'identification des cépages, de mieux connaître la structuration de la population (Sefc et *al.*, 2009 ; This et *al.*, 2006), pour analyser la diversité des populations (Aradhya et *al.*, 2003 ; Laucou et *al.*, 2011).
- Les microsatellites peuvent également être utilisés comme outil d'identification des cépages à partir des produits fini (jus, vins) (Siret et *al.*, 2002), en plus ils ont prouvé utile pour l'évaluation de la variation génétique dans des collections de germoplasmes (Mohammadi et Prasanna, 2003).
- Pour établir des relations phylogénétiques (Péros et *al.*, 2010).
- Ils sont également utiles pour l'analyse parentale entre les variétés de vignes et pour estimer le degré de parenté d'individus ou groupes (Bowers et *al.*, 1999 ; Firas et Abdulkareem, 2015).
- Pour résoudre les problèmes d'antonymie et d'homonie dans l'appellation des cépages (El Oualkadi et *al.*, 2011 ; Laiadi et *al.*, 2009).
- Les microsatellites sont également considérés des marqueurs idéaux pour les études cartographiques (Idrees et Irshad, 2014).

PARTIE 2.

RÉALISATION

EXPÉRIMENTALE

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Présentation de la région d'étude

La zone concernée par nos prélèvements est située dans le territoire de Daïra de Babar appartient à la wilaya de "Khenchela" situé au nord-est d'Algérie (Figure 12) avec une superficie de 4 037,00 km², cette région est classée dans la zone climatique semi-aride avec des hivers très rigoureux et des étés chauds et secs (Drouai, 2018). C'est une zone montagneuse au pied des Aurès, appartient à l'Atlas qui constitue le meilleur climat Algérien pour la vigne (Isnard, 1953). Cette région d'étude présente une particularité qui se distingue par ses milieux naturels très diversifiés constituant un écosystème unique (voir Annexe B).

Aujourd'hui l'intérêt pour la viticulture n'existe plus à Khenchela, car les autorités de cette wilaya accordent une grande attention au blé en tant que source de sécurité alimentaire, seulement 11 ha de vignobles sur une superficie totale de 144 231,75 hectares (Direction de l'agriculture de Khenchela, 2018) (voir Annexe C).

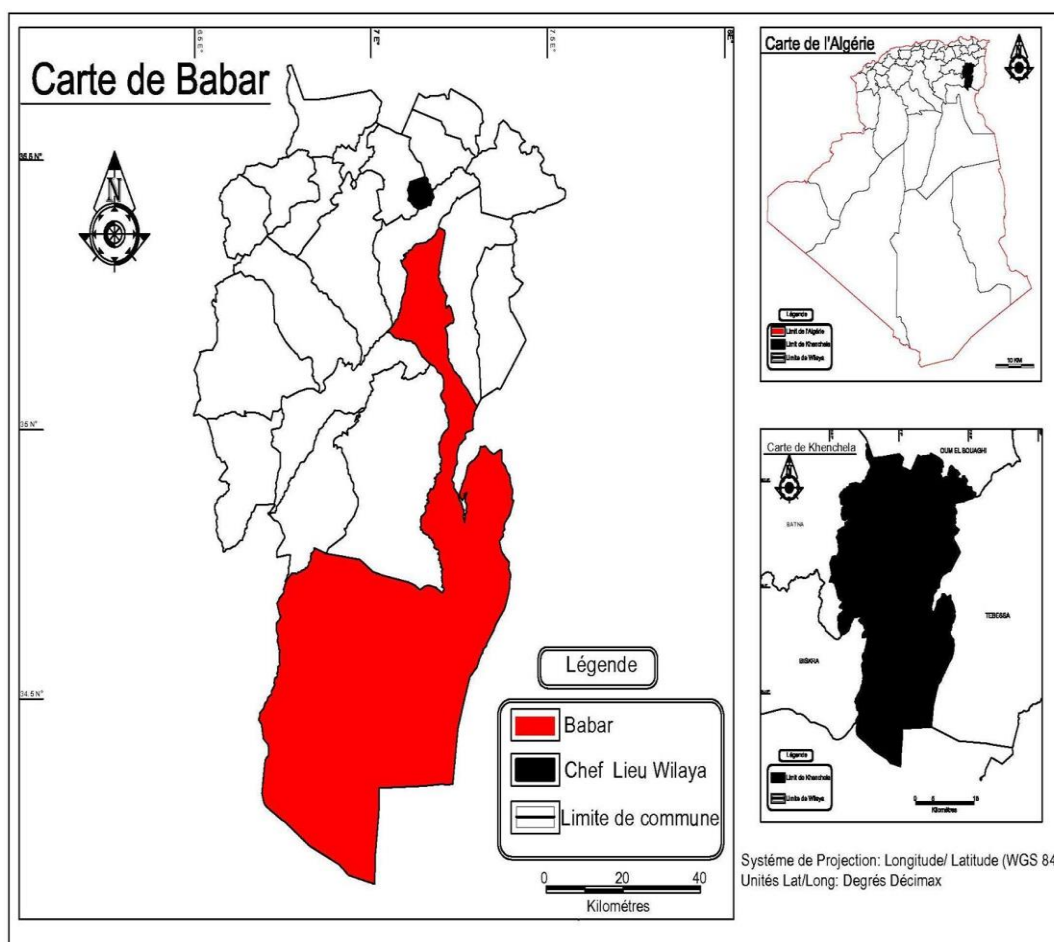


Figure 12. Situation géographique de Babar en Algérie.

1.2. Description des échantillons

Au niveau de Daïra de Babar il n'y a que quelques vignobles dont leur âge est présumé entre 10 et 30 ans, utilisés localement et uniquement a table, cette richesse négligée hérité par les familles de leurs ancêtres au fil du temps où les indigènes cultivent leurs terres sous la forme de petits vergers près de chez eux dans les jardins de maisons, ce qui représente la cible de notre recherche.

Le grand nombre de variétés de *Vitis vinifera* L. et la grande diversité au sein des cultivars compliquent l'identification et la reconnaissance de la variété (Boursiquot et *al.*, 1987). Dans ce travail, on a utilisé la caractérisation morphologique comme l'outil le plus utilisé pour son pouvoir discriminant entre les variétés de vigne.

Comme première étape, on a procédé à un inventaire concernant les variétés de vigne cultivées à Babar, où aucune étude morphologique préalable n'avait été réalisée, cette étude est menée sur la base de la morphologie de la feuille adulte considéré par Knezović et *al.*, (2017) comme l'une des méthodes les plus importantes pour la détermination du cultivar.

Afin d'obtenir une description ampélographique fiable d'une variété donnée et pour une meilleure caractérisation, on a basé sur des recherches antérieures dans ce contexte, celle de Laiadi (2009) qui est une thèse de doctorat en biologie, l'autre de Hamama (2014).

D'après la comparaison entre les pourcentages de stabilité de chaque caractère ampélographique de la feuille adulte chez les cépages autochtones Algériens étudiés au cours de ces deux études en utilisant la liste des Descripteurs (OIV, 2009). On a trouvé que les caractères ampélographiques les plus stables au sein de chaque cépage Algérien sont :

- La forme du limbe (067 OIV).
- Le nombre de lobes (068 OIV).
- Le degré d'ouverture (079 OIV).
- La forme des dents (076 OIV).
- Dent dans les sinus latéraux supérieurs (083-2 OIV).

Donc, on a fait une étude préparatoire en utilisant ces cinq descripteurs primaires prioritaires pour une caractérisation facile et rapide de nos échantillons.

La feuille adulte de l'échantillon 1 (Photo 1) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est pentagonale.
- Le nombre de lobes est cinq.
- La forme des dents avec un côté convexe.

- Le sinus pétiolaire est fermé.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont absentes.

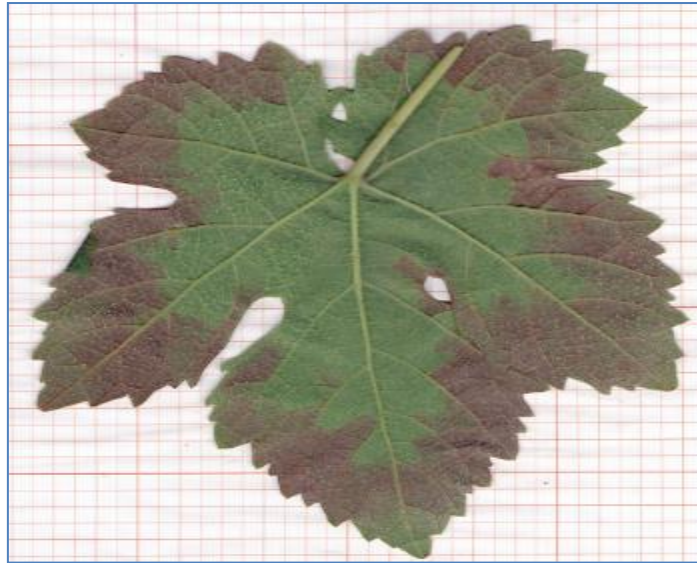


Photo 1. La feuille adulte de l'échantillon 1.

La feuille adulte de l'échantillon 2 (Photo 2) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cordiforme.
- Le nombre de lobes est cinq.
- La forme des dents à deux côtés rectilignes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 2. La feuille adulte de l'échantillon 2.

La feuille adulte de l'échantillon 3 (Photo 3) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est orbiculaire.
- Le nombre de lobes est sept.
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont absentes.



Photo 3. La feuille adulte de l'échantillon 3.

La feuille adulte de l'échantillon 4 (Photo 4) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cordiforme.
- Le nombre de lobes est trois.
- La forme des dents à deux côtés rectilignes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.

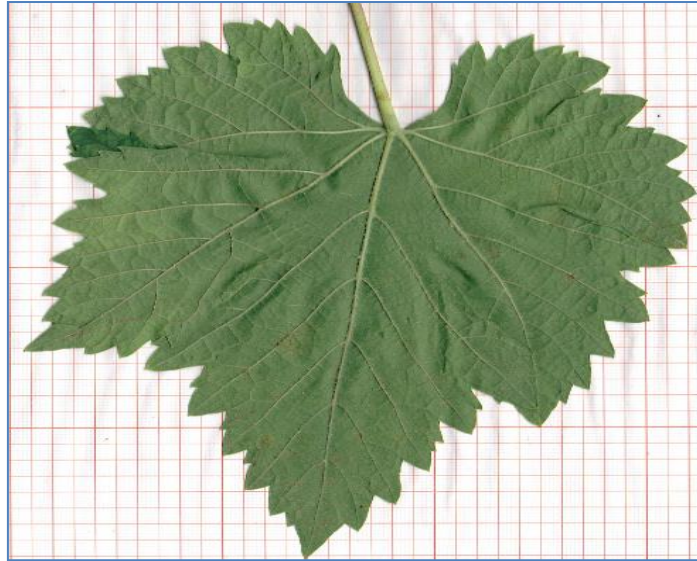


Photo 4. La feuille adulte de l'échantillon 4.

La feuille adulte de l'échantillon 5 (Photo 5) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est trois.
- La forme des dents à deux côtés concaves.
- Le sinus pétiolaire est très ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont absentes.



Photo 5. La feuille adulte de l'échantillon 5.

La feuille adulte de l'échantillon 6 (Photo 6) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est orbiculaire.

- Le nombre de lobes est plus de sept.
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est très ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.

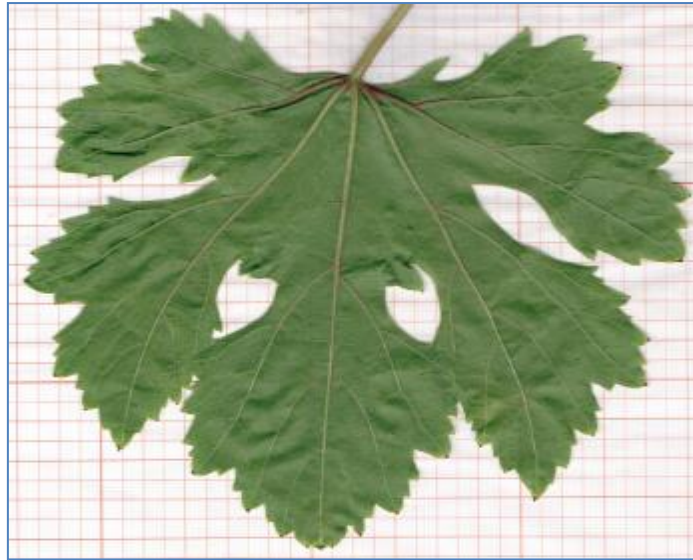


Photo 6. La feuille adulte de l'échantillon 6.

La feuille adulte de l'échantillon 7 (Photo 7) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est orbiculaire.
- Le nombre de lobes est une (feuille entière).
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est chevauchant.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.

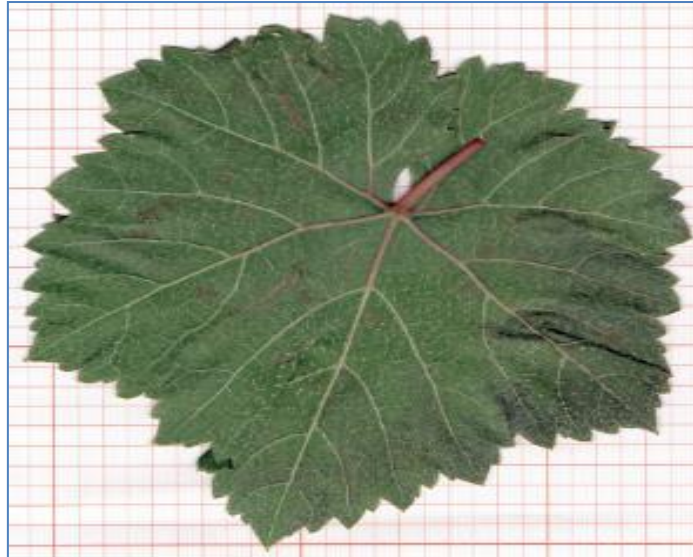


Photo 7. La feuille adulte de l'échantillon 7.

La feuille adulte de l'échantillon 8 (Photo 8) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est trois.
- La forme des dents avec un côté concave.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 8. La feuille adulte de l'échantillon 8.

La feuille adulte de l'échantillon 9 (Photo 9) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est orbiculaire.

- Le nombre de lobes est sept.
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont absentes.

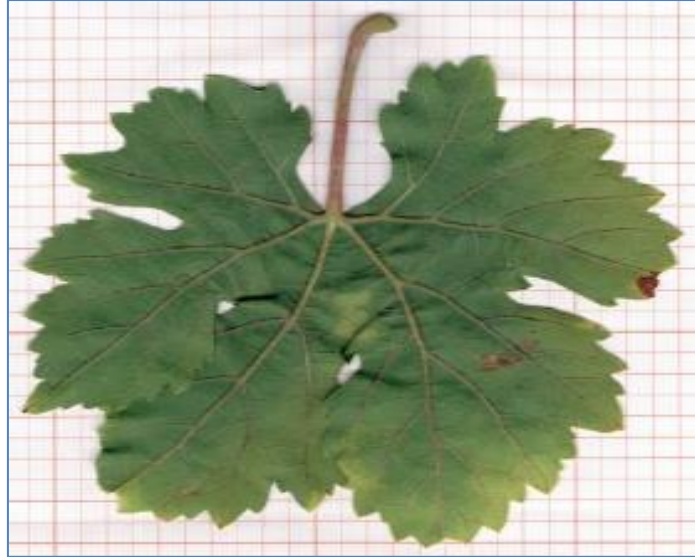


Photo 9. La feuille adulte de l'échantillon 9.

La feuille adulte de l'échantillon 10 (Photo 10) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est trois.
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est fermé.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont absentes.

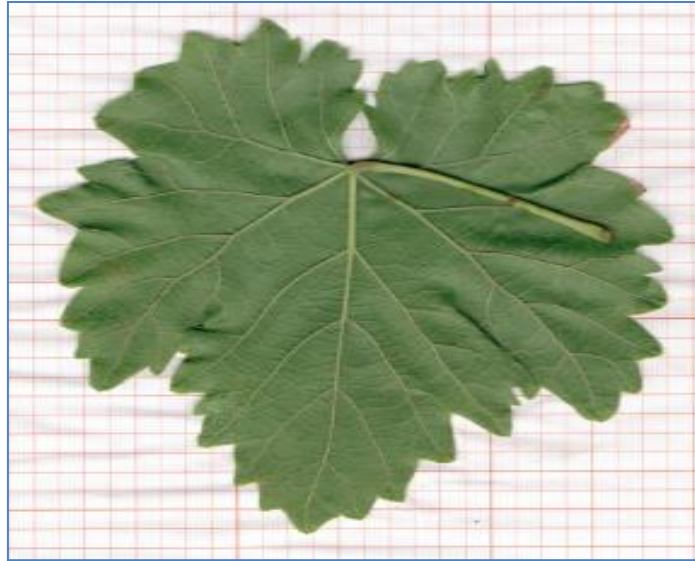


Photo 10. La feuille adulte de l'échantillon 10.

La feuille adulte de l'échantillon 11 (Photo 11) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est cinq.
- La forme des dents à deux côtés rectilignes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont absentes.



Photo 11. La feuille adulte de l'échantillon 11.

La feuille adulte de l'échantillon 12 (Photo 12) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est plus de sept.
- La forme des dents à deux côtés rectilignes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 12. La feuille adulte de l'échantillon 12.

La feuille adulte de l'échantillon 13 (Photo 13) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est pentagonale.
- Le nombre de lobes est sept.
- La forme des dents avec un côté convexe.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont absentes.



Photo 13. La feuille adulte de l'échantillon 13.

La feuille adulte de l'échantillon 14 (Photo 14) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est pentagonale.
- Le nombre de lobes est trois.
- La forme des dents avec un côté concave.
- Le sinus pétiolaire est fermé.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.

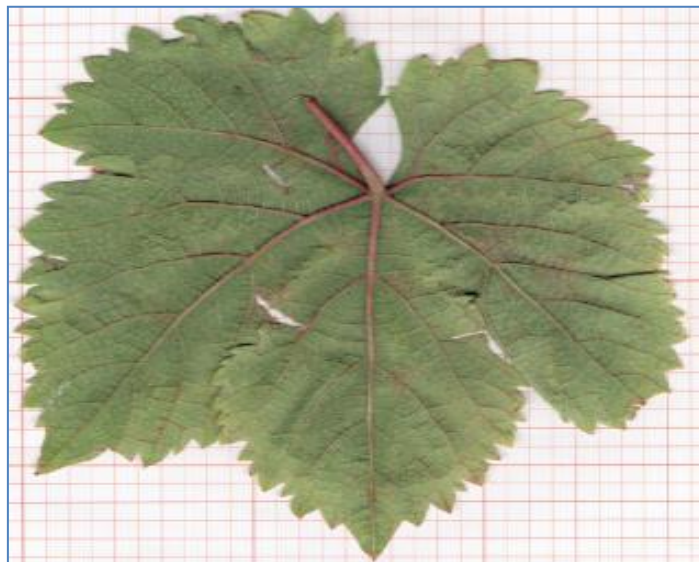


Photo 14. La feuille adulte de l'échantillon 14.

La feuille adulte de l'échantillon 15 (Photo 15) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est pentagonale.
- Le nombre de lobes est plus de sept.
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est fermé.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 15. La feuille adulte de l'échantillon 15.

La feuille adulte de l'échantillon 16 (Photo 16) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est réniforme.
- Le nombre de lobes est cinq.
- La forme des dents avec à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.

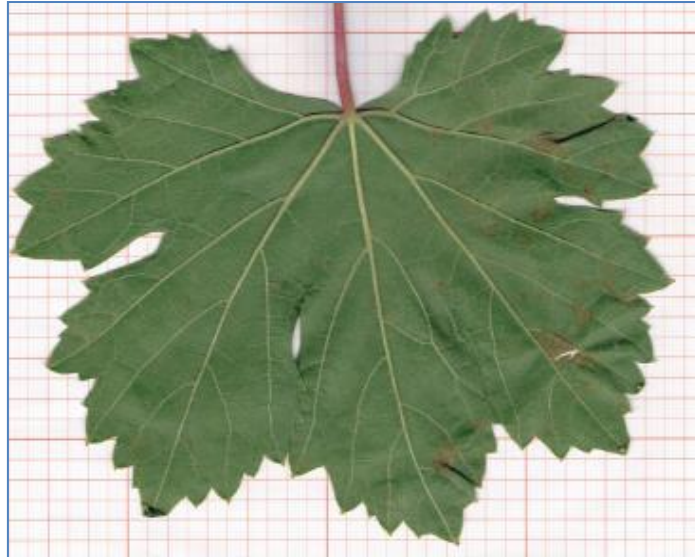


Photo 16. La feuille adulte de l'échantillon 16.

La feuille adulte de l'échantillon 17 (Photo 17) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est réniforme.
- Le nombre de lobes est une (feuille entière).
- La forme des dents avec un côté concave.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 17. La feuille adulte de l'échantillon 17.

La feuille adulte de l'échantillon 18 (Photo 18) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.

- Le nombre de lobes est une (feuille entière).
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est fermé.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont absentes.



Photo 18. La feuille adulte de l'échantillon 18.

La feuille adulte de l'échantillon 19 (Photo 19) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est cinq.
- La forme des dents à deux côtés rectilignes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont absentes.



Photo 19. La feuille adulte de l'échantillon 19.

La feuille adulte de l'échantillon 20 (Photo 20) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est orbiculaire.
- Le nombre de lobes est trois.
- La forme des dents avec à deux côtés rectilignes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.

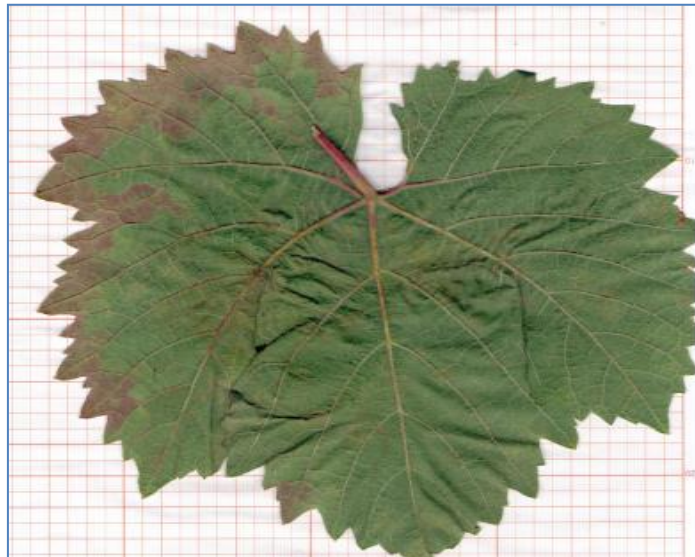


Photo 20. La feuille adulte de l'échantillon 20.

La feuille adulte de l'échantillon 21 (Photo 21) apparaît comme suit :

La forme du limbe est pentagonale.

- Le nombre de lobes est cinq.
- La forme des dents avec un côté convexe.
- Le sinus pétiolaire est fermé.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 21. La feuille adulte de l'échantillon 21.

La feuille adulte de l'échantillon 22 (Photo 22) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est cinq.
- La forme des dents avec un côté concave.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 22. La feuille adulte de l'échantillon 22.

La feuille adulte de l'échantillon 23 (Photo 23) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est orbiculaire.
- Le nombre de lobes est plus de sept.
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.

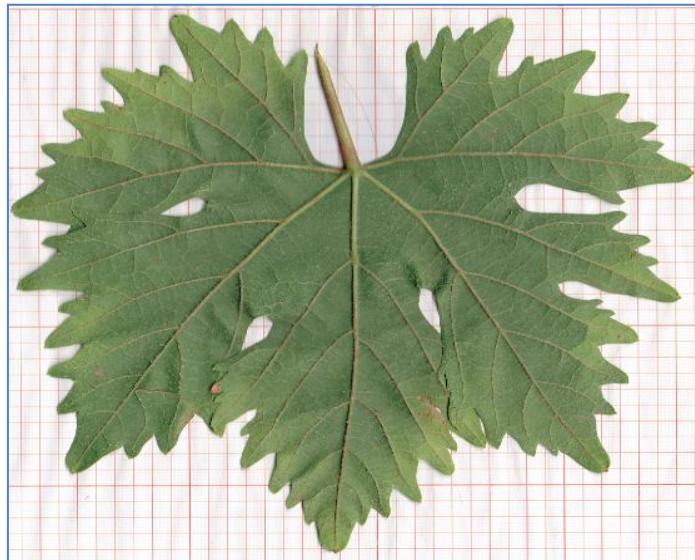


Photo 23. La feuille adulte de l'échantillon 23.

La feuille adulte de l'échantillon 24 (Photo 24) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est sept.
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Les sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont Absentes.

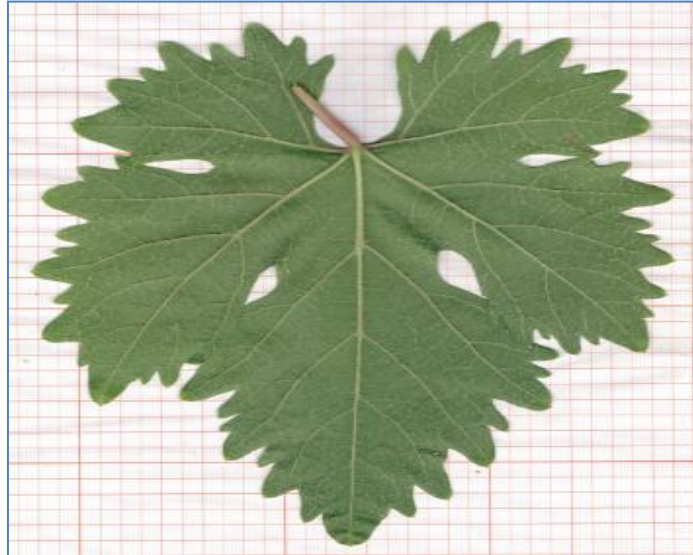


Photo 24. La feuille adulte de l'échantillon 24.

La feuille adulte de l'échantillon 25 (Photo 25) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est sept.
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est fermé.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 25. La feuille adulte de l'échantillon 25.

La feuille adulte de l'échantillon 26 (Photo 26) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est Pentagonale.
- Le nombre de lobes est sept.
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.

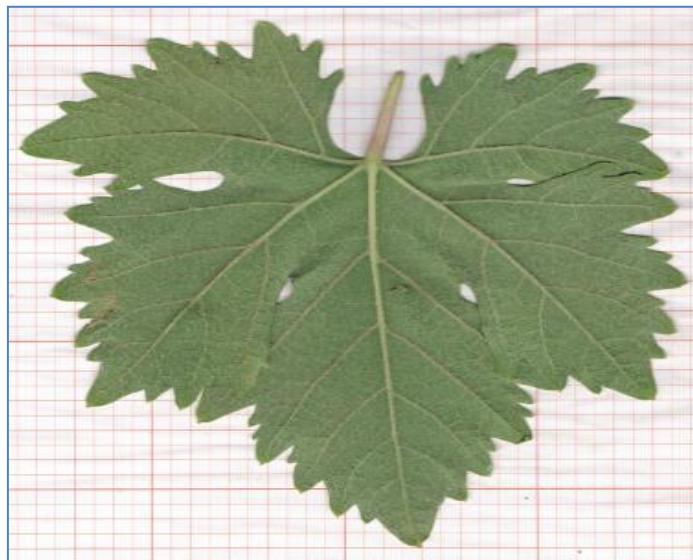


Photo 26. La feuille adulte de l'échantillon 26.

La feuille adulte de l'échantillon 27 (Photo 27) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est réniforme.
- Le nombre de lobes est plus de sept.
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.

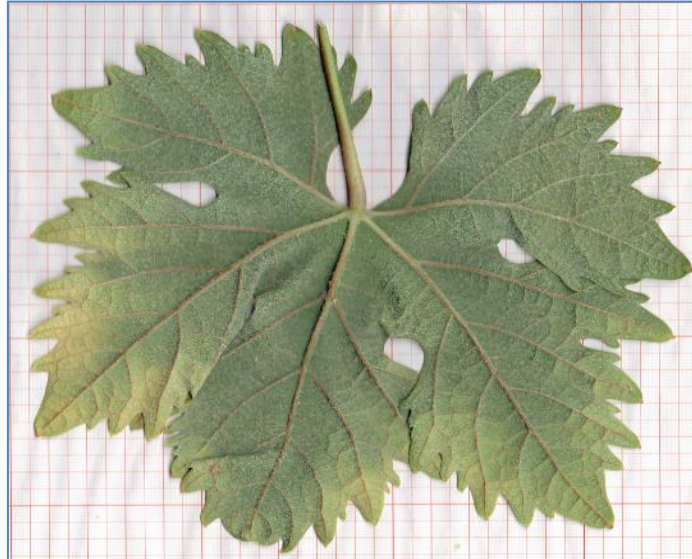


Photo 27. La feuille adulte de l'échantillon 27.

La feuille adulte de l'échantillon 28 (Photo 28) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est plus de sept.
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Les sinus pétiolaire est fermé.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.

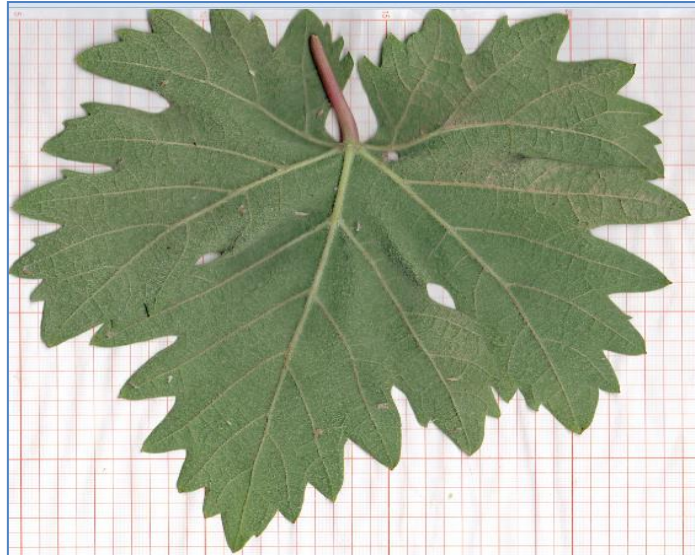


Photo 28. La feuille adulte de l'échantillon 28.

La feuille adulte de l'échantillon 29 (Photo 29) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est réniforme.
- Le nombre de lobes est une (feuille entière).
- La forme des dents à deux côtés rectilignes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 29. La feuille adulte de l'échantillon 29.

La feuille adulte de l'échantillon 30 (Photo 30) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est réniforme.

- Le nombre de lobes est plus de sept.
- La forme des dents à deux côtés rectilignes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.

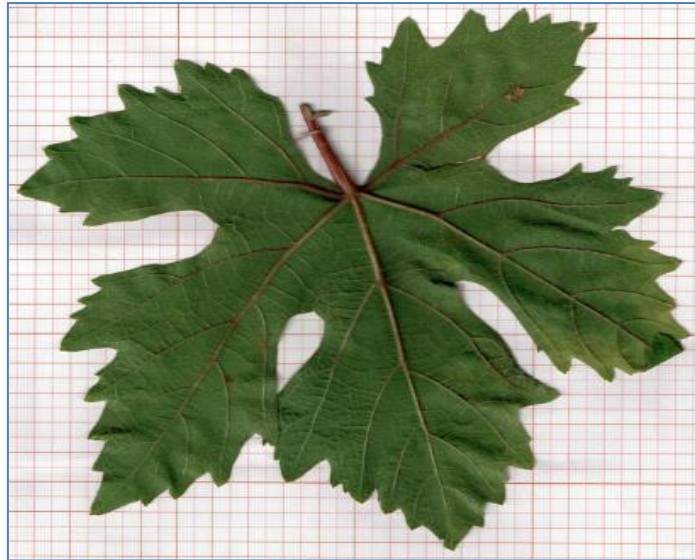


Photo 30. La feuille adulte de l'échantillon 30.

La feuille adulte de l'échantillon 31 (Photo 31) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est plus de sept.
- La forme des dents à deux côtés convexes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont absentes.

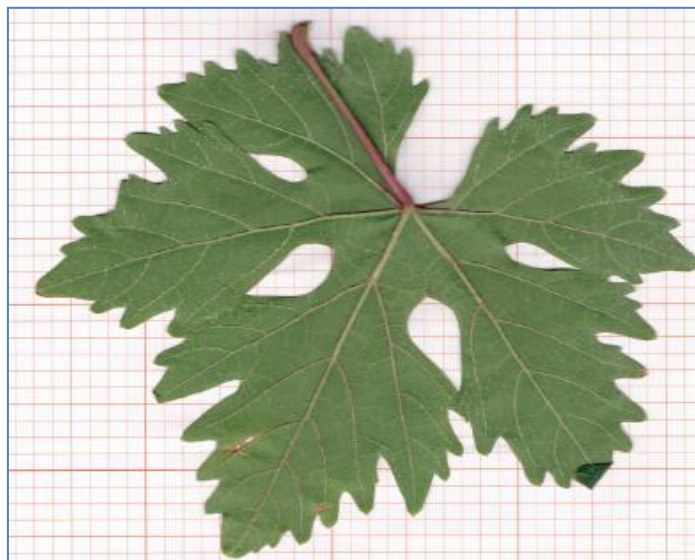


Photo 31. La feuille adulte de l'échantillon 31.

La feuille adulte de l'échantillon 32 (Photo 32) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est réniforme.
- Le nombre de lobes est trois.
- La forme des dents à deux côtés rectilignes.
- Le sinus pétiolaire est très ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 32. La feuille adulte de l'échantillon 32.

La feuille adulte de l'échantillon 33 (Photo 33) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est pentagonale.
- Le nombre de lobes est plus de sept.
- La forme des dents avec un côté concave.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.

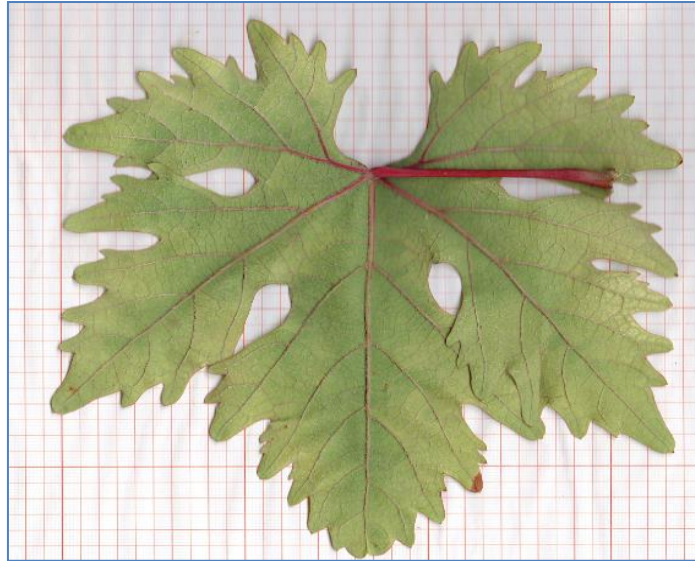


Photo 33. La feuille adulte de l'échantillon 33.

La feuille adulte de l'échantillon 34 (Photo 34) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est trois.
- La forme des dents à deux côtés rectilignes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont absentes.

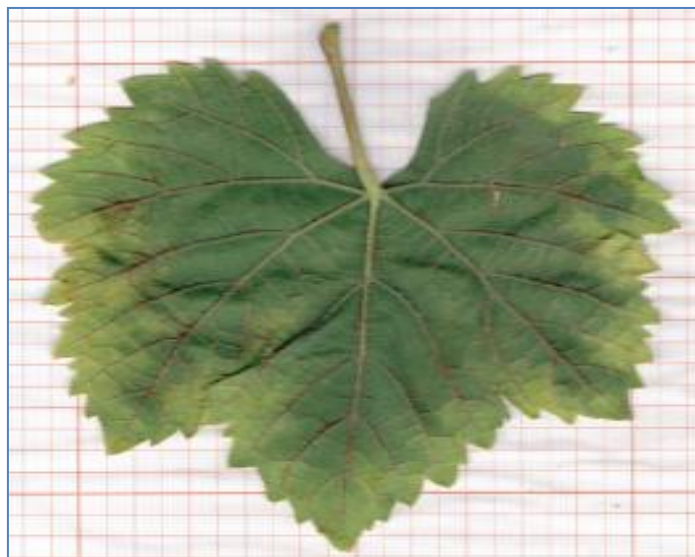


Photo 34. La feuille adulte de l'échantillon 34.

La feuille adulte de l'échantillon 35 (Photo 35) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est cunéiforme.
- Le nombre de lobes est cinq.
- La forme des dents à deux côtés rectilignes.
- Le sinus pétiolaire est fermé.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 35. La feuille adulte de l'échantillon 35.

La feuille adulte de l'échantillon 36 (Photo 36) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est réniforme.
- Le nombre de lobes est cinq.
- La forme des dents avec à deux côtés rectilignes.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 36. La feuille adulte de l'échantillon 36.

La feuille adulte de l'échantillon 37 (Photo 37) apparaît comme suit :

- La forme du limbe est réniforme.
- Le nombre de lobes est cinq.
- La forme des dents avec un côté convexe.
- Le sinus pétiolaire est ouvert.
- Les dents dans les sinus latéraux supérieurs sont présentes.



Photo 37. La feuille adulte de l'échantillon 37.

Il convient de noter que ces vignes sont cultivées selon les méthodes agricoles primitives sans intervention de cépages extérieurs ni traitements contre les maladies. L'échantillonnage est effectué durant le mois de septembre 2018 à partir de différents endroits à Babar (Figure 13).

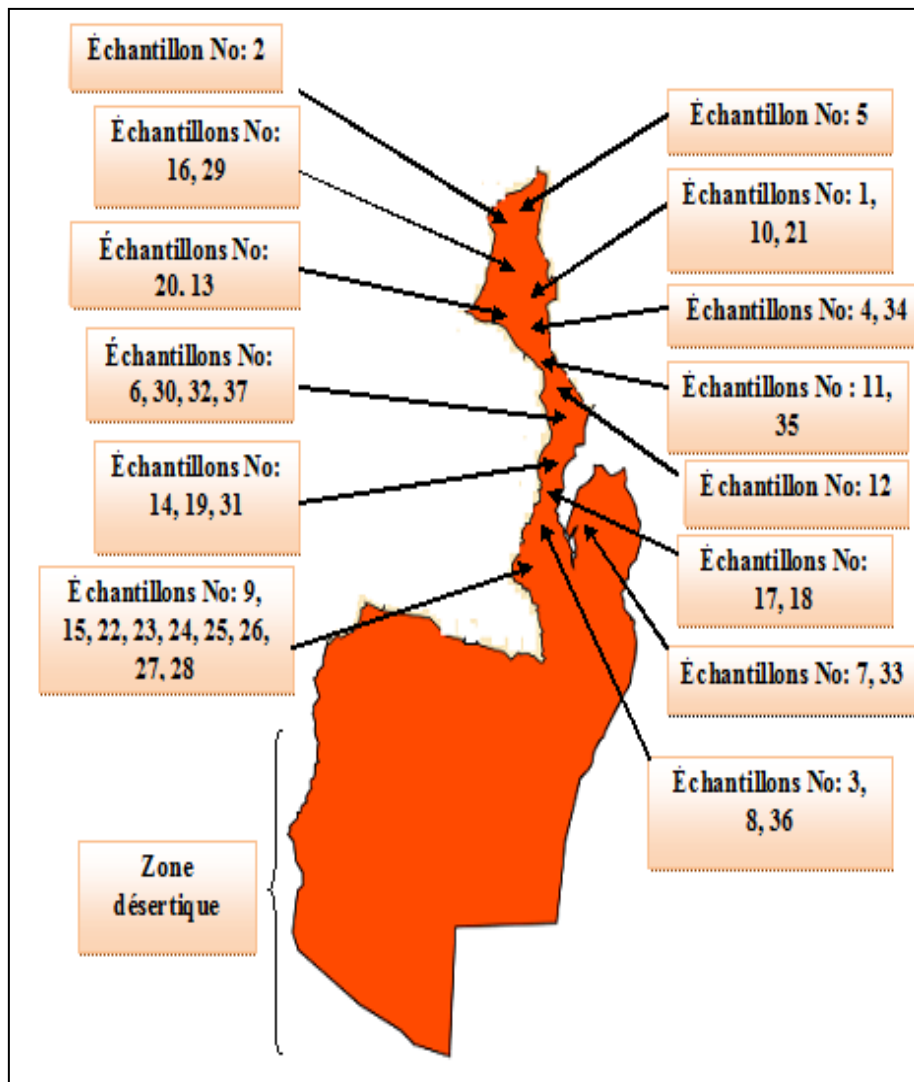


Figure 13. Carte des localisations des échantillons.

Des échantillons de feuilles jeunes ont été prélevés de Trente-sept accessions de vigne cultivées (annexe E) (Tableau 1), ensuite ont été transférées au centre de recherche pour la viticulture et l'œnologie (CREA) en Italie, pour l'analyse moléculaire, afin de définir leur identité et leur état sanitaire, on a donc essayé de choisir le nom le plus utilisé par les indigènes ou de donner le nom de propriétaire de vignoble aux échantillons hérités sans connaître son nom.

PARTIE 2. RÉALISATION EXPÉRIMENTALE

Tableau 2. Liste des accessions analysées, y compris le nom, la couleur des baies, la signification de nom de l'échantillon.

N° de l'accession	Nom de l'accession	Couleur des baies	Signification de nom de l'accession
1	Bousada	V	(Nom du propriétaire)
2	Babari	RS	les raisins de Babar
3	Rahali mohamed cherif	V	(Nom du propriétaire)
4	Khoudja	V	(Nom du propriétaire)
5	Amezian	V	petit (en dialecte berbère)
6	Aneb Babar	V	les raisins de Babar en arabe
7	Aneb Takhatelt	V/RS	le nom du grande région de Babar
8	Nabil Athmani	V	(Nom du propriétaire)
9	Azorith	V	Vert (en dialecte berbère)
10	Azizao	V	vigne (en dialecte berbère)
11	Aberkan	N	synonyme de Noir (en dialecte berbère)
12	Anabi	R	relatif à la ville d'Annaba
13	Azanjari	RS	violet (en dialecte berbère)
14	Arabth	N	Arabe (en dialecte berbère)
15	Agogalth	N	Noir (en dialecte berbère)
16	Mokrani noir	N	gros noir (en dialecte berbère)
17	Amanzo	N	gros (en dialecte berbère)
18	Azbib	RS	utilisé pour zébib (raisins secs) (en dialecte berbère)
19	Anonymous	N	/
20	Anonymous	RS	/
21	Anonymous	RS	/
22	Azogagh	R	Rouge (en dialecte berbère)
23	Datte	BL	Dattier(en français)
24	Azogar	BL	Dattier (en dialecte berbère)
25	Anonymous	BL	/
26	Anonymous	BL	/
27	Amellal	BL	blanc (en dialecte berbère)
28	Afagoss	BL	Pastèque (en dialecte algérien)
29	Anonymous	BL	/
30	Lanab agahlan	BL	Bon goût (en dialecte berbère)
31	Lanab amesski	BL	Raisin muska (en dialecte berbère)
32	Anonymous	BL	/
33	Sbaa laroussa	V	Les doigts de la mariée (en dialecte Algérien)
34	Amokran	V	gros (en dialecte berbère)
35	Talyani	V	Italien (en dialecte berbère)
36	Anonymous	V/R	/
37	Anonymous	V	/

Couleur des baies : N : noir, R / V : rouge / vert, V / RS : vert / rose, V : vert, R : rouge, RS : rose, BL : blanc (vert / jaune).

1.3. Identification génotypique

Le génotypage rapide et cohérent est une exigence importante pour l'identification de la vigne qui fait l'objet de multiples études en raison du grand nombre de synonymes et d'homonymes générés au cours de plusieurs siècles de multiplication et d'échanges végétatifs. L'identification génotypique de nos échantillons a été financée et effectuée au laboratoire de service d'identification de la vigne du centre de recherche en viticulture et œnologie de Conegliano (Italie), les principales étapes de l'identification génotypique réalisées pendant cette étude sont résumées dans la Figure 14.

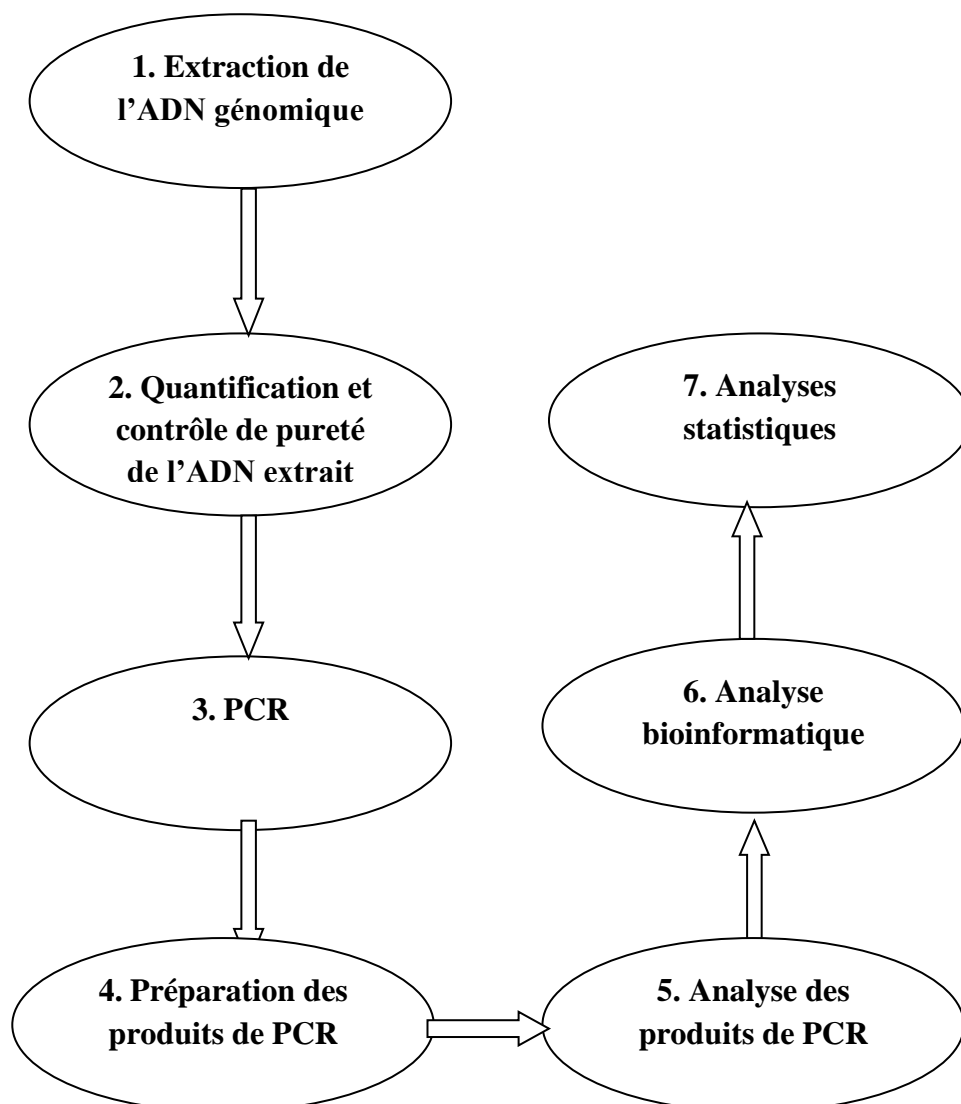


Figure 14. Schéma physique simplifié les étapes d'identification génotypique.

1.3.1. Extraction de l'ADN génomique

Pour pouvoir analyser la molécule d'ADN il faut en effet la “décrocher” de son support en la mettant dans un milieu aqueux, L'ADN a été isolé à partir de 20 mg de jeunes feuilles en utilisant le Kit commercial Qiagen DNeasy Plant mini-kit (Qiagen, Hilden, Germany) selon le protocole suivant :

- Broyage de feuilles de vigne lyophilisées (≤ 20 mg de tissu lyophilisé).
- 20 mg de tissu lyophilisé a été mis en suspension dans 400 μ l de tampon AP1 et 4 μ l de RNase A.
- Vortexer et incuber dans un bain marie pendant 10 min à 65 °C.
- Ajouter 130 μ l de tampon P3 en mélangeant et incuber pendant 5 min sur glace.
- Centrifuger le lysat pendant 5 min à 14 000 rpm.
- Le surnageant a été prélevé et transféré dans la colonne (QIAshredder Mini spin column) puis centrifugé 2 min à 14 000 rpm.
- Ajouter 1,5 /volume du tampon AW1 au lysat et mixer immédiatement par pipetage.
- Placer 650 μ l du mélange dans la mini colonne (DNeasyMiniSpinColumn) et centrifugé 1 minute à 8000 rpm.
- Placer la mini colonne (DNeasyMiniSpinColumn) dans un nouveau microtube de 2ml et ajouter 500 μ l de tampon AW2 puis centrifugé pendant 1 min à 8000 rpm.
- Répéter l'étape précédente 2 min à 14 000 rpm.
- Transférer la mini colonne (DNeasyMiniSpinColumn) dans un nouveau microtube de 2 ml.
- Ajouter 100 μ l de tampon AE pour élution, incuber pendant 5 min à température ambiante (15-25 ° C) puis centrifuger pendant 1 min à 8000 rpm.
- Répéter l'étape précédente dans le même tube.

1.3.2. Quantification et contrôle de pureté de l'ADN extrait

Le rendement et la pureté de l'ADN extrait ont été déterminés en mesurant l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre (Beckman DU 530 UV/Vis) en lumière ultraviolette à 260,230 et 280 nm contre un tampon TE appelé « blanc ».

1.3.3. Amplification des SSR par PCR

La réaction en chaîne par polymérase (PCR) est une technique de réplication et d'amplification de l'ADN *in vitro*. Il permet à une petite quantité de molécules d'ADN d'être amplifié de manière exponentielle et ne nécessitant que quelques variations thermiques cycliques, chaque cycle de copiage permet ainsi de doubler la quantité d'ADN de la zone sélectionnée selon trois grandes étapes :

- Une étape de dénaturation.
- Une étape d'hybridation.
- Une étape de polymérisation ou d'élongation.

1.3.3.1. Préparation des solutions mixtes

L'amplification des SSR a porté sur le protocole de Migliaro *et al.*, (2013), qui s'appuie sur le génotypage et fournit au secteur de la vigne un outil utile pour l'identification de la vigne et améliore l'application pratique de la recherche en même temps en évitant les étapes de purification de l'ADN, parce qu'il s'est avéré fiable sur l'ADN non purifié obtenu à partir de feuilles, accélérant ainsi le temps avec la réduction des coûts d'analyses moléculaire.

À cette fin, 12 SSR ont été choisis en fonction de leurs polymorphismes et de leur taille, incluses neuf marqueurs de vigne communs à usage international proposés dans le cadre du projet Européen GrapeGen06 (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79) (Maul *et al.*, 2012), en plus, ISV2 (VMC6e1), ISV4 (VMC6g1) et VMCNG4b9 (Migliaro *et al.*, 2013) ; les SSR utilisés lors de cette étude sont présentés dans le Tableau 3.

Tableau 3. Noms, séquences d'amorces et références pour les microsatellites utilisés.

Nom d'SSR	Amorce sens	Amorce antisens	Référence
VVS2	CAG CCC GTA AAT GTA TCC ATC	AAATTCAAAATTCTAATTCAA CTGG	Thomas et <i>al.</i> , (1993)
VVMD7	AGAGTTGCGGAGAACAGGA T	CGAACCTTCACACGCTTGAT	Bowers et <i>al.</i> , (1996)
VMC6E1	CAC TGG CCT GTT GGG AGA TAAT	CCT TCA ACT GGA AAA GCC TGT C	Migliaro et <i>al.</i> , (2013)
VrZAG62	GGTCAAATGGGCACCGAACAC ACGC	CCATGTCTCTCCTCAGCTTCTCAG C	Sefc et <i>al.</i> , (1999)
VrZAG79	AGATTGTGGAGGAGGGAACAA ACCG	TGCCCCATTTTCAAACCTCCCTTC C	Sefc et <i>al.</i> , (1999)
VVMD28	AACAATTCAATGAAAAGAG AGAGAGAGA	TCATCAATTCGTATCTCTATT TGCTG	Bowers et <i>al.</i> , (1999)
VVMD27	GTACCAGATCTGAATACATC CGTAAGT	ACGGGTATAGAGCAAACGGTG T	Bowers et <i>al.</i> , (1999)
VVMD25	TTCCGTAAAGCAAAGAA AAAGG	TTGGATTGAAATTTATTGAG GGG	Bowers et <i>al.</i> , (1999)
VVMD5	CTAGAGCTACGCAATCCA A	TATACCAAAAATCATATTCCT AAA	Bowers et <i>al.</i> , (1996)
VMCNG 4b9	CTGGGGAGCATATACACATA CCAG	CTCTCTCTCCCGATAGCCACC	Migliaro et <i>al.</i> , (2013)
VVMD32	TATGATTTTTAGGGGGGTG AGG	GGAAAGATGGGATGACTCGC	Bowers et <i>al.</i> , (1999)
VMC6G1	TGC ATA GTG CTG TAG GCC ATTG	TCT GTC ATT GCT GTC CCT TTC A	Migliaro et <i>al.</i> , (2013)

Pour diminuer les risques d'erreurs et de contamination nous avons préparé deux solutions mixtes contenant tous les composants de la PCR qui sont mentionnés dans le tableau 4 ; on parle d'analyse en multiplex.

Tableau 4. Composition de cocktail des amorces.

Multiplex	SSR	Concentration d'amorce (μ M)	Étiquetage	Allèle taille
M1	VVS2	0,20	6-FAM	123-171
	VVMD7	0,20	6-FAM	227-265
	VMC6E1	0,14	VIC	117-171
	VrZAG62	0,11	VIC	172-219
	VrZAG79	0,11	NED	236-280
	VVMD28	0,24	PET	219-285
M2	VVMD27	0,20	6-FAM	175-223
	VVMD25	0,16	6-FAM	238-277
	VVMD5	0,48	VIC	218-276
	VMCNG4b9	0,14	NED	138-180
	VVMD32	0,30	NED	236-292
	VMC6G1	0,14	PET	169-197

1.3.3.2. Condition de PCR

Après la préparation des solutions mixtes l'amplification s'effectue à l'aide d'un thermocycleur de (modèle AB 2720, Applied Biosystems™) dans un volume réactionnel de 12,5 µl contenant les réactifs mentionnés dans le Tableau 5.

Après avoir placé les tubes contenant l'ADN dans le thermocycleur, une prédénaturation à 94°C pendant presque 5 minutes est entamée. Ensuite, le programme d'amplification est exécuté selon trois étapes répétées en 30 cycles de :

- Dénaturation à 94°C pendant 45 secondes.
- Hybridation à 55°C pendant 1 minute et 30 secondes.
- Élongation à 72°C pendant 1 minute.
- Une étape d'extension finale pendant 30 min à 72°C.

Tableau 5. Composition de la solution mixte pour la PCR.

Produits	Volumes (1tube)	Volumes (37tubes)
H ₂ O ultra-pure	7,45 µl	275,65 µl
Tampon (10x) (QIAGEN)	1,25 µl	46,25µl
Mg Cl ₂ (15mM)	0,4 µl	14,8 µl
dNTPs (1mM)	1,0 µl	37,0 µl
Cocktail d'amorces (25µM)	1,25 µl	46,25µl
Taq Polymerase (QIAGEN) (5U/µl)	0,15 µl	5,55 µl
ADN génomique (10ng/µl)	1,0 µl	37,0 µl
Volume final	12,5 µl/1tube	462,5 µl/37tubes

1.3.4. Préparation des produits de PCR pour l'analyse

Avant d'analyser les produits de PCR nous devons réaliser une étape essentielle conçue pour un bon déroulement d'électrophorèse et bon dimensionnement et calibrage des fragments d'ADN ultérieurement. À la lumière de cela, 0.5 µl de produits d'amplification ont été ajoutés à 0,95 µl de mélange formamide désionisé (Applied Biosystems - Life Technologies, Foster City, États-Unis) et le standard GeneScan™ 500 LIZ® (Applied Biosystems - Life Technologies, Foster City, États-Unis), les échantillons ont ensuite été transférés à un plateau de 96 puits ensuite, ce dernier est placé dans un therocycleur (AB 2720 pendant 5 min à 94

°C.

1.3.5. Analyse des produits de PCR

La détection et l'évaluation des amplicons ont été effectuées à l'aide d'un analyseur génétique ABI3130xl (Applied Biosystems®, Foster City, California).

Les principales étapes d'une analyse effectuée dans l'analyseur génétique sont :

- Démarrer et préparer l'instrument.
- Démarrer de l'ordinateur, et le logiciel de collecte de données.
- Enregistrer de plaque dans le logiciel de collecte de données.
- Créer un groupe de résultats avec le nom de fichier et de dossier.
- Charger les échantillons et commencer l'électrophorèse.
- Détection des spectres d'émission.
- Collection des données en utilisant le logiciel de collecte de données « Data Collection Software version 3.0 » (Applied Biosystems® série 3130/3130xl).
- Les allèles sont dimensionnés par rapport à la norme de dimensionnement interne à l'aide de la version 3.0 du logiciel ABI Prism Gene Mapper software.

1.3.6. Analyse bioinformatique des données

L'identification génétique de nos échantillons a été effectuée en comparant les profils SSR obtenus aux géotypes SSR des accessions maghrébines publiées précédemment dans la littérature et par comparaison avec la base de données CREA (Centre de recherche sur la viticulture et l'œnologie) et la base de données internationale publique (Catalogue international des variétés *Vitis*, VIVC ; <http://www.vivc.de/>).

Les améliorations technologiques ont considérablement élargi le domaine de recherche biologique en marqueurs génétiques ; plusieurs bases de données ont été constituées d'une part importante de l'encépagement mondial, leur utilisation comme outil d'identification des variétés de vigne est aujourd'hui généralisée au niveau international. Grâce à une base de données encyclopédique unique et reconnue dans le monde entier s'appelle *Vitis* International Variété Catalogue (VIVC) qu'est créé en 1996 à l'institut de la culture de la vigne (Geilweilerhof) a fin d'enregistrer les ressources génétiques de la vigne existant et / ou documenté dans le monde entier.

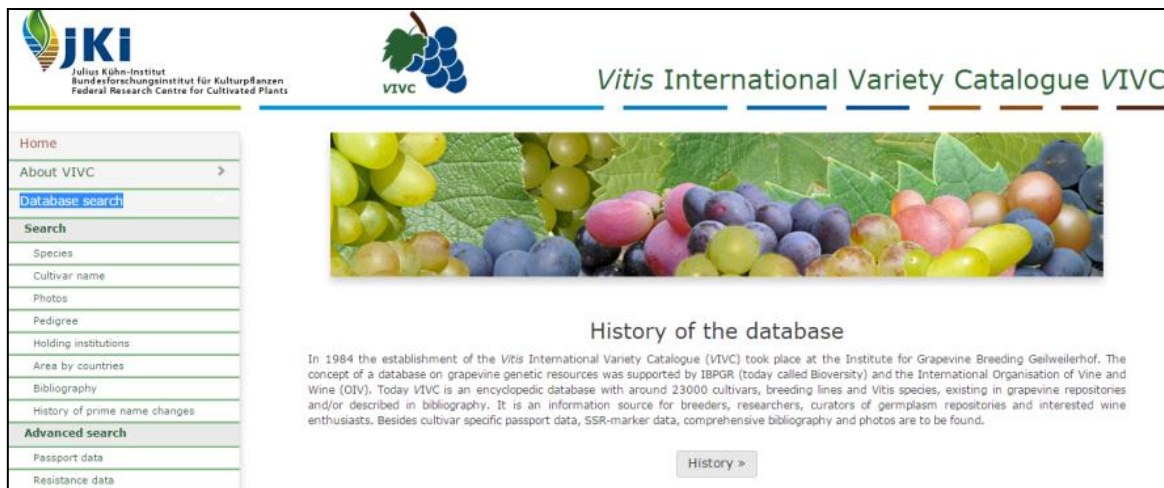
Ce service de base de données a été appuyé par l'Organisation Internationale de la Vigne et du vin (OIV) et Bioversity (anciennement, Institut International des Ressources Phytogénétiques (IPGRI)). Ces deux groupes ont recommandé la collecte, la description et la préservation des ressources génétiques de la vigne et le développement de la coopération internationale entre les banques de gènes.

Le système VIVC est accessible sur un site Web (<http://www.vivc.de>) maintenu, amélioré et mis à jour en permanence et les résultats des publications scientifiques sont constamment incorporés, Plus que les inventaires des collections de matériel génétique sont mis à jour et de nouveaux sont inclus.

Toutes les options de recherche dans la base de données sont indiquées dans la barre de menus située à gauche de la page d'accueil et plusieurs sections de recherche ont été mises en œuvre : « microsattellites par variétés », « microsattellites par profils », « Microsattellites par bibliographie » et « Relations basées sur neuf microsattellites » ...ect

Avec la section Microsattellites par profils, l'identification des variétés a été effectuée en utilisant des profils génétiques à neuf locus de microsattellites nucléaires (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79) (Maul et *al.*, 2012). Pour identifier les variétés correspondants aux profils SSR obtenus on a effectué les étapes représentées dans la Figure 15.

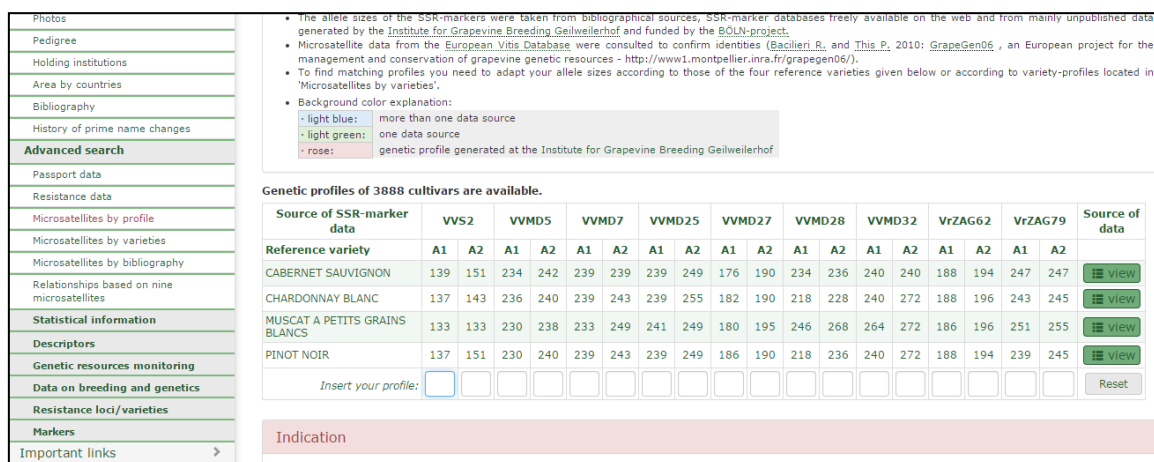
PARTIE 2. RÉALISATION EXPÉRIMENTALE



Accéder au site web (<http://www.vivc.de>).



Cliquer sur Data base search.



Sélectionner Microsatellites by profile et insérer le profil dans la case (Insert your profile) puis cliquer sur Reset.

Figure 15. Le déroulement d'analyse bioinformatique.

1.4. Analyses statistiques des données

L'utilisation croissante de microsattellites dans la recherche a été grandement aidée par des méthodes raffinées pour exploiter les données. Les analyses statistiques basées sur les données génotypiques de microsattellite sont classées en trois phases séquentielles :

- Manipulation initiale des données.
- Analyses génétiques de base pour l'obtention d'un résumé statistiques des paramètres communs de génétique de la population.
- Analyses génétiques avancées pour répondre à des questions spécifiques ou tests d'hypothèses.

1.4.1. La diversité génétique

L'analyse de la diversité génétique est l'approche la plus fondamentale dans la génétique de population pour calculer les indices de diversité génétique incluant le niveau de polymorphisme, fréquence des allèles nuls (Brookfield, 1996), nombre d'allèles, les valeurs d'hétérozygotie attendue (H_e) et observée (H_o), probabilité d'identité (PI) (Paetkau et *al.*, 1995), le contenu d'information de polymorphisme (PIC), Distances génétiques (DG).

Au cours des dernières décennies, les logiciels destinés à l'estimation des indices de diversité génétique ont été développés à un rythme sans précédent et nombreux logiciels de génétique de la population sont actuellement disponibles, mais seule une poignée d'entre eux ont été utilisés régulièrement ; au cours de la présente étude les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide des logiciels suivants :

- Le logiciel Cervus vs 3.0 (Kalinowski et *al.*, 2007) a été utilisé pour calculer le contenu d'information de polymorphisme (PIC) et détecter la présence d'allèles nuls
- Le logiciel GenAlEx release 6.51b2.xlam - June 16, 2018 (Peakall et Smouse, 2006, 2012) a été utilisé pour calculer les autres indices de la diversité génétique y compris les fréquences alléliques, fréquence des allèles nulles, nombre d'allèles, les valeurs d'hétérozygotie attendue (H_e) et observée (H_o), probabilité d'identité (PI), et la Distances génétiques (DG).

1.4.2. Analyse des regroupements

1.4.2.1 Analyse en Coordonnées Principales (PCoA)

Les analyses multi-variées telles que l'analyse en coordonnées principales étaient parmi les premières méthodes statistiques employées pour extraire des informations à partir de marqueurs génétiques. L'analyse en coordonnées principales (PCoA) fut proposée par Gower (1966) pour autoriser l'utilisation d'autres mesures de distance susceptibles de mieux traduire la différence entre les variétés.

Le logiciel GenAlEx release 6.51b2.xlam - June 16, 2018 (Peakall et Smouse, 2006, 2012) a également été utilisé pour rechercher d'éventuelles relations parentales et pour évaluer la structure de la population à l'aide de l'analyse des coordonnées principales (PCoA).

1.4.2.2. Analyse phylogénétique

L'analyse phylogénétique a été effectuée à l'aide des logiciels suivants :

- Le logiciel populations-1.2.32 a été utilisé pour construire le dendrogramme phylogénétique en utilisant l'algorithme Neighbor Joining.
- Le logiciel MEGA-X a été utilisé pour la visualisation de dendrogramme phylogénétique.

- **Remarque**

Tous les logiciels de génétique de population utilisés lors de cette étude peuvent être téléchargés gratuitement à partir des sites Web énumérés dans le Tableau 6.

Tableau 6. Sites Web de tous les logiciels de génétique de population utilisés lors de cette étude.

logiciels	sites Web
Cervus vs 3.0	http://www.fieldgenetics.com/pages/download.jsp
GenAlEx release 6.51b2.xlam	http://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Welcome.html
populations-1.2.32	http://bioinformatics.org/populations/#ancre_telechargement
MEGA-X	http://www.megasoftware.net/

1.5. Étude de la charge virale

L'étude de la charge virale de nos échantillons a été financée et effectuée au laboratoire de service de certification sanitaire de la vigne du Centre de Recherche en Viticulture et œnologie de Conegliano en Italie. La détection des virus de la vigne : Virus de la mosaïque Arabis (ArMV), Virus de l'enroulement de la vigne : (GLRaV-1, 2 et 3), (GVA et GVB) et le virus associé à la piqûre des tiges de la vigne Grapevine Rupestris (GRSPaV) dans les 37 échantillons mentionnés précédemment dans le tableau 1 a été effectuée comme suite :

- Extraction des ARN totaux.
- Synthèse des ADNc.
- Quantification des ADNc par PCR quantitative en temps réel.
- Évaluation de la spécificité de la méthode RT-qPCR.

1.5.1. Extraction des ARN totaux

Les ARN totaux ont été extraits à l'aide du kit RNeasy Plant Mini (Qiagen) en utilisant la méthode décrite par MacKenzie et *al.*, (1997) selon les recommandations du fabricant après une lyse chimique comme suit :

- Des veines de feuilles fraîches ont été coupées et homogénéisées dans l'azote liquide puis conservées à -80°C
- Environ 0.5 à 0.6 g de tissu végétal étaient placés dans un sac à échantillons et homogénéisés avec 5 ml de tampon de lyse composé de 4 M d'isothiocyanate de guanidine, 0.2 M (acétate de sodium, pH 5.0), 25 mM EDTA, 2.5% (poids / volume) de PVP-40 et 1% (volume / volume) 2-mercaptoéthanol (ajouté juste avant l'utilisation).
- Mélanger l'homogénat (1 ml) avec 100 μl de sarkosyle à 20% dans un tube à centrifuger sous agitation (1200 rpm) à 70°C pendant 10 min à l'aide d'un thermomélangeur Eppendorf.
- Transférer Environ 600 à 650 μl de l'homogénat à la colonne fournie avec le kit (QIAshredder Mini spin column, Qiagen) puis centrifuger à $14\,000 \times g$ pendant 2 min dans une Microcentrifugeuse Eppendorf.
- Mélanger 250 μl de filtrat obtenue dans un nouveau tube à centrifuger de 1.5 ml avec 225 μl d'éthanol à 95% ensuite, le mélange a été transféré sur une colonne (RNeasy, Qiagen), puis centrifuger à $8000 \times g$ pendant 45 secondes.

- 700 µl de tampon RW1 (Qiagen) ont été appliqués sur la colonne et suivie d'une centrifugation à $8\,000 \times g$ pendant 15 secondes.
- La colonne a été placée dans un tube collecteur propre de 2 ml, et 500 µl de tampon RPE (Qiagen) ont été appliqués sur la colonne suivie d'une centrifugation à $8\,000 \times g$ pendant 15 secondes.
- Répéter l'étape précédente mais avec une centrifugation à $14\,000 \times g$ pendant 5 min pour assurer l'élimination de l'alcool.
- La colonne est alors placée dans un nouveau tube à centrifuger de 1.5 ml et l'ARN a été élu par l'ajout de 100 µl d'eau ultra pure, suivie d'une centrifugation à $8\,000 \times g$ pendant 1 min.
- Les tubes de collecte ont été étiquetés de manière appropriée, et l'ARN a été stocké à -80 °C jusqu'à l'utilisation pour l'analyse RT-PCR.

1.5.2. Rétro transcription (RT)

Dans un premier temps, 1 µg d'ARN a été traité avec 1 unité de DNase I sans RNase (MBI Fermentas) pendant 45 min à 37 °C . Cette réaction a été arrêtée avec 1 µl d'EDTA 25 mM. Après une dénaturation à 95 °C pendant 5 min, l'ARN a été subi à une transcription inverse à l'aide d'un thermocycleur (Bio-Rad, modèle CFX96), par une incubation à 42 °C pendant 50 minutes en présence de 0,8 µl de transcriptase inverse du MMLV (Moloney murine leukemia virus) (Invitrogen) 200u/µl et 2,5 µl de chaque dNTP 2.5 mM et 2 µl d'amorces aléatoires 0.5 µg/µl (Roche Diagnostic).

1.5.3. PCRquantitatif

Le système de PCR quantitatif basé sur la technologie basée sur le SYBR Green I comme un bon émetteur fluorescent, il devient possible de suivre la réaction PCR durant sa phase d'élongation. Pour chaque échantillon d'ADNc, plusieurs réactions de PCR sont réalisées en parallèle et en doublon dans une plaque de 96 puits, en utilisant différents couples d'amorces spécifiques énumérées dans le Tableau 7. Les analyses ont été réalisées dans un volume réactionnel de 10 µl contenant : 0,3 µM de chaque amorce et 1 µl d'ADNc et 5 µl de SYBR 2X Platinum qPCR vert Supermix-UDG (Invitrogen). L'amplification est effectuée dans un appareil thermocycleur Bio-Rad (modèle CFX96), dans les conditions thermiques suivantes : 3 min à 50 °C , 3 min à 95 °C , puis 49 cycles d'une étape de 5 secondes à 95 °C et d'une étape de 30 secondes à 60 °C .

L'acquisition et l'analyse des données de fluorescence ont été réalisées avec le logiciel CFX Maestro™ pour la collecte de données, l'analyse de données et la représentation graphique de données de qPCR.

Tableau 7. Les paires d'amorces oligonucléotidiques utilisées pour l'analyse qPCR.

Spécificité	Amorce sens	Amorce anti-sens	Référence	La Cible
ArMV	CTTATGGCATAGTCCT GTTGT	GGAATCAAGTRTTTAAATA CCCCG	(Bianchi et <i>al.</i> , 2010)	Protéine de capside
GFLV	GGGACCACTATGGA TGGAATGA	TTCGGTGATATGGAGAGCG AAT	(Osman et Rowhani, 2006)	Protéine de capside
GLRaV-1	TGAAGGGACCGGA GGTTAT	GTGCTGAAGTGATGGGTA A	(Bertazzon et <i>al.</i> , 2009)	Protéine de capside
GLRaV-2	CTAACAATTCTTCT TTGGATCGCAT	AGAATGTCTTCAGCTTCAT AAGGAG	(Beuve et <i>al.</i> , 2007)	Protéine de capside
GLRaV-3	AAGTGCTCTAGTTAA GGTCAGGAGTGA	GTATTGGACTACCTTTCGG GAAAAT	(Osman et <i>al.</i> , 2007)	HSP70
GVA	GACCGAAMWATGTA CCTGAAYACTCTCTT	TATGGYGAGGTAGATATA GTAGGWCCTA	(Bianchi et <i>al.</i> , 2010)	Protéine de capside
GVB	GTGCTAAGAACGTCT TCACAGC	CGAGTAGCCCTTCGTTTAG CCGC	(Minafra et Hadidi, 1994)	
RSPaV	AATAATTCCCGATT TCAAGGC	AGGATTTAGCATRGAAAG GGAATAC	(Bianchi et <i>al.</i> , 2010)	Protéine de capside

1.5.4. Évaluation de la spécificité de qPCR

La vérification de la spécificité des produits de qPCR post-amplification au cours de laquelle l'identité du ou des produits formés en fin de réaction a été déterminée grâce aux profils de fusions de ces derniers (Ririe et *al.*, 1997).

La vérification de cette spécificité est réalisée à la fin de l'étape d'amplification grâce à la courbe de fusion au cours d'un gradient de température réalisé entre 50°C et 95°C.

Ce phénomène est enregistré par l'appareil sous forme d'une courbe de fusion représentant l'intensité de fluorescence en fonction de la température et la dérivée primaire de la courbe de fusion exprimée en unité de fluorescence relative (RFU) sur la dérivée de la température (-dRFU/dT) en fonction de la température, dont un pic de fusion d'un produit de qPCR va se distinguer facilement des pics de fusion pour des produits non spécifiques.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

2.1. Quantification et contrôle de pureté de l'ADN extrait

Tableau 8. Concentration et pureté de l'ADN extrait.

N° de l'échantillon	Concentration ng / μ L	260/280	260/230
1	61.45	1.65	1.88
2	15.23	1.43	0.92
3	10.85	1.12	9.65
4	17.82	1.2	0.75
5	12.91	1.25	0.6
6	126.47	1.85	2.15
7	125.03	1.61	1.83
8	11	1.24	0.79
9	19.93	1.3	0.43
10	14.49	1.41	1.03
11	17.18	1.3	0.71
12	14.31	1.34	0.46
13	17.79	1.32	0.48
14	43.39	1.77	2.18
15	20.76	1.57	1.18
16	12.38	1.36	0.76
17	17.05	1.45	0.69
18	38.76	1.28	0.31
19	17.87	1.35	0.49
20	18.88	1.33	1.61
21	51.97	1.77	2.09
22	69.61	1.74	2.03
23	16.05	1.39	0.94
24	17.33	1.51	0.99
25	16.97	1.39	1.46
26	14.01	1.41	0.68
27	36.47	1.64	1.87
28	26.98	1.66	1.73
29	22.94	1.41	0.92
30	18.47	1.33	0.85
31	11.22	1.42	1.14
32	53.14	1.67	1.88
33	18.08	1.28	1.1
34	11.93	1.4	0.87
35	32.22	1.61	1.44
36	44.05	1.59	1.02
37	40.99	1.72	1.98

Les résultats de la mesure des concentrations de l'ADN dans les 37 échantillons sont variées, dont certains d'entre eux ont des concentrations élevées et d'autres ont des concentrations faibles d'ADN. La même chose en ce qui concerne la pureté d'ADN extrait, certains échantillons ont donné de l'ADN pur mais la plus part de nos échantillons ont donné de l'ADN contaminé par les protéines et les hydrocarbures

2.2. Identifications des variétés

La détermination des allèles SSR pour chaque échantillon a été effectuée à l'aide de la version 3.0 du logiciel ABI Prism Gene Mapper software et les résultats sont obtenus sous forme d'électrophérogramme avec des pics colorés représentant des allèles SSR (Figure 16).

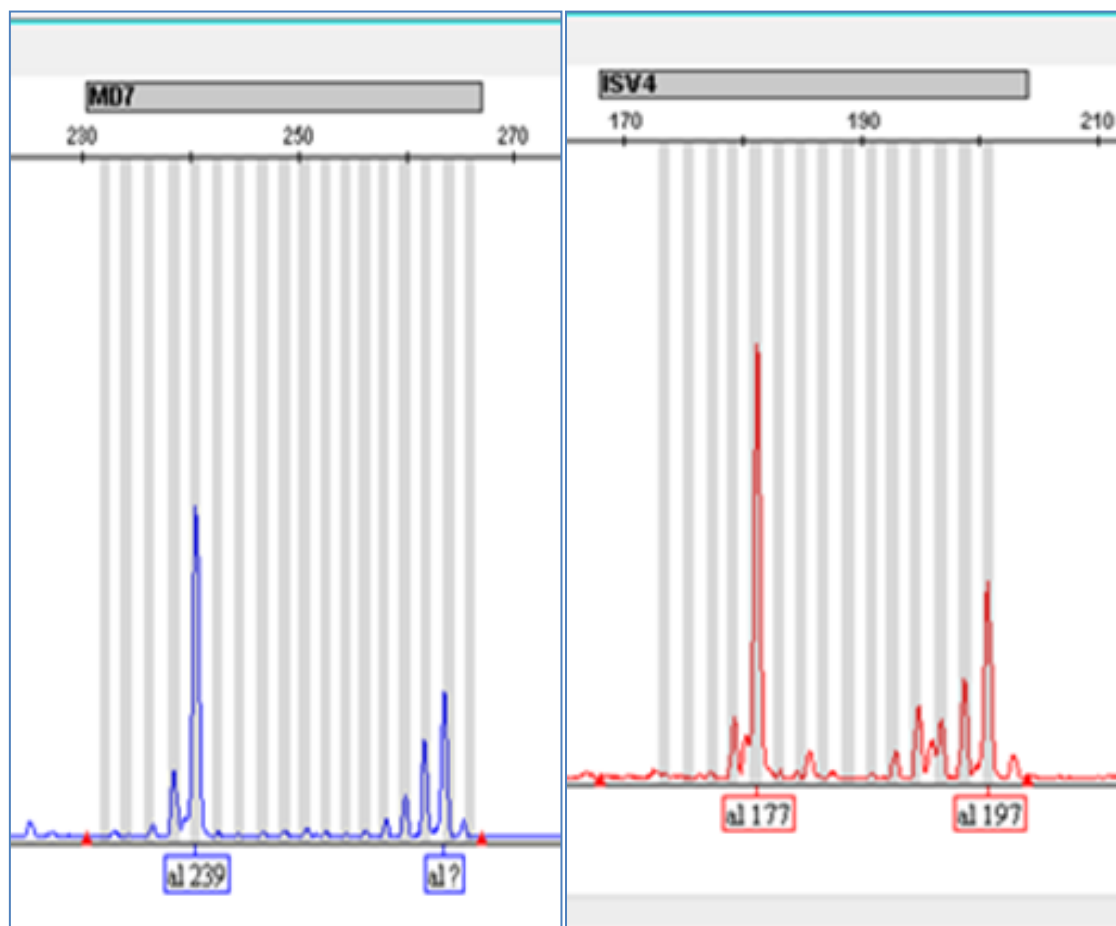


Figure 16. Exemples d'électrophérogrammes avec des pics colorés représentant des allèles SSR.

Les trente-sept accessions analysées au cours de la présente étude en utilisant 12 marqueurs microsatellites nucléaires, générant 13 profils génétiques différents (Tableau 9).

Tableau 9. Variétés analysées avec leurs génotypes correspondants aux locus SSR nucléaires.

Numéro de génotype	Correspondance de SSR	VVS2	MD27	MD7	VMC6E1	ZAG62	MD5	VMCNG4b9	ZAG79	VMC6G1	MD28	MD25	MD32
1	Dabouki	135 151 179 183 247 249 169 175 187 203 234 236 158 160 246 246 177 187 261 261 245 249 251 273											
2	Rassegui blanc	143 149 179 194 239 239 141 141 185 187 226 240 160 172 250 256 169 177 247 251 253 259 251 273											
3	Danugue	137 145 194 194 233 239 137 143 187 203 228 234 138 166 256 256 177 191 239 247 245 259 263 273											
4	Pascale Di Cagliari	145 151 179 181 243 249 165 165 187 203 226 234 164 166 246 260 177 177 261 261 245 267 257 273											
5	Chikki	133 151 185 185 233 253 143 157 199 203 226 236 150 170 236 250 177 187 261 263 245 253 253 257											
6	Taferielt	133 135 194 194 249 249 141 165 193 203 238 240 176 176 256 256 191 191 237 263 243 245 253 273											
7	Afus Ali	133 135 185 185 239 249 143 167 185 187 226 232 150 158 242 250 177 191 237 261 253 259 259 273											
8	Alphonse Lavalée	133 135 185 185 249 255 141 165 185 203 226 238 158 176 238 250 187 193 247 247 243 259 253 273											
9	Chanronge	133 139 183 189 239 239 137 165 185 187 240 240 150 164 244 246 169 187 261 261 243 243 257 273											
10	Clairette	137 151 179 191 239 249 141 165 185 203 226 232 158 158 250 250 177 191 231 261 245 267 257 263											
11	aucune, nom proposé : Babari	145 151 194 194 239 249 143 169 187 201 234 240 138 158 256 256 177 191 251 261 245 253 253 263											
12	aucune, nom proposé : Babar-Algeria	133 135 185 194 233 239 141 157 187 203 226 240 150 176 236 256 177 187 237 261 243 245 257 259											
13	aucune, nom proposé : Amesski-Babar	135 151 179 183 247 247 175 175 203 203 236 236 158 160 246 246 177 187 261 261 249 249 251 273											

PARTIE 2. RÉALISATION EXPÉRIMENTALE

Dix géotypes parmi nos échantillons correspondant à des variétés méditerranéennes ou internationales, alors que trois représentent des nouveautés figurent dans le Tableau 10.

Tableau 10. Couleur des baies, correspondances variétales et pays d'origine des 37 vignes.

Nom et numéro de l'échantillon	Couleur de baie	Correspondance de SSR	Pays d'origine
Azizao (10)	V	Afus Ali	Liban
Arabth (14)	N	Alphonse Lavallee	France
Nabil Athmani (8)	V	Chanronge (Lacombe 2013, VIVC 40350)	
Azanjari (13)	RS	Chikki (Riahi 2010, Lacombe 2013)	Algérie
Agogalth (15)	N		
Aneb Takhatelt (7)	V/RS	Clairette	France
Datte (23)	B	Dabouki	Arménie
Azogar (24)			
Anonymous (25)			
Anonymous (26)			
Amellal (27)			
Afagoss (28)			
Lanab agahlan (30)			
Sbaa laroussa (33)			
Anabi (12)	R	Danugue (Raimondi 2015, VIVC 3425)	France
Mokrani noir (16)	N		
Amanzo (17)	N		
Anonymous (36)	V/R		
Bousada (1)	RS	Pascale di Cagliari	Italie
Aberkan (11)			
Anonymous (20)			
Anonymous (21)			
Khoudja (4)	V	Rassegui blanc	Tunisie
Anonymous (29)			
Anonymous (32)			
Amokran (34)			
Talyani (35)			
Azbib (18)	RS	Taferielt (VIVC 12196)	Maroc
Anonymous (19)	N		
Rahali mohamed cherif (3)	V	aucune, nom proposé : Babar-Algeria	Algérie
Amezian (5)			
Aneb Babar (6)			
Azorith (9)			
Anonymous (37)			
Lanab amesski (31)	B	aucune,, possible self of Dabouki; nom proposé: Amesski-Babar	Algérie
Babari (2)	RS	aucune, nom proposé : Babari	Algérie
Azogagh (22)	R		

Couleur des baies : N : noir, R / V : rouge / vert, V / RS : vert / rose, V : vert, R : rouge, RS : rose, BL : blanc (vert / jaune).

Premièrement, le génotype le plus fréquent parmi les génotypes identifiés fait référence au cv «Dabouki» représenté par huit échantillons ; trois d'entre eux ont des noms basés sur la dimension et la forme des baies (échantillon 23, échantillon 24, échantillon 28), selon le VIVC, l'Arménie est indiquée comme pays d'origine de « Dabouki ». Basheer-Salimia *et al.*, (2014) et Galet (2000) indiquent que cette variété est cultivée au Proche-Orient, en Palestine, au Liban, en Syrie, en Jordanie et notre étude montre qu'il s'est propagé également en Algérie.

Deuxièmement, le génotype « Rassegui blanc » était représenté par cinq vignes parmi nos accessions, ce génotype est indiqué par Galet (2000) comme une variété Tunisienne originaire de Sicile ou de Pantelleria. Comme on pouvait s'y attendre dans l'histoire commune du Maghreb, des variétés Algériennes ont été trouvées dans de nombreux cas communs à la Tunisie ; c'est le cas du cultivar «Aïn El Kelb» qui est décrit comme un cultivar Algérien (VIVC) Laiadi *et al.*, (2009), mais également décrit comme un cultivar Tunisien selon Galet (2000).

Cependant, les génotypes de «Danugue» et «Pascale di Cagliari» sont représentées par quatre accessions pour chacune. Concernant «Danugue» c'est une variété française selon Raimondi *et al.*, (2015), par ailleurs, Galet (2000) indique que cette variété est considérée comme une variété espagnole, bien répandue en Algérie. Il convient de noter que, nos résultats correspondent à nombreuses recherches précédentes qui ont montré que certains cultivars Algériens avaient des génotypes identiques à ceux de cultivars ibériques bien connus ; ce qui laisse supposer que leurs noms locaux pourraient représenter de nouvelles dénominations de synonymes. C'est le cas de «Ahmeur Bou Ahmeur» avec «Tokay» et «Aïn el Kelb» avec «Beba» et «Bouni» avec «Dominga» ; de plus, les relations entrent «Bouni», «Aïn el Couma» et «Amellal» suggèrent que le cultivar espagnol «Dominga» pourrait provenir d'Algérie (Akkak *et al.*, 2007 ; Laiadi *et al.*, 2009).

Concernant la variété Italienne typique de l'île de Sardaigne «Pascale di Cagliari», à notre connaissance, et selon Lovicu (2017), notre étude constitue le premier rapport qui indique la présence de cette variété hors d'Italie, et cela peut être prouvé par l'étude de Laiadi *et al.*, (2009) qui révèle que le cultivar Algérien «Lakhdari» était identique génétiquement au cultivar classique Italien «sangiovese». En plus, selon Lepelley (1979) le plateau de Khenchela grâce à sa position stratégique n'avait pas échappé aux Romains lors de leur conquête de l'Afrique du Nord.

En revanche, le génotype «Chikki» qui est selon Galet (2000) ; Riahi et *al.*, (2010, 2012) et Lacombe et *al.*, (2013), en plus le catalogue (VIVC) il s'agit d'un cultivar Algérien, et d'après nos résultats s'est révélé être synonyme de deux accessions «Azanjari» et «Agogal».

De plus, deux autres accessions ont montré le profil SSR identique au « Taferielt » qui est considéré comme une variété Marocaine selon (VIVC) ; toutefois, selon Galet (2000), Laiadi et *al.*, (2009) et Zinelabidine et *al.*, (2010, 2014) le synonyme de «Taferielt» dénommé «Farana noir» est classé dans la catégorie des variétés Algériennes.

En effet, les profils SSR de «Afus Ali», «Alphonse Lavalée», «Chanronge» et «Clairette» ont été présentés par une seule vigne pour chacun ; nous commençons avec «Afus Ali» proposé comme étant originaire du Liban selon (Galet, 2000), qui a été identifié d'après notre étude comme synonyme de «Azizao». Par ailleurs, «Alphonse Lavalée», «Chanronge» et «Clairette» sont des synonymes de «Arabth», «Nabil Athmani», «Aneb Takhatelt » respectivement ; toutes ces plantes considérées comme des variétés françaises, même si le nom de variété original a été perdu parce que Levadoux (1971) indique que le cépage Algérien « Gros noir » considéré comme synonyme de «Alphonse Lavalée». Les dix variétés mentionnées ci-dessus qui sont génétiquement identiques à des variétés méditerranéennes ou internationales suggèrent que les noms locaux représentent de nouveaux synonymes ; ce résultat peut être expliqué par l'opinion de Leroux, (1894) qui a déclaré que l'Algérie et la Tunisie font un vin identique aux Grèce, Chypre Grec, Turc, la Sicile, l'Italie, les Canaries en Espagne, et Madère au Portugal, car ils sont placés aux mêmes latitudes.

À propos les trois nouvelles variétés qui sont différentes de tous ceux présents jusqu'à maintenant dans les bases de données moléculaires disponibles et dans la littérature. L'un de ces génotypes était représenté par cinq accessions ; pour cela, nous proposons le nom «Babar-Algeria» ; nos données montrent qu'il pourrait y avoir un lien parent-enfant entre cette variété et «Chikki», car ils partagent au moins un allèle par locus pour chacun des 12 marqueurs SSR.

Un autre génotype était représenté par l'échantillon 31, nous supposons que ce génotype pourrait être un auto-apprentissage de «Dabouki», car son profil moléculaire montre une recombinaison des allèles de «Dabouki» et une homozygotie supérieure à celle de «Dabouki» ; nous proposons «Amesski-Babar» comme nom principal pour ce génotype.

De plus, le dernier génotype est présenté par deux accessions et nous proposons le nom «Babari» comme nom principal pour ce génotype.

Nos résultats indiquent que ces trois nouveautés ne correspondent à aucun des génotypes de vigne publiés et pourraient représenter des variétés Algériennes uniques et très probablement des vignes spécifiques de la région de Babar et cela peut simplement être expliqué par des témoignages historiques.

D'une part, Babar fait partie de Khenchela la ville natale du premier roi de Numidie en Afrique du Nord, Massinissa qui a pu maintenir les terres appartenant à ses ancêtres pour représenter une ville d'Afrique pré-romaine même pendant les grandes civilisations de l'Afrique du Nord «Carthage» (Camps 1979, Glatzer et *al.*, 2015).

D'autre part, Janon (1980) montre que les Aurès, numidien c'était une région très fertile avec des jardins couverts d'arbres admirables partout et ce qu'il y a de plus étonnant c'est la taille du blé et de tous les fruits qui poussent à cet endroit ils sont le double de ceux qui poussent en Libye. En plus, Leveau et *al.*, (1990) montrent que les Aurès sont longtemps restés une région fermée, a été difficile d'accès pour les forces étrangères du fait de leur géographie, son relief montagneux (Chelia y est le point culminant de l'Algérie) c'était une terre de révoltes et de déclenchement de conflits depuis l'antiquité, grâce à sa tribu 'les Chaouis' qui sont contre le sabotage colonial à travers l'histoire.

En revanche, dans notre zone d'étude, on a la même remarque de Ghaffari et *al.*, (2013) en Tunisie dont certaines dénominations sont conservées avec de légères différences d'orthographe ou de signification, comme «Aberkan» et «Agogalth» cela signifie la couleur noire en dialecte berbère et ont le même génotype. Certains noms locaux ont conduit à des accessions homonymes au sein de secteur vigne cultivée c'est le cas de «Amellal», «Aberkan» ces noms ont été présentés dans l'étude précédente de Laiadi et *al.*, (2009), mais n'ont aucun lien génétique avec nos échantillons. Donc, nous montrons que les noms similaires pour des cultivars Algériens ne sont pas toujours des bons indicateurs de génotypes identiques ; parce que les désignations données par les peuples indigènes ne sont basées sur aucune étude mais uniquement sur des similitudes morphologiques.

2.3. Résultats statistiques

2.3.1. Estimation de la diversité génétique

En ce qui concerne la diversité génétique exprimée par les paramètres figurent dans le Tableau 11.

Tableau 11. Paramètres de diversité génétique en basant sur 12 marqueurs SSR pour les 13 génotypes obtenus.

Locus	N	Na	Ne	Ho	He	PI
VVS2	13	8,000	5,452	1,000	0,817	0,059
MD27	13	7,000	4,507	0,538	0,778	0,083
MD7	13	7,000	4,072	0,692	0,754	0,097
VMC6E1	13	8,000	6,145	0,769	0,837	0,046
ZAG62	13	6,000	3,521	0,923	0,716	0,129
MD5	13	7,000	5,365	0,846	0,814	0,060
VMCNG4b9	13	9,000	6,500	0,846	0,846	0,041
ZAG79	13	8,000	4,694	0,538	0,787	0,076
VMC6G1	13	5,000	3,414	0,846	0,707	0,134
MD28	13	7,000	3,314	0,615	0,698	0,119
MD25	13	6,000	5,045	0,846	0,802	0,067
MD32	13	6,000	4,694	1,000	0,787	0,074
MEAN	13	7,000	4,727	0,788	0,809	0,082
Cumulative						4,13E-14

N : nombre de génotype ; He : hétérozygotie attendue ; Ho : Hétérozygotie observée ; Na : nombre observé d'allèles ; Ne : nombre effectif d'allèles ; PI : Probabilité d'identité.

D'après nos résultats tous les douze marqueurs utilisés se sont révélés polymorphes ; le nombre total d'allèles enregistrés pour les douze marqueurs est de 84 allèles donnant une moyenne de 7 allèles par locus ; et un taux de polymorphisme de 100%. Le

PARTIE 2. RÉALISATION EXPÉRIMENTALE

nombre moyen d'allèles effectifs (N_e) était de 4.727 ; les hétérozygoties moyennes observées et attendues (H_o et H_e) étaient très similaires, soit 0.788 et 0.809 respectivement, la valeur du potentiel en information du polymorphisme moyen (PIC) était de 0.747 et la probabilité cumulative d'identité (PI) est de 4.13E-14 avec l'absence totale d'allel nul ; ces données reflètent la grande diversité génétique des vignes de Babar.

La matrice de distance de Nei (1978) est calculée par le logiciel GenAlEx release 6.51b2.xlam - June 16, 2018 (Peakall et Smouse, 2006, 2012), ces distances génétiques calculées entre accessions au sein de la population analysée sont présentées dans le Tableau 12.

Tableau 12. Matrice des distances génétiques.

G13	G5	G11	G1	G8	G4	G2	G7	G10	G6	G12	G9	G3	
0													G13
18	0												G5
16	18	0											G11
18	15	13	0										G1
19	15	18	20	0									G8
20	18	11	14	19	0								G4
25	18	16	14	23	17	0							G2
10	21	16	20	20	22	23	0						G7
16	23	15	22	25	25	18	18	0					G10
18	18	18	19	13	19	22	22	25	0				G6
28	24	24	26	21	23	27	29	32	5	0			G12
17	18	16	17	23	23	19	17	23	22	28	0		G9
23	23	15	20	20	23	23	25	26	20	26	20	0	G3

G1 : Afus Ali ; **G2** : Alphonse Lavallee ; **G3** : Chanronge ; **G4** : Chikki ; **G5** : Clairette ; **G6** : Dabouki ; **G7** : Danugue ; **G8** : Pascale di Cagliari ; **G9** : Rassegui blanc ; **G10** : Taferielt ; **G11** : Babar-Algeria ; **G12** : Amesski-Babar ; **G13** : Babari.

Les valeurs des distances génétiques varient de 5 à 32 ; La valeur la plus élevée est observée entre les deux variétés «Taferielt» et «Amesski-Babar» et la plus faible distance est entre «Dabouki» et «Amesski-Babar».

2.3.2. Résultats des regroupements

2.3.2.1. Analyse en Coordonnées Principales (PCoA)

Une analyse de coordonnées principale (PCoA) a été réalisée sur 13 génotypes identifiés en se basant sur la matrice de distance génétique afin de visualiser la variation génétique révélée par douze locus microsatellites nucléaires.

La PCoA obtenue a montré une diversité de 21,72% le long de l'axe 1 et de 14,80% le long de l'axe 2 donc le premier plan factoriel (1et 2) expliquant 36.52% (Figure 17).

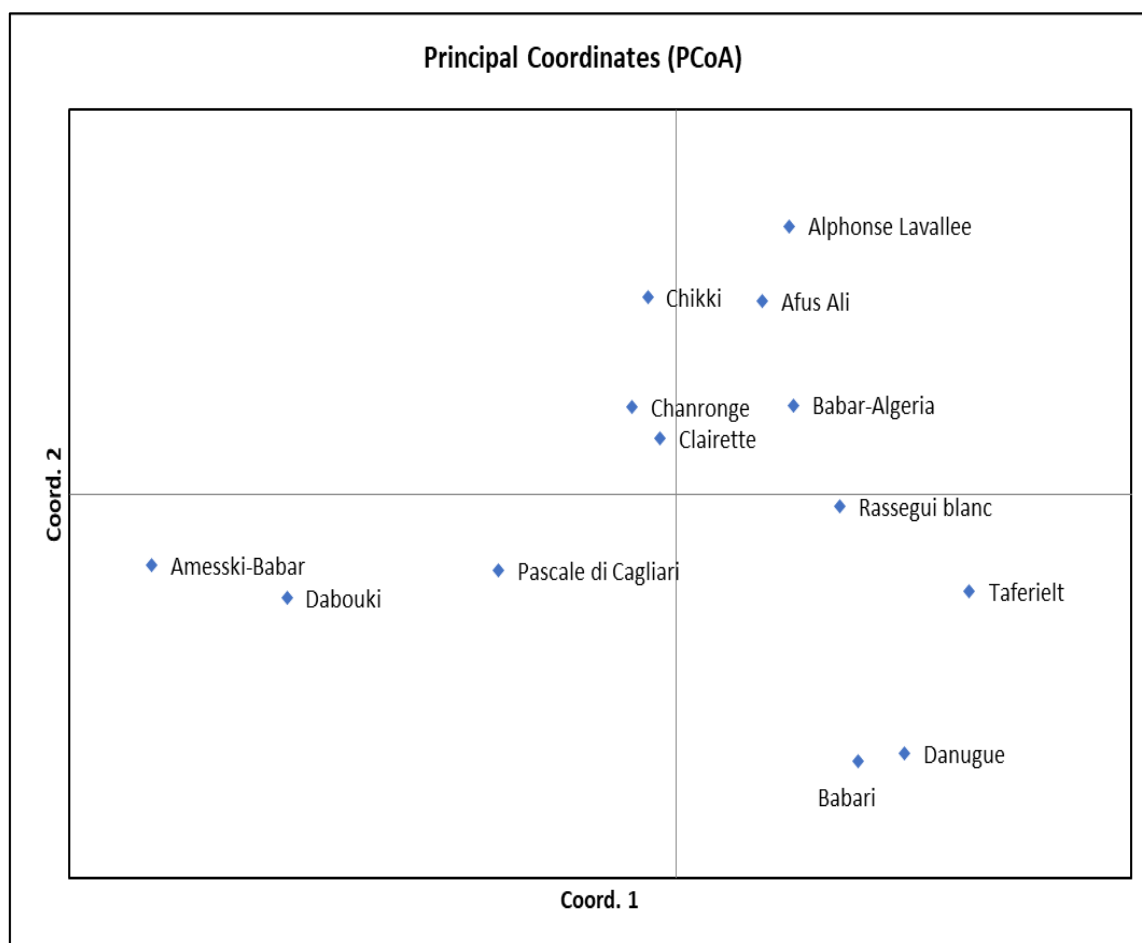


Figure 17. Graphique PCoA, l'axe 1 explique 21,72% de variation et l'axe 2 avec 14,80% de variation.

La PCoA a reflété la différenciation génétique entre les 13 génotypes identifiés en accord avec les résultats des distances génétiques. Il est intéressant de noter que le cépage «Dabouki» d'Arménie et sa descendance probable «Amesski-Babar» d'Algérie se situent à l'opposé du «Taferielt» d'origine Marocain ; Chanronge est très proche de «Clairette», ce qui suggère une même origine (peut être la France) ; en plus, «Babari» montre qu'il est très

proche de «Danugue» : ces variétés partagent au moins un allèle par locus, à l'exception du marqueur VVMD28.

2.3.2.2. Résultats phylogénétiques

Les relations phylogénétiques entre les 13 génotypes sont retracées au moyen du logiciel populations-1.2.32 en utilisant l'algorithme Neighbor Joining, puis le logiciel MEGA-X a été utilisé pour la visualisation de dendrogramme phylogénétique illustré dans la Figure 18.

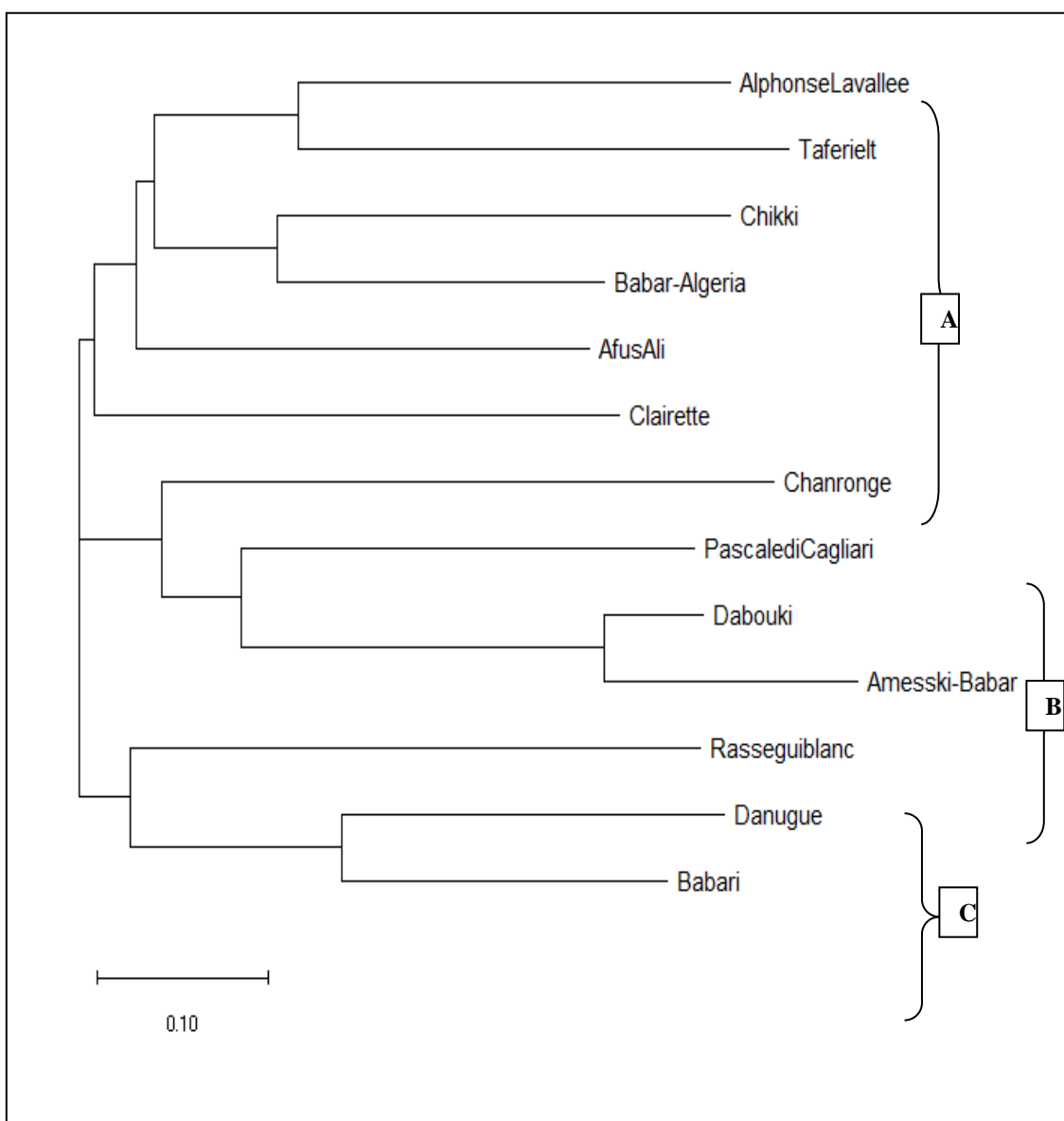


Figure 18. Dendrogramme illustrant les relations génétiques entre 13 génotypes construit selon l'algorithme NJ.

Nous constatons que, le dendrogramme illustrant les relations génétiques entre 13 génotypes obtenus à partir de 12 SSR nucléaires, révèle parfaitement l'existence d'un niveau significatif de polymorphisme génétique qui amènent à distinguer trois groupes de variétés (A, B, C) distincts, comprenaient respectivement, six, quatre et trois variétés, chaque groupe a été divisé en différents sous-groupes.

-Le premier groupe génétique «A» qui comprend six variétés, est divisé en trois sous groupes :

Le premier sous groupe est composé de cinq variétés qui montrent des relations génétiques importantes où il est clair que «Alphonse Lavalée» de France et «Taferielt» du Maroc sont regroupées ensemble dans un même clade ce qui indique une forte relation phylogénétique et cela confirme que ces deux cépages ont des synonymes Algériens sont «Gros noir» et «Farana noir» respectivement, comme nous l'avons mentionné précédemment. De plus, les deux cépages «Chikki» d'Algérie et «Babar-Algeria» d'Algérie constituent un seul un clade exprimant leur forte liaison génétique et cela confirme la relation parentale mentionnée précédemment.

Le deuxième sous groupe est représenté par l'unique cépage «Afus Ali», ce résultat renforce l'hypothèse proposée par Ghaffari et *al.*, (2013) qui propose le Maghreb comme une hypothèse alternative concernant l'origine géographique de «AfusAli», à cause de la pertinence de ce cultivar dans cette région, compte tenu de la relation entre ce cultivar et les vignes sauvages Tunisiennes et compte tenu de son chlorotype A.

Le troisième sous groupe est représenté par l'unique cépage «Clairette» qui est un cultivar connu dans le sud de la France, mais selon Laplagne-Barris (1848) et Kerridge et Gackle (2005) cette variété était également la variété blanche la plus importante de l'Algérie coloniale et considérée comme fruitier Algérien en 1848. En plus, elle ne semble pas être cultivée en Europe hors de France ; sachant que, Larnaude (1948) et Meloni et Swinnen (2014) de leur côté, ont souligné que les premières plantations de vigne dans la colonie Française d'Algérie n'étaient construites qu'à la fin d'une longue période d'un demi-siècle à partir de 1830. Le principal facteur à l'origine de cette tendance fut la dévastation des vignobles français causée par l'infection du phylloxéra commençant en 1863.

Le deuxième groupe «B» constitué de trois sous-groupes :

L'un comprend deux cultivars apparentés sont «Dabouki» d'Arménie et «Amesski-Babar» d'Algérie qui ont une relation paternelle entre elles et regroupées ensemble dans un même clade, elles ont la distance génétique la plus faible observée.

Le deuxième sous-groupe est présenté par une seule variété «Chanronge» considérée comme une variété Française.

Le troisième sous-groupe représenté par la variété Italienne «Pascale di Cagliari» détectée pour la première fois en dehors de l'Italie, qui peut avoir été réservée depuis l'époque des Romains et parmi les preuves de cela l'hypothèse émise depuis longtemps que Babar (prononcer Babère) pourrait correspondre au siège du «Victorinus babrensis» qui figure dans la liste des évêques convoqués en 484, par Hunéric 21. En outre, durant les dernières années, de sérieux indices sont venus corroborer une présence chrétienne tardive, voire même byzantine à Babar (Morizot, 1993). D'une autre part, Legouy et Boulanger (2015) montrent que la christianisation, second legs romain, permet à la vigne de perdurer dans le temps et reprend le flambeau de la viticulture Romaine. En plus, Précheur-Canonge (1962) a fait remarquer que la signification du nom 'Numisiana' d'une variété italienne c'est le raisin des Numides, qui est l'ancien nom de notre zone d'étude, la ville natale de Massinissa, le premier roi de la Numidie alliée de Rome (Lepelley, 2001 ; Seghiri, 2006).

Le troisième groupe «C» de deux sous groupes l'un formé par la variété «Rassegui blanc» qui est selon Galet (2000) une variété Tunisienne originaire de Sicile ou de Pantelleria. Il convient de noter que selon Lacombe et *al.*, (2013) «Rassegui blanc» a une relation de paternité avec «Farana» et «Heptakilo». Ainsi que dans le catalogue de variétés *Vitis* international (VIVC), le nom principal de «Farana» est une variété Espagnole «Planta fina» dont «Farana de Mascara» est l'une des plus importantes variétés Algériennes qui fait actuellement partie de ces nombreux synonymes. Par conséquent, les parents de «Rassegui blanc» peuvent être attribués à l'Algérie si on suppose qu'il existe des synonymes de «Heptakilo» d'origine grec en Algérie, comme le cultivar grec «Mavrodaphni» qui a un génotype identique au cultivar Algérien «Ahmar Mechtras» selon Laiadi et *al.*, (2009) ; et le cultivar grec bien connu «Muscat d'Alexandrie» est génotypiquement identique au cultivar Algérien «Muscat de Fandouk» selon Zinelabidine et *al.*, (2010).

L'autre sous groupe formé par la plus forte similitude enregistrée entre « Babari » d'Algérie et « Danugue » (France, Espagne) constituant un clade en exprimant leur forte liaison génétique, ce résultat correspond à celle de Laiadi et *al.*, (2009) qui ont prouvé que certains cultivars Algériens avaient des génotypes identiques à ceux des cultivars ibériques bien connus, compte tenu de la longue histoire d'interaction et d'échange entre la péninsule ibérique et l'Algérie.

En général, les civilisations, et les migrations humaines de masse associées sont apparues comme la clé facteurs pour résoudre le casse-tête de la biodiversité actuelle du raisin (Colova-Tsolova et *al.*, 2009). Cette biodiversité qui est parvenue jusqu'à nous au moyen de la multiplication végétative représentente autant de témoignages des époques où ils ont été créés. Il est étonnant que, nos résultats confirment que notre zone d'étude «Babar» est très riche en histoire.

Ce village qui fait partie du royaume numide qui était selon Camps (1979) le magnifique produit de deux entités l'une Gréco-orientale introduite par Phéniciens et l'autre protohistorique berbère. Surtout le fait que cette région était le centre d'indices sérieux venant corroborer l'existence d'un empire byzantin datant de l'époque Justinienne, l'empereur romain d'Orient en 527, dont l'expansion byzantine à cette époque s'étendit de la Grèce à l'Italie, en France, au sud d'Espagne, En Syrie et en Arménie, et l'Afrique byzantine était en effet composée de Numidie, de Tunisie Maroc et de Sardaigne (Durliat, 1981; Evans, 2005 ; Maraval, 2016 ; Morizot, 1993, 1994, 1999).

D'autre part, nos résultats confirment l'hypothèse que la viticulture de la vigne est une importation phénicienne (Bérard, 1895) et que l'introduction de cette culture en Grèce, en Sicile, en Italie et dans le sud-est de la France était due aux Phéniciens (Leroux, 1894). Les Phéniciens du Liban ont également présenté le vin et ses secrets aux Romains et aux Grecs qui l'ont ensuite propagé. Les Grecs l'ont introduit du sud de la France à la mer Noire et de la Sicile à l'Afrique du Nord (Andrews, 2007) (voir annexe E).

2.4. Analyse de statut sanitaire

2.4.1. Quantification de la charge virale

La charge virale de nos 37 échantillons a été déterminée grâce aux profils d'amplification qPCR obtenus (Figure 19) sous forme d'une allure de sigmoïde en 3 phases distinctes :

- Phase de bruit de fond
- Phase exponentielle
- Phase de plateau (ou de saturation)

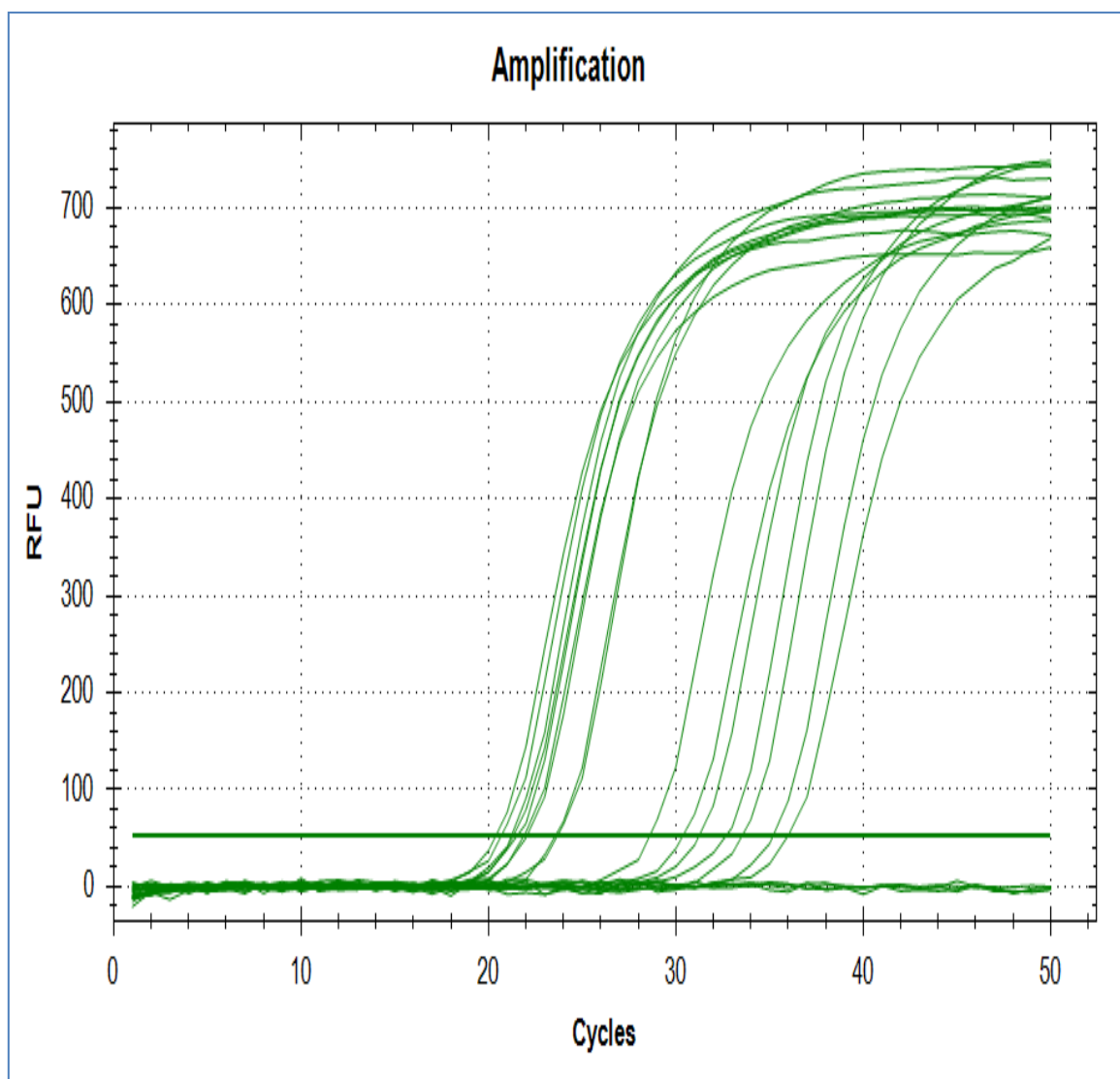


Figure 19. Profils d'amplification qPCR obtenus pour le virus GRSPaV.

Tous les calculs de la charge virale reposent sur la quantification en basant sur le concept de cycle threshold « CT » (Tableau 13). Ce concept a généralement plusieurs désignations telles que, Threshold Cycle C_T , Crossing Point C_p et de quantification Cycle C_q , mais Bustin *et al.*, (2009) ils ont proposé de remplacer toutes ces désignations par le terme générique de quantification Cycle (C_q).

Tableau 13. Les valeurs de quantification Cycle (C_q) obtenues.

N° de l'échantillon	Les valeurs de quantification Cycle (C_q) obtenues							
	ArMV	GFLV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GVA	GVB	GRSPaV
1	-	-	-	-	-	-	-	30,3
2	-	-	-	-	19,4	18,15	-	33,5
3	-	-	-	-	24,3	20,6	-	31,2
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	28,1	-	-	-	26,4
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	22,8
8	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	23,7	-	-	-	21,3
10	-	-	-	18,6	21,3	-	-	21,2
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	22,2	-	32,7	-	32,7
13	-	-	-	-	-	-	-	22,1
14	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	28,6
16	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	19,4	20,8	19,4	-	23,5
20	-	-	-	-	-	34,4	-	23,1
21	-	-	-	-	-	-	-	22,3
22	-	-	-	-	24,7	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	22,1
24	-	-	-	-	-	33,9	-	22,9
25	-	-	-	-	-	-	-	20,3
26	-	-	-	-	-	-	-	23,6
27	-	-	-	-	-	-	-	23
28	-	-	-	-	-	-	-	29,1
29	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	24,4	-	-	-	27,2
31	-	-	-	-	-	32,7	-	34
32	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	28,2	-	22,2
34	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	32,3	-	21,7
37	-	-	-	-	-	-	-	-

PARTIE 2. RÉALISATION EXPÉRIMENTALE

Grâce aux valeurs de Cq obtenues, nous pouvons estimer la charge virale de nos échantillons, d'après les résultats obtenus on a noté que le statut sanitaire de la vigne cultivée à « Babar » est en général très bon, comme l'indique le tableau 14.

Tableau 14. État sanitaire des échantillons de vigne, testé par RT-qPCR pour huit virus.

No Échantillon	Nom de l'échantillon	ArMV	GFLV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GVA	GVB	GRSPaV
1	Bousada	-	-	-	-	-	-	-	+
2	Babari	-	-	-	-	++	++	-	+
3	Rahali mohamed cherif	-	-	-	-	++	++	-	+
4	Khoudja	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Amezian	-	-	-	+	-	-	-	++
6	Aneb Babar	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Aneb Takhatelt	-	-	-	-	-	-	-	++
8	Nabil Athmani	-	-	-	-	-	-	-	-
9	Azorith	-	-	-	++	-	-	-	++
10	Azizao	-	-	-	++	++	-	-	++
11	Aberkan	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Anabi	-	-	-	++	-	+	-	+
13	Azanjari	-	-	-	-	-	-	-	++
14	Arabth	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Agogalth	-	-	-	-	-	-	-	+
16	Mokrani noir	-	-	-	-	-	-	-	-
17	Amanzo	-	-	-	-	-	-	-	-
18	Azbib	-	-	-	-	-	-	-	-
19	Anonymous	-	-	-	++	++	++	-	++
20	Anonymous	-	-	-	-	-	+	-	++
21	Anonymous	-	-	-	-	-	-	-	++
22	Azogagh	-	-	-	-	++	-	-	-
23	Datte	-	-	-	-	-	-	-	++
24	Azogar	-	-	-	-	-	+	-	++
25	Anonymous	-	-	-	-	-	-	-	++
26	Anonymous	-	-	-	-	-	-	-	++
27	Amellal	-	-	-	-	-	-	-	++
28	Afagoss	-	-	-	-	-	-	-	+
29	Anonymous	-	-	-	-	-	-	-	-
30	Lanab agahlan	-	-	-	++	-	-	-	+
31	Lanab amesski	-	-	-	-	-	+	-	+
32	Anonymous	-	-	-	-	-	-	-	-
33	Sbaa laroussa	-	-	-	-	-	+	-	++
34	Amokran	-	-	-	-	-	-	-	-
35	Talyani	-	-	-	-	-	-	-	-
36	Anonymous	-	-	-	-	-	+	-	++
37	Anonymous	-	-	-	-	-	-	-	-

“-” : absence du virus testé; “+”: Présence du virus testé; “++”: présence du virus testé avec une grande concentration.

Dans la présente étude, douze parmi 37 plantes étudiées (32,4%) sont exemptes de tous les virus recherchés (Figure 20), il est intéressant de noter que, parmi celles-ci, toutes les vignes identifiées comme «Rassegui blanc» (5 plantes sur 5), bien qu'elles aient été collectées à partir de différentes régions.

Par contre les résultats obtenus par Digiario et *al.*, (1999) qui réalisent une enquête sur les virus de la vigne en Méditerranée et Proche-Orient et montrent une prévalence beaucoup plus élevée de tous les virus dans les 10 échantillons Algériens analysés.

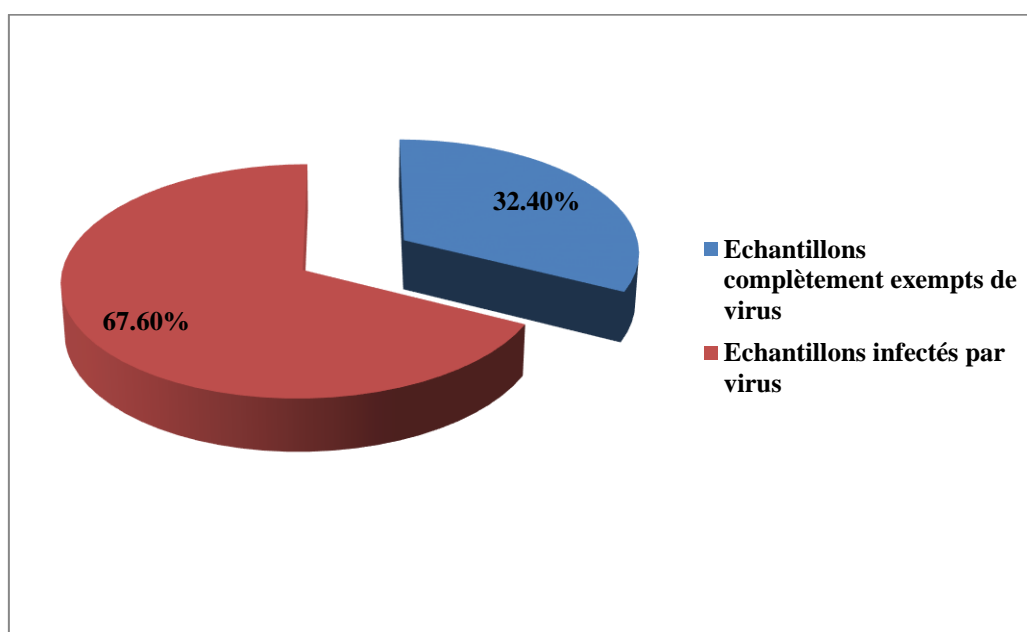


Figure 20. Un diagramme circulaire montrant en pourcentages le statut sanitaire de la vigne cultivée à Babar.

En effet, certains virus, à savoir les *Néporovirus* ArMv et le GFLV, l'Ampélovirus GLRaV-1 et le *Vitivirus* GVB, n'étaient présents dans aucune des plantes analysées. C'est l'opposé de ce qu'il a eu Tahirin (2015) qui a étudié l'état virale de la vigne de trois Wilayas du centre et sept Wilayas de l'Ouest du pays sachant que les résultats obtenus ont montré que 45% de vignes sont infectées par les deux virus du court noué. Probablement parce que les plantes sont auto-enracinées. L'absence de *Néporovirus* est intéressante car il est connu que des vecteurs nématodes de ces virus, tels que (*Xiphinema* spp) se rencontrent dans les localités semi aride au niveau de l'Atlas saharien, mais à faibles densités (Louadi et Robaux, 1992).

Surtout en ce qui concerne le virus (GFLV), qui se produit dans presque toutes les régions où la vigne est cultivée, contrairement aux autres népovirus rapportés qui montrent une distribution plus régionale et sont donc caractérisés comme virus Européens et Américains (Maliogka *et al.*, 2014).

De plus, aucune source de résistance au GFLV ou l'ArMV n'a été identifiée chez la vigne (Esmenjaud *et al.*, 2005).

Néanmoins, il existe des infections virales par d'autres virus tels que GRSPaV, GLRaV-3, GVA, GLRaV-2 et le pourcentage d'infection par chaque virus est indiqué dans la Figure 21.

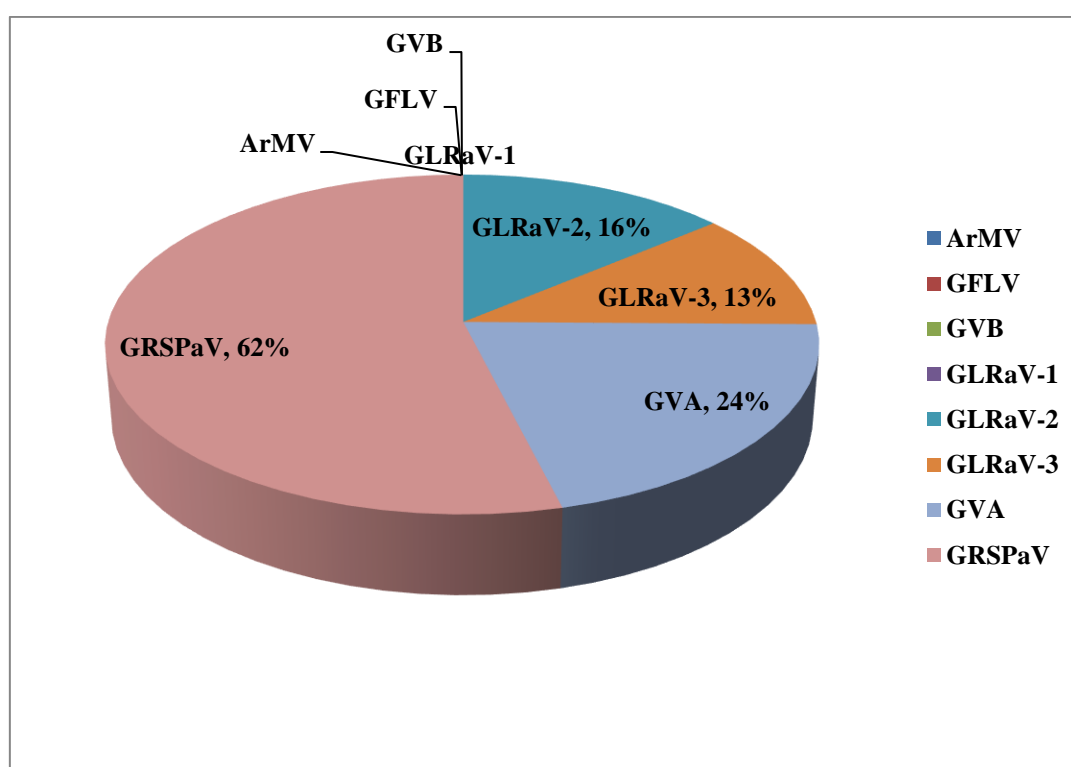


Figure 21. Un diagramme circulaire montrant en pourcentages l'infection par chaque virus de la vigne cultivée à Babar.

En revanche, le virus le plus répandu dans nos échantillons est GRSPaV, qui est détecté dans 62% d'échantillons. En détail, ce virus a été réparti de manière aléatoire entre les différentes vignes, notamment à « Dabouki », où il a été constaté dans les 8 échantillons analysés, quelle que soit la localité de collecte (Figure 22), cela pourrait impliquer une plante mère commune à toutes les vignes testées appartenant à cette variété.

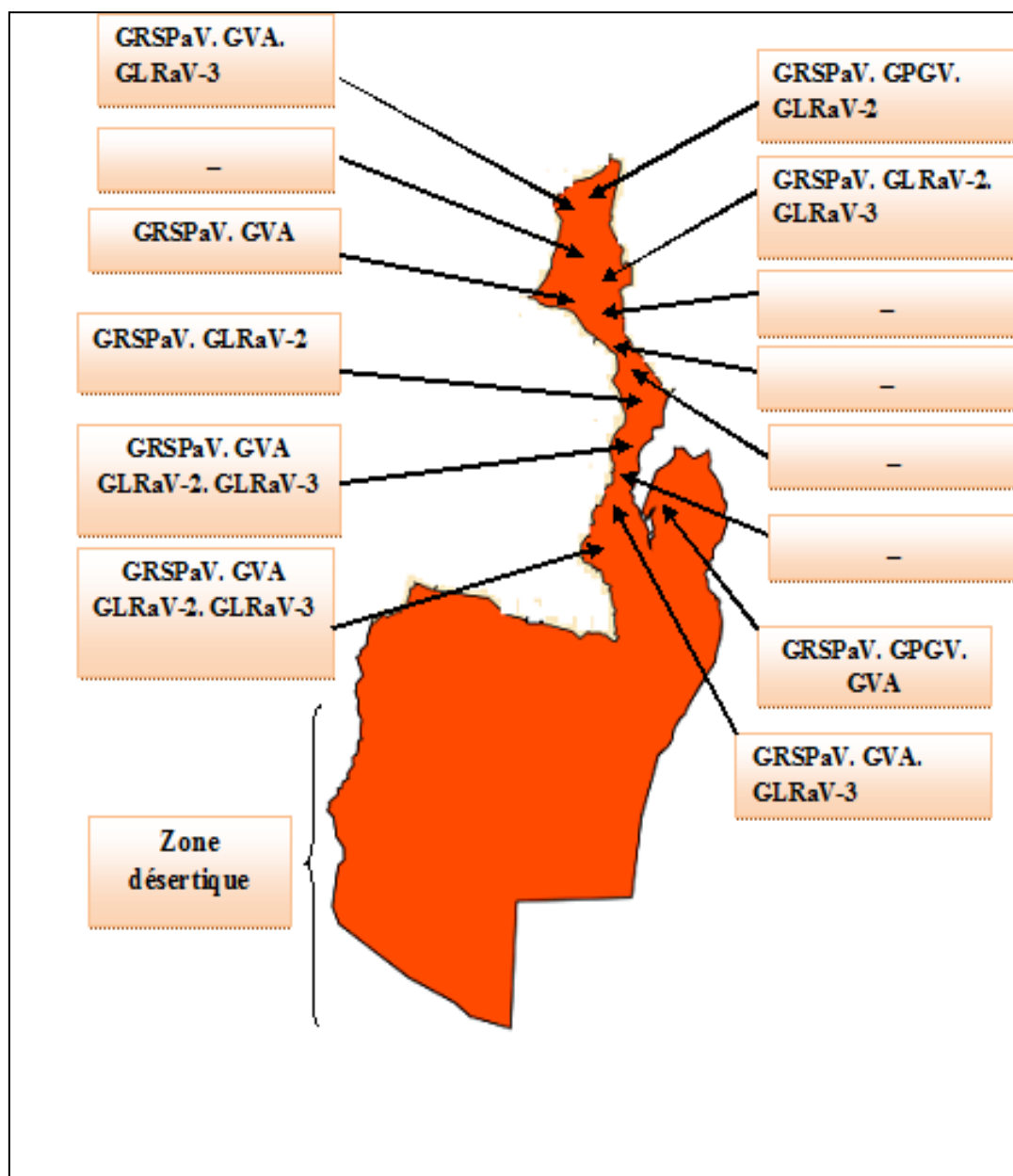


Figure 22. Carte de propagation géographique des virus à Babar.

Il convient de noter que le taux d'infection par GRSPaV dans notre zone d'étude est supérieur à ceux obtenus en Tunisie et en Egypte où une prévalence de 35% de vignes infectées a été trouvée dans les variétés autochtones en Tunisie (Selmi *et al.*, 2017) ; tandis qu'en Egypte, la prévalence est beaucoup plus faible 16,6% (Fattouh *et al.*, 2014).

Cependant, ce virus atteint un niveau d'infection de 100% dans la plupart des pays, supposé être principalement lié au volume élevé de greffes consécutif à l'épidémie de phylloxera en Europe et au fait qu'aucun vecteur du GRSPaV n'est connu (Meng *et al.*, 2006).

D'autre part, le virus GLRaV-3 est identifié dans 13% des vignes collectées, tandis que le GVA est détecté dans 24% du total des échantillons ; les deux virus, bien qu'ils appartiennent à des genres différents, sont connus pour être transmis par de nombreuses espèces de cochenilles farineuses. Compte tenu de la présence de cochenilles dans certaines zones de notre région d'étude, et de la co-infection de quelques échantillons avec les deux virus, il est possible de postuler une transmission vectorielle sur le terrain pour la plupart des cas des plantes infectées. Certaines enquêtes sur des variétés autochtones de la Tunisie voisine ont montré la présence de la GVA dans 35% des plantes analysées (sur un total de 141 échantillons ; Selmi et *al.*, 2018), ce qui est assez semblable à la prévalence constatée dans le présent travail.

Alors que GLRaV-3 en Tunisie était le virus le plus répandu (76,3%) (Mahfoudhi et *al.*, 2008), en plus en Algérie selon Lehad et *al.*, (2015) ce virus était présent à peu près dans 50% des plantes analysées, donc nos échantillons sont les meilleurs en Algérie à ce jour en terme d'infection par le GLRaV-3.

Enfin, la présence de GLRaV-2 dans 16% de nos échantillons est intéressante, en effet, aucun vecteur du virus n'a encore été trouvé dans le monde et certaines preuves suggèrent une origine Américaine du virus (Angelini et *al.*, 2017). Il était donc inattendu de le découvrir dans des vignes enracinées, en particulier celles d'origine locale ou Africaine, comme les deux vignes de «Taferielt», et deux vignes de «Babar-Algérie» sur 5 plantes. Il pourrait être stimulant d'étudier de plus près son occurrence dans du matériel génétique autochtone auto-enraciné d'Algérie et d'autres pays voisins, dans le but de vérifier s'il existe une distribution en cluster du virus, cela pourrait suggérer l'hypothèse de l'existence de vecteurs potentiels locaux.

De son coté Lehad (2012) a montré que GLRaV-2 est le virus le plus prédominant en Algérie ce qui confirme l'hypothèse précédente.

2.4.2. Validation de la qPCR

Les profils de fusion des produits qPCR obtenus pour tous les virus étudiés qui représentent la fluorescence en fonction de la température (Figure 23) et les dérivées primaires de ces courbes de fusion montrent la spécificité de qPCR pour tous les virus étudiés (Figure 24).

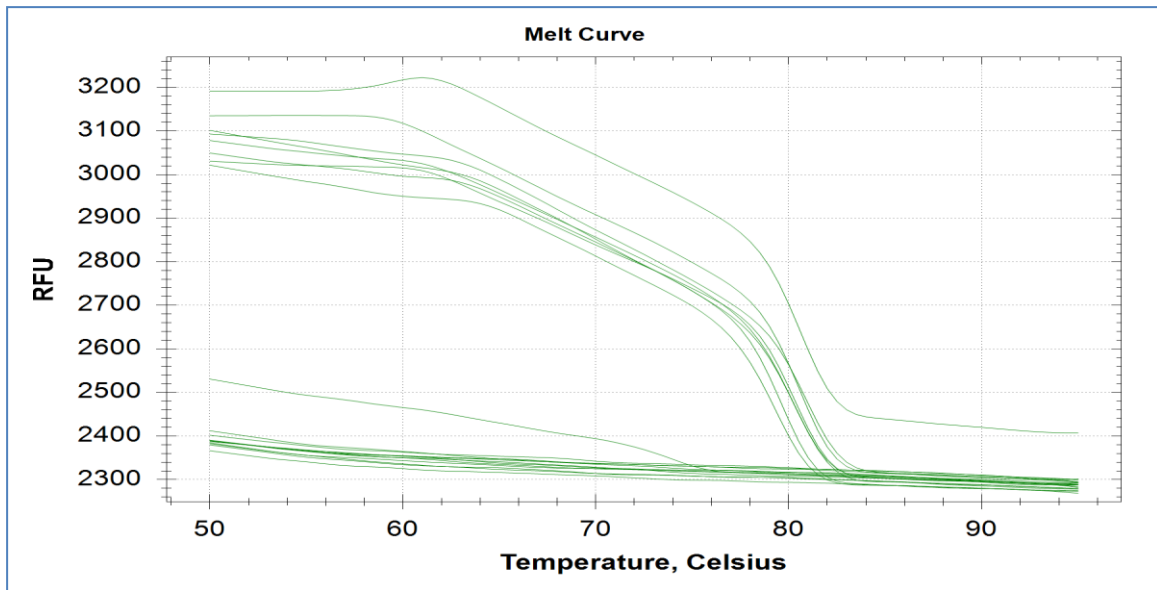


Figure 23. Profils de fusion des produits qPCR obtenus pour GVA, représentation de la fluorescence en fonction de la température.

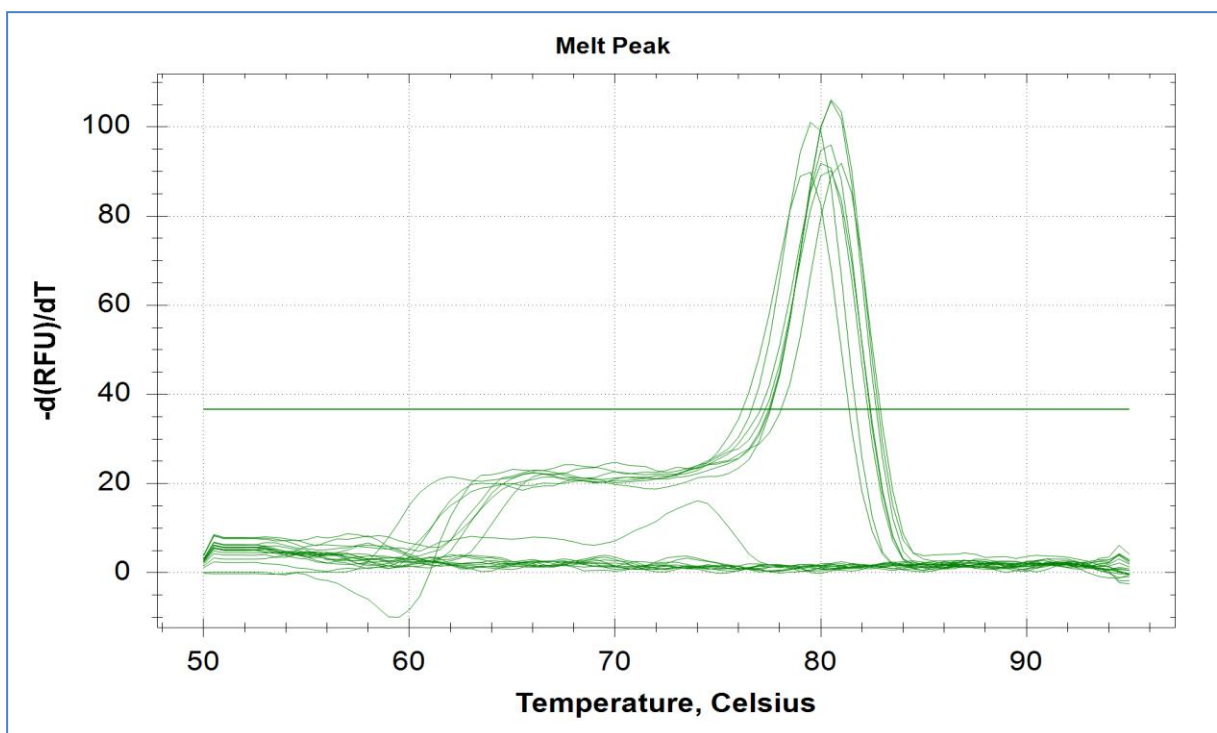


Figure 24. Représentation de la dérivée de la fluorescence sur la dérivée de la température ($-dF/dT$) en fonction de la température.

CONCLUSION

ET

RECOMMENDATIONS

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

La vigne (*Vitis vinifera* L.) est bien enracinée dans les traditions Algérienne grâce à l'installation de nombreuses civilisations à travers l'histoire. L'Algérie grâce à sa situation géographique et sa diversité pédoclimatique (côtières, plaines, montagne, steppiques, zones sahariennes) est une importante source de richesse en ressources génétiques surtout les variétés autochtones.

Ce travail s'inscrit dans le contexte de contribuer à la conservation des cépages Algériens pour éviter la perte de variabilité viticole, particulièrement dans une zone Algérienne incontrôlée telle que «Babar» Nord-est Algérien, en ajoutant des informations sur la très ancienne présence de la vigne dans les montagnes d'Aurès faisant partie de l'Atlas considérées par Hammad, (1989) ; Isnard (1951) ; Isnard (1953) comme un centre de gènes pour la vigne avant même sa domestication.

Cette étude est la première du genre en Algérie qui repose sur la stratégie européenne reposée sur la directive européenne 2002/11 / CE qui est selon Gisbert *et al.*, (2018) qui exige que le matériel végétal initial pour la conservation doit être exempt du virus de la vigne (GFLV), du virus de la mosaïque Arabis (ArMV), (GFkV), le virus-1 associé à la feuille de la vigne (GLRaV-1) et le virus associé à la feuille de la vigne-3 (GLRaV-3).

A travers ce travail, nous sommes passés par deux étapes majeures dans les programmes de conservation, gestion et exploitation rationnelle des ressources génétiques suivant la stratégie Européenne qui commence par une identification génotypique précise de 37 accessions de vigne cultivée à Babar en effectuant des analyses statistiques et phylogénétiques. En second lieu, l'état sanitaire de nos échantillons a été vérifié par la quantification de la charge virale en utilisant la technique RT-qPCR.

L'ensemble de douze marqueurs microsatellites SSR utilisés dans cette étude a produit treize profils moléculaires parmi 37 vignes Analysées ; dont dix d'entre eux sont des nouveaux synonymes de variétés méditerranéennes et internationales correspondant à «Dabouki», «Rassegui blanc», «Danugue», «Chikki», «Taferielt», «Afus Ali», « Alphonse Lavalée», «Chanronge», «Clairette» et le cultivar italien «Pascal di Cagliari» a été détecté pour la première fois en dehors de l'Italie.

En outre, c'est incroyable que nous ayons gagné le pari d'avoir trois cépages uniques différentes de tous ceux présents jusqu'à présent dans une si petite région historique, malgré que sa viticulture résiduelle, ces trois cépages pourraient représenter des variétés Algériennes uniques propres à la région de Babar : «Babar-Algeria» qui pourrait être apparenté à une descendance parentale avec «Chikki»; «Amesski-Babar» pourrait être un progéniture de «Dabouki» et « Babari» qui semble très proche de «Danugue». Ces surprises historiques ne sont pas inhabituelles dans le nord-est de l'Algérie, selon la dernière recherche de Sahnouni *et al.*, (2018) ont prouvé que le Nord-est Algérien est le deuxième plus ancien lieu habité au monde, voire peut-être l'origine de l'humanité et montre que les populations qui vivaient dans l'Afrique du Nord étaient beaucoup plus tôt que prévu.

D'après l'analyse en coordonnée principale ainsi que la classification hiérarchique on a trouvé que la structuration génétique des variétés de vigne selon l'origine géographique se trouve très controversée. Ces résultats pourraient s'expliquer par les diverses migrations humaines qui ont favorisé la dispersion de la vigne cultivée depuis l'antiquité et reflètent que Babar était un grand carrefour d'échanges entre les peuples, ce qui a permis de trouver un autre témoignage dans la richesse résiduelle de la diversité variétale de la vigne.

Ainsi que, les résultats d'identification génétique montrent l'héritage complexe, riche et même surprenant de la biodiversité de la vigne dans une si petite région, avec une viticulture négligée résiduelle pratiquée uniquement pour la consommation directe et en danger de disparition.

Au point de vue statistique, nos résultats reflètent la grande diversité génétique des vignes de Babar avec 84 allèles détectés et une moyenne de 7 allèles par locus avec un taux de polymorphisme égal à 100%.

Par ailleurs, les analyses virales ont révélé un très bon état sanitaire de la vigne de Babar en général, probablement du fait de l'enracinement naturel, à ce regard (32,4%) de nos échantillons étaient exempts de tous les virus recherchés, avec une absence totale de *Népoviruses* ArMv, GFLV, l'*Ampelovirus* GLRaV-1, le *Vitivirus* GVB. Cependant, le virus GRSPaV enregistré dans 62% des échantillons, notamment chez «Dabouki», alors que, GLRaV-3, GVA, GLRaV-2 ont été identifiés respectivement, dans 13%, 24%, 16%.

Les résultats actuels contribuent à une meilleure compréhension de la structure génétique et de l'état sanitaire des vignes de Babar en tant que ressource naturelle négligée

qui doit être protégée et entretenue dans un proche avenir, ces vignes constituent une source biologique précieuse de matériel génétique pour la sélection clonale et l'amélioration de la vigne.

D'après la conclusion générale formulée par les résultats de ce travail nous recommandons :

- La stratégie de conservation des bioressources viticoles doit impérativement être définie de manière claire afin de garantir que le but est correctement ciblé.
- Adopter le modèle Européen réussi pour la conservation de matériel génétique de la vigne donc les recherches à venir doivent être effectuées en prenant en compte l'état sanitaire des cépages destinés à conservation.
- Mener de nouvelles études dans les autres régions Algériennes négligées.
- La conservation du germoplasme de vigne Algérienne menacée dans une collection de référence doit être prise en charge
- Confronter les résultats d'analyse de ressource génétique algérienne de la vigne à ceux de certains pays méditerranéens afin de construire un arbre phylogénétique global
- L'interaction sera indispensable entre l'université et le ministère de l'agriculture, pour limiter les contraintes budgétaires.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

Abdel-Mawgood. A. L. (2012). DNA Based Techniques for Studying Genetic Diversity, Genetic Diversity, *Microorganisms* (94-122). Egypt: InTech.

Akkak, A., Boccacci, P., Botta, R. (2007). Cardinal' grape parentage: A case of a breeding mistake. *Genome*, 50, 325-328.

Akkaya, M.S., Bhagwat, A.A., Cregan, P.B. (1992). Length polymorphism of simple sequence repeat DNA in soybean. *Genetics*, 132, 1131–1139.

Albert, J.P. (1988). *Le symbolisme du vin dans la liturgie catholique. La vigne et le vin.* Paris : Cité des sciences et de l'industrie.

Aldebert, P., Orsat, S. (1959). Le vignoble Algérien. *Bull.Techn. Information Ing. Serv. Agric*, 142, 447-455.

Alleweldt, G., Possingham, J.V. (1988). Progress in grapevine breeding. *Theor Appl Genet*, 75, 669-673.

Andret-Link, P., Laporte, C., Valat, L., Ritzenthaler, C., Demangeat, G., Vigne, E., Fuchs, M. (2004). Grapevine fanleaf virus: Still a major threat to the grapevine industry. *Journal of Plant Pathology*, 86, 183–195.

Andrews. (2007). *Textbook of Food& Bevрге Management.* New Delhi: Tata McGraw-Hill Education.

Angelini, E., Aboughanem-Sabanadzovic, N., Dolja, V.V., Meng, B. (2017). Grapevine leafroll-associated virus 2. In: Meng B., Martelli G., Golino D., Fuchs M. (eds) *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management* (141-165).Switzerland: Springer, Cham.

Aouf, B.M. (1 9 7 2). La conversion - reconstitution du vignoble Algérie. *CIHEAM*, 12, 65-67.

Aradhya, M.K., Dangl, G.S., Prins, B.H., Boursiquot, J.M., Walker, M.A., Meredith, X.P., Simon, C. J. (2003). Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. *Genet Res*, 81,179-192.

Arnold, C. (2002). *Ecologie de la vigne sauvage, Vitis vinifera L. ssp. Sylvestris (Gmelin) Hegi, dans les forêts alluviales et colluviales d'Europe* (1 éd., vol. 76). La Suisse: Vdf Hochschulverlag.

Arnold, C., Schnitzler, A., Douard, A., Peter, R., Gillet, F. (2005). Is there a future for wild grapevine (*Vitis vinifera* subsp. *silvestris*) in the Rhine Valley? *Biodiversity and Conservation*, 14, 1507–1523.

Arroyo-Garcia, R., Lefort, F., de Andrés, M.T., Ibañez, J., Borrego, J., Jouve, N., Martinez-Zapater, J.M. (2002). Chloroplast microsatellite polymorphisms in *Vitis* species. *Genome*, 45, 1142-1149.

Arroyo-Garcia, R., Martinez-Zapater, J.M. (2004). Development and characterization of new microsatellite markers for grape. *Vitis*, 43, 175-178.

Arroyo-Garcia, R., Ruiz-Garcia, L., Bolling, L., Ocete, R., Lopez, M.A., Arnold, C., Martinez Zapater, J.M. (2006). Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms. *Molecular Ecology*, 15 (12), 3707-3714.

Atallah, S., Gomez, M., Fuchs, M., Martinson, T. (2012). Economic impact of grapevine leafroll disease on *Vitis vinifera* cv. *Am.J. Enol.Vitic*, 63, 73-79.

Basheer-Salimia, R., Lorenzi, S., Batarseh, F., Moreno-Sanz, P., Emanuelli, F., Grando, M.S. (2014). Molecular identification and genetic relationships of Palestinian grapevine cultivars. *Molecular biotechnology*, 56, 546-56.

Beghami, Y., Kalla, M., Vela, E., Thinon, M., Benmessaoud, H. (2013). Le Genévrier thurifère (*Juniperusthurifera* L.) dans les Aurès, Algérie : considérations générales, cartographie, écologie et groupements végétaux Thuriferous Juniper (*Juniperus thurifera* L.) in the Aurès area, Algeria : general considerations, cartography, ecology and plants communities, *ecologia mediterranea*, 39 (1), 17-30.

Belhout, M. T. (1990). Le secteur viticole et vinicole " interne en algerie. *marche et commerce international*, 33-36.

Bérard, V. (1895). La méditerranée phénicienne. *Annales de Géographie*, 16, 271-286.

Bertazzon, N., Bazzo, I., Repetto, O., Borgo, M., Angelini, E. (2009). Advances in molecular detection of GLRaV-1. *Le progrès Agricole et Viticole*, hors série, spécial Congrès ICVG. 294-295.

Beuve, M., Sempé, L., Lemaire, O. (2007). A sensitive one-step real-time RT-PCR method for detecting Grapevine leafroll-associated virus 2 variants in grapevine. *Journal of Virological Methods*, 141, 117-124.

Bianchi, G.L., Bertazzon, N., De Amicis, F., Borgo, M., Angelini, E. (2010). Multiplex real time RT-PCR for the detection of the most important viruses of grapevine. *Petria*, 20, 180-181.

- Bonavia, M., Digiario, M., Boscia, D., Boari, A., Bottalico, G., Savino, V., Martelli, G. P. (1996). Studies on “corky rugose wood” of grapevine and on the diagnosis of Grapevine Virus B. *Vitis*, 35, 53-58.
- Boscia, D., Greif, C., Gugerli, P., Martelli, G.P., Walter, B., Gonsalves, D. (1995). Nomenclature of grapevine leafroll-associated putative closteroviruses. *Vitis*, 34,171–175.
- Bouquet, A. (1982). Origine et évolution de l’encépagement français à travers les siècles. *Progr Agri Vitic*, 99, 110–121.
- Bouquet, A. (1983). *Contribution à l’étude de l’espèce Muscadinia rotundifolia (Michx) Small et de ses hybrides avec Vitis vinifera L. Applications en sélection* (Thèse de doctorat). Université Bordeaux II, France.
- Bouquet, A. (2011). Grapevines and viticulture. Dans A.F Adam-Blondon. J.M, Martinez-Zapater Kole. C (eds). *Genetics, Genomics and Breeding of Grapes* (1-29). New York, USA: CRC Press.
- Bouquet, A., Torregrosa, L., Locco, P., Thomas, M.R. (2008). *Grapes*. Dans C. Kole, T.C. Hall (eds., vol 4). *Compendium of Transgenic Crop Plants* (189-231). Wiley-Blackwell, Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Boursiquot, J.M., Audeguin, L., Charmont, S., Desperrier, J.M., Dufour, M.C., Jacquet, O., Lacombe, T., Leguay, M., Moulliet, C., Ollat, N., Schneider, C., Serreno, C. (2007). *Catalogue des variétés et clones de vignes cultivées en France* (vol.2). France : Institut Français de la Vigne et du Vin.
- Boursiquot, J.M., Faber, M. P., Blachier, O., Truel, P. (1987). Computerization and statistical analysis of ampelographic data. *Agronomie*, 7, 13–20.
- Bowers, J.E., Dangl, G.S., Meredith, C.P. (1999). Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. *Am J Enol Vitic*, 50(3):243-246.
- Bowers, J.E., Dangl, G.S., Vignani, R., Meredith, C.P. (1996). Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera*L). *Genome* 39:628-633.
- Branas, M.M. (1932). Sur la caryologie des Ampélidées. *C R Acad Sci Paris* ,194, 121–123.
- Breton, C., Terral, J.F., Pinatel, C., Medail, F., Bonhomme, F., Berville, A. (2009). The origins of the domestication of the olive tree. *Comptes Rendus Biologies*, 332 (12), 1059-1064.
- Brookfield, J.F.Y. (1996). A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Mol Ecol*, 5, 453–455.

Burger, P., Bouquet, A., Striem, M.J. (2009). Grape breeding. Dand S.M. Jain., P.M. Priyadarshan (Eds). *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species* (161-189).Germany: Springer.

Bustin, S. A., V. Benes, et al. (2009). The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem*, 55(4) : 611-622.

Cabello, F., Ortiz, J.M., Borrego, J., Dettweiler, E. (1999) Red Europea de bancos de germoplasma de vid, Proyecto Europeo GENRES 081, *La semana vitivinicola*, 736, 166-169.

Camps, G. (1979). Les Numides et la civilisationpunique. *Antiquités africaines*, 14, 43-53.

Carayon, N. (2008). *Les ports phéniciens et puniques Géomorphologie et infrastructures* (Thèse de doctorat). Université Marc-Bloch, Strasbourg.

Carbonneau, A., Escudier, J.L. (2017). *De l'œnologie à la viticulture*. France : Editions Quae.
Celestino Pérez, S., Blánquez Pérez, J., Campos Carrasco, J. M., & Sánchez Hernando, L. J. (2013, August). Patrimonio cultural de la vid y el vino . Communication présentée au Vine and wine cultural heritage. Espagne.Repéré
à<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4665689>

Chauhan, P., Kumar, P. (2015). Molecular Markers: Application in Plant Improvement Programmes. *International Journal Of Applied And Pure Science And Agriculture*, 1(6) 74-91.

Cipriani G, Frazza G, Peterlunger E, Testolin R (1994) Grapevine fingerprinting using microsatellite repeats. *Vitis*, 33,211-215.

Colova-Tsolova, V.; Perl, A.; Krastanova, S.; Tsvetkov, I.; Atanassov, A. (2009) Progress in genetic engineering of grapevine for disease and stress tolerance. Dans C. ROUBELAKIS-ANGELAKIS (Ed). *Grapevine molecular physiology & biotechnology* (509-534). Dordrechts, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

Conner, P.J. (2009). Performance of Muscadine Grape Cultivars in Southern Georgia. *Journal of the American Pomological Society*, 63(3), 101-107.

Creasy, G. L. and Creasy, L. L. (2009). *Grapes: Crop Production Science in Horticulture* (1st edition).United Kingdom: Oxford University Press.

De Mattia, F, Imazio, S, Grassi, F, Baneh, H.D, Scienza, A,Labra. M. (2008). Study of genetic relationships between wild and domesticated grapevine distributed from Middle East regions to European countries. *Rendiconti Lincei-Scienze Fisiche E Naturali*, 19 (3), 223-240.

Di Gaspero, G, Foria, S. (2015). Molecular grapevine breeding techniques. Dans A.G, Reynolds (eds). *Grapevine Breeding Programs for the Wine Industry* (23-37). Oxford: Woodhead Publishing.

Digiaro, M., Martelli, G.P., Savino, V. (1999). Phloem limited viruses of the grapevine in the Mediterranean and Near East: a synopsis. *Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches*, 29, 83-92.

Di Vora, A, Castelletti, L. (1995). Indagine preliminare sull'archeologia della vite (*Vitis vinifera* L.) in base ai caratteri diagnostici del vinacciolo. *Rivista Archeologica dell'Antica Provincia e Diocesi di Como*, 176, 333-358.

Drouai, H., Belhamra, M., Mimeche, F. (2018). Inventory and distribution of the rodents in AurèsMountains and Ziban oasis (Northeast of Algeria). *Anales de Biología*, 40, 47-55.

Dufour, M.C. (2011). Etude de l'efficacité des défenses de différents génotypes de *Vitis* induites par élicitation face à la diversité génétique de bioagresseurs (*Plasmopara viticola*, *Erysiphe necator*). (Thèse de doctorat). Bordeaux University. France.

Durliat, J. (1981). Les dédicaces d'ouvrages de défense dans l'Afrique byzantine. *Publications de l'École française de Rome*, 49, 3-123.

El Oualkadi, A., Ater, M., Messaoudi, Z., El Heit, K., Laucou, V., Boursiquot, J.M., Lacombe, T. and This, P. (2011). Genetic diversity of Moroccan grape accessions conserved ex situ compared to Maghreb and European gene pools. *Tree Genetics & Genomes*, 7, 1287-1298.

El Oualkadi, A., Messaoudi, M., Ater, Z., Laucou, T., Boursiquot, J.M., Lacombe, T., This, P. (2009). Molecular characterization of Moroccan grapevine germplasm using SSR markers for the establishment of a reference collection. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 43, 135-148.

Esmenjaud, D., Kunzmann, P., Schwaerzler, F., Lemaire, O., Ollat, N., Demangeat, G. (2013). Caractérisation et choix des nématodes vecteurs *Xiphinema* pour la sélection d'une résistance durable à la maladie du court-noué de la vigne. *Innovations Agronomiques*, 27, 9-22.

Esmenjaud D., Voisin R., Fritsch J., Bouquet A., Lemaire O., Claverie M. (2005). Le Court-noué de la vigne : II. Le point sur la lutte contre la maladie. Dossier spécial ITV-INRA « Alternative à la lutte chimique contre le court-noué de la vigne ». *Phytoma-La Défense des Végétaux*, 587, 43-48.

Evans, J. A.S. (2005). Justinien. *The Emperor Justinian and the Byzantine Empire*. London: Greenwood Publishing Group.

FAO. (2006). *FAO STAT Prod STAT Agricultural Production Data*. Rome. Fattouh, F., Ratti, C., El Ahwany, A.M.D., Abdel Aleem, E.; Babini, A.R.; Rubies Autonell, C. (2014).

Detection and molecular characterization of Egyptian isolates of grapevine viruses. *Actavirologica*, 58, 137-145.

Firas, R. A. S. and Abdulkareem, A. A. K. (2015). Molecular markers: An introduction and applications. *European J. Mole.Biotechnol*, 9, 118-30.

Gaffiot, F. (1934). *Dictionnaire latin français*. Hachette Livre.

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

Garau, R., Prota, V. A., Piredda, R., Boscia, D., Prota, U. (1994). On the presence of possible relationship between Kober stem grooving and Grapevine virus A. *Vitis*, 33, 161–163.

Gauquelin, T. (1999). Le genevrier thurifere (*Juniperus thurifera* L.), un arbre emblématique des Monegros. *Bol. S.E.A*, 24,107-110.

Gérard, B. (1967). *La vigne dans l'économie algérienne* (Thèse de doctorat). Université de Montpellier.France.

Ghaffari, S., Hasnaoui, N., Zinelabidine, L.H., Ferchichi, A., Martínez-Zapater, J.M., Ibáñez, J. (2013). Genetic identification and origin of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) in Tunisia. *Am J Enol Vitic*, 64, 538-544.

Gisbert, C., Peiró, R., San Pedro, T., Olmos, A., Jiménez, C., García, J. (2018). Recovering Ancient Grapevine Varieties: From Genetic Variability to in Vitro Conservation, A Case Study. *Grapes and Wines: Advances in Production, Processing, Analysis and Valorization* (p. 3-21). Paris: INTECH.

Glatzer, W., Camfield, L., Møller, V., Rojas, M. (2015). *Global Handbook of Quality of Life Exploration of Well-Being of Nations and Continents*. Germany: springer.

Goldy, R.G. (1992). Breeding muscadine grapes. *Hort Rev*, 14,357-405.

Gower, J.C. (1966). Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariateanalysis.*Biometrika*, 53, 325-338.

Grassi, F, Labra, M, Imazio, S, Spada, A, Sgorbati, S, Scienza, A, Sala, F. (2003). Evidence of a secondary grapevine domestication centre detected by SSR analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, 107,1315-1320.

Hamama, A. (2014). *Contribution à la caractérisation ampélographique et ampélogométrique des cépages de Vitis vinifera L.ssp. vinifera autochtones d'Algérie* (Thèse de magister). Université Mouloud Mammeri de Tizi ousou, Algérie.

Hammad, M. (1989). Arboriculture. *Peeters Publishers*, 6,1-8.

Hewitt, W. B. (1950). Fanleaf Another vine disease found in California. *The Bulletin of the California Department of Agriculture*, 39, 62-63.

Hewitt, W.B. (1968). Viruses and virus diseases of the grapevine. *Review of Applied Mycology*, 47,433-455.

Hilu, K. W., T. Borsch, K. Muller, D. E. Soltis, P. S. Soltis, V. Savolainen, M. W. Chase, M. P. Powell, L. A. Alice, R., Evans, H., Sauquet, C., Neinhuis, T. A. B., Slotta, J. G., Rohwer, C. S., Campbell, L. W. Chatrou. (2003). Angiosperm phylogeny based on matK sequence information. *Amer. J. Bot*, 90, 1758-1776.

Hoshino, A.A.; Bravo, J.P.; Nobile, P.M.N.; Morelli, K.A. (2012). Microsatellites as Tools for Genetic. Dans M. Caliskan, (eds). *Diversity Analysis. In Genetic Diversity in Microorganisms* (149-170). Rijeka, Croatia: InTech.

Huglin, P., chneider, C. (1998). *Biologie et écologie de la vigne*. Paris: Tec & doc.

Idrees, M., Irshad, M. (2014). Molecular Markers in Plants for Analysis of Genetic Diversity: A Review. *Eur. Acad. Res*, 11, 1513-1540.

Imache, A., Hartani, T., Bouarfa, S., Kuper, M. (2011). *La Mitidja vingt ans après réalités agricoles aux portes d'Alger*. France: Editions Quae, Versailles Cedex.

Imazio, S, Labra, M, Grassi, F, Scienza, A, Failla, O. (2006). Chloroplast microsatellites to investigate the origin of grapevine. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53, 1003-1011.

Isnard, H. (1951). *La Vigne en Algérie. Etude géographique*. France : Ophrys- Gap.

Isnard.H. (1953). La vigne en Algérie, étude géographique. *L'information géographique*, 17(2), 82-83.

Isnard, H. (1969). L'Algérie ou la décolonisation difficile. *Méditerranée*, 3, 325-340.

Jaillon, O, Aury, J.M,Noel, B, Policriti, A, Clepet, C, Casagrande, A, Wincker, P. (2007) The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature*, 449 (7161),463-465.

Jallet-Huant, M. (2006). *Les rois numides et la conquête de l'Afrique du Nord par les Romains*. France : Presses de Valmy.

Janon, M. (1980). L'Aurès au VIe siècle. Note sur le récit de Procope. *Antiquités africaines*, 15, 345-351.

Johnson, H. (1989). *The story of wine*. New York, USA: Mitchell Beazley Publishers.

Jones, M.P., Dingkuhn, M., Aluko, G.K., Semon, M. (1997). Interspecific *Oryza sativa* L. x *O. glaberrima* Steud. progenies in upland rice improvement. *Euphytica*, 92, 237-246.

Jones, N., Ougham, H., Thomas, H. and Pasčakinskiene, I. (2009) Markers and mapping revisited: finding your gene. *New Phytol*, 183, 935-966.

Kalinowski, S.T., Taper, M.L., Marshall, T.C. (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, 16, 1099-1006.

Knezović, Z., Mandić, A., Perić, N., Beljo, J., Žulj Mihaljević, M. (2017). Morphological and genetic characterization of vine grape cultivars of Herzegovina. *Croatian Review of Economic, Business and Social Statistics (CREBSS)*, 2, 1 -9.

Kerridge, G., Gackle, A. (2005). *Vines for Wines: A Wine Lover's Guide to the Top Wine Grape Varieties*. Australia: CSIRO Publishing.

Lacombe, T., Boursiquot, J.M., Laucou, V., Di Vecchi-Staraz, M., Péros, J.P. and This, P. (2013). Large-scale parentage analysis in an extended set of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Theor. Appl. Genet*, 126, 401-414.

Laiadi, Z. (2009). *Vitis vinifera* L. و جزيئي SSR من العنب المحلي لتعريف و تثمين أصناف Ampélographie مظهري. (Thèse de doctorat). Université Mentouri-Constantine, Algérie.

Laiadi, Z., Bentchikou, M.M., Bravo, G., Cabello, F., Martínez-Zapater, J.M. (2009). Molecular identification and genetic relationships of Algerian grapevine cultivars maintained at the germplasm collection of Skikda (Algeria). *Vitis*, 48, 25-32.

La Notte, P., Buzkan, N., Choueiri, E., Minafra, A., Martelli, G.P. (1997). Acquisition and transmission of Grapevine Virus A by the mealybug *Pseudococcus longispinus*. *Journal of Plant*, 79, 79-85.

Laplagne-Barris, F.L. (1848). Algeria: Moniteur algérien. Journal officiel de la colonie. *The History of the French Conquest of Algeria (532-880)*. France :Commission de colonisation de l'Algérie. Université d'État de l'Ohio, United States.

Laucou, V., Lacombe, T., Dechesne, F., Siret, R., Bruno, J.P., Dessup, M., This, P. (2011). High throughput analysis of grape genetic diversity as a tool for germplasm collection management. *Theoretical and Applied Genetics*, 122 (6), 1233-1245.

Lefort, F., Anzidei, M., Roubelakis-Angelakis, K A., Vendramin, G.G. (2000). Microsatellite profiling of the Greek Muscat cultivars with nuclear and chloroplast SSRs markers. *Quaderni della Scuola di Specializzazione in Scienze Viticole ed Enologiche*, 23, 56-80.

Legouy, F., Boulanger, S. (2015). Atlas de la vigne et du vin- Un nouveau défi de la mondialisation. Paris : Armand Colin.

Lehad, A. (2012). *Étude du complexe viral associé à l'enroulement soliaire de la vigne en Algérie* (Mémoire de Magister). Ecole National Agronomique El-Harrach. Algérie.

Lehad, A., Selmi, I., Louanchi, M., Aitouada, M., Mahfoudhi, N. (2015). Survey And Genetic Diversity Of Grapevine Leafroll Associated Virus-2 In Algeria. *Int. J. Phytopathol*, 04 (01), 35-42.

Lepelley, C. (1979). *Les Cités de l'Afrique romaine au Bas-Empire* : Paris. Études augustiniennes.

Lepelley, C. (2001). *Aspects de l'Afrique romaine : les cités, la vie rurale, le Christianisme*. Bari : l'Université du Michigan, Edipuglia.

Lequément, R. (1980). Le vin africain à l'époque impériale. *Antiquités africaines*, 16, 185-193.

Leroux, S. (1894): *Traité de la Vigne et le Vin en Algérie et en Tunisie*. Algeria: Blida, A. Mauguin.

Levadoux, L. (1956). Les populations sauvages et cultivées de *Vitis vinifera* L. *Annales de l'Amélioration des Plantes*, 1, 59-118.

Levadoux, L., Benabderrabou, A., Douaouri, B. (1971). Ampélographie Algérienne: Cépages de Cuve et de Table Cultivés en Algérie. Algeria: SNED.

Leveau, E.B.Ph., Morizot, P., Morizot, J., Chamla, M.C., Demoulin, F. S. Adjali., Chaker, S. (1990). Aurès. *Encyclopédie berbère Aurès-Azrou*, 8, 1-79.

Lodhi, M.A., Weeden, N.F., Reisch, B.I. (1995). Nuclear DNA contents of *Vitis* species, cultivars and other genera of Vitaceae. *Theor Appl Genet*, 19, 11-16.

Louadi, K., Robaux, P. (1992). Etudes des populations d'acariens pulvicoles dans l'est Algérien selon les Gradients climatiques propres à cette région, *Acarologia*, 33 (2), 177-191.

Lovicu, G. (2017). *Akinas. Uve di Sardegna*. Nuoro: IlissoEdizioni.

Litt, M., Luty, J. A. (1989). A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American journal of human genetics*, 44(3), 397-401.

Liu, Z.J. (2011). *Next Generation Sequencing and Whole Genome Selection in Aquaculture*. New York: Wiley-Blackwell.

MacKenzie, D.J., McLean., M.A., Mukerji, S., Green, M. (1997). Improved RNA extraction from woody plants for the detection of viral pathogens by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Plant Disease*, 81, (2), 222-226.

Mahfoudhi, N., Digiario, M., Dhouibi, M.H. (2008). Incidence and distribution of grapevine leafroll associated viruses in Tunisian vineyards. *J. Phytopathol*, 156, 556-558.

Maia, V. (2013). Vignobles de l'Algérie coloniale Une histoire du vin français ou algérien. *Jadaliyya*, 1-5.

Maliogka, V., Martelli, G.P., Fuchs, M., Katis, N. (2014). Control of viruses infecting grapevine. Dans G. Loebenstein and N. Katis (eds). *Control of Plant Viruses, Advances in Virus Research* (175-227). Pays-Bas : Elsevier.

Maraval, P. (2016). *Justinien. Le rêve d'un empire chrétien universel Broché*. Paris: Tallandier.

Mardis, E.R. (2011). A decade's perspective on DNA sequencing technology. *Nature*, 470,198-203.

Maree, H.J., Almeida, R.P.P., Bester, R., Chooi, K.M, Cohen, D., Dolja, V.V., Burger.j. (2013). Grapevine leafroll-associated virus 3. *Frontiers in Microbiology*,82(4).1-21.

Martelli, G. P. (2014). Directory of virus and virus-like diseases of the grapevine and their agents. *Journal of Plant Pathology*, 96, 1-4.

Martelli, G. (2017). An overview on grapevine viruses, viroids, and the diseases they cause. Dans B. Meng, (eds). *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management* (31-46). New York (États-Unis): Springer International Publishing.

Martelli, G. P., Boudon-Padieu, E. (2006). Directory of infectious diseases of grapevines. Dans G. P. Martelli & E. Boudon-Padieu (Eds). *Options Méditerranéennes Série B* : Vol. 55. (9-194). Bari, Italy : CIHEAM-IAMB.

Martelli, G. P., De Sequeira, O. A., Kassemeyer, H. H., Padilla, V., Prota, U., Quacquarelli, A., Savino.V. (1993). A scheme for grapevine certification in the European Economic Community. *British Crop Protection Council Monograph*, 54, 279–284.

Martelli, G.P., Jelkmann. W. (1998). *Foveavirus*, a new plant virus genus. *Archives of Virology* 142, 1245-1249.

Martinson, T., Fuchs, M., Loeb, G., Hoch, H. (2008). *Grapevine Leafroll – an increasing problem in the finger lakes, the US and the world. Rapport du New York State Agricultural Experiment Station*. New York: Cornell University.

Maul, E., Sudharma, K.N., Kecke, S., Marx, G., Müller, G., Audeguin, L.,...This, P. (2012). The European Vitis Database (www.eu-vitis.de) – a technical innovation through an online uploading and interactive modification system. *Vitis*, 51(2), 79-85.

McGovern, P.E. (2003). *Ancient wine: the search for the origins of viniculture*. New Jersey, USA: Ed Princeton Univ Princeton.

McGovern, P.E. (2004) *Ancient wine: the search for the origins of viniculture*. New Jersey, USA : Ed Princeton University Press.

Mediouni, K. (1997). Synthèse de la stratégie Algérienne d'utilisation durable de la diversité biologique. Algeria : Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement.

Meloni, G., Swinnen, J. (2014). The rise and fall of the world's largest wine exporter and its institutional legacy. *Journal of Wine Economics*, 9, 3-33.

Meng, B., Johnson, R., Peressini, S., Forsline, P.L., Gonsalves, D. (1999). *Rupestris stem pitting associated virus-1* is consistently detected in grapevines that are infected with rupestris stem pitting. *European Journal of Plant Pathology*, 105, 191–199.

Meng, B., Rebelo, A.R., Fisher, H. (2006). Genetic diversity analysis of Grapevine rupestris stem pitting-associated virus: Revelation of distinct population structures in scion versus rootstock varieties. *J. Gen. Virology*, 87, 1725-1733.

Migliaro, D., Morreale, G., Gardiman, M., Landolfo, S., Crespan, M., (2013). Direct multiplex PCR for grapevine genotyping and varietal identification. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 11, 182-185.

Minafra, A., Hadidi, A. (1994). Sensitive detection of grapevine virus A, B or leafroll-associated III from viruliferous mealybugs and infected tissue by cDNA amplification. *Journal of Virological Methods*, 47, 175-188.

Minafra, A., Saldarelli, P., Martelli, G.P. (1997) *Grapevine virus A*: Nucleotide sequence, genome organization and relationships in the *Trichovirus* genus. *Archives of Virology*, 142: 417-423.

Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. (2014). 5ème rapport national sur la mise en œuvre de la convention sur la diversité biologique au niveau national. Repéré à <https://www.cbd.int/doc/world/dz/dz-nr-05-fr.pdf>.

Ministère de l'Intérieur, des Collectivités Locales et de l'Aménagement du Territoire. (2017). Le CapDeL : Une tripartite innovante de partenariat pour la démocratie participative et le développement local en Algérie. Algeria : Délégation de l'Union Européenne en Algérie.

Mohammadi, S.A., Prasanna, B.M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants salient statistical tools and considerations. *Crop Sci*, 43,1235-1248.

Mojtahedi, H., Sturhan, D., Akhiani, A., Barooti, S. (1980). *Xiphinema* species in Iranian vineyards. *Nematologia Mediterranea*, 8, 165-170.

Morizot, P. (1993). Recherches sur les campagnes de Solomon en Numidie méridionale (535-589). *Comptes rendus des séances de l'Académie des Inscriptions et Belles-Lettres*, 1, 83-106.

Morizot, P. (1994). Solomon et l'Aurès. *Bulletin de la Société Nationale des Antiquaires de France*, 31, 325-337.

Morizot, P. (1999). A propos des limites méridionales de la Numidie byzantine. *Antiquités africaines*, 35, 151-167.

Morrell, P.L., Buckler, E.S., Ross-Ibarra, J. (2012). Cropgenomics : Advances and applications. *Nature Reviews Genetics*,13 (2),85-96.

Mullins, M.G., Bouquet, A., Williams, L.E. (1992). *Biology of the grapevine. Biology of horticultural crops*. Cambridge: Cambridge University Press.

Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89, 583-590.

Office National des Statistiques. (2014). *Annuaire Statistique de l'Algérie*. (Vol.30). Alger, Algérie : les Ateliers de l'Imprimerie de l'O.N.S.

OIV .(2009). *OIV descriptor list for grape varieties and Vitis species O.I.V (2nded)*. Paris: Édit. International Organisation of Vine and Wine.

OIV. (2019). *Note De Conjoncture Mondiale Situation Du Secteur En 2018*. Paris: Édit. International Organisation of Vine and Wine.

Olien, W.C. (1990). The Muscadine grape: botany, viticulture, history and current industry. *HortScience*, 25,732-739.

Olmo, H.P. (1976). *Grapes, Evolution of crop plants*. London: N.W Simmonds, Longman.

Osman, F., Leutenegger, C., Golino, D., Rowhani, A. (2007). Real-time RT-PCR (Taqman) assays for the detection of Grapevine Leafroll associated viruses 1-5 and 9. *Journal of Virological Methods*, 141, 22-29.

- Osman, F., Rowhani, A. (2006). Application of a spotting sample preparation technique for the detection of pathogens in woody plants by RT-PCR and real-time PCR (TaqMan). *Journal of Virological Methods*, 133, 130-136.
- Peakall, R., Smouse, P.E. (2006). GenAEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
- Peakall, R., Smouse, P.E. (2012). GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, 28, 2537-2539.
- Paetkau, D., Calvert W., Stirling, I., Strobeck, C. (1995). Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology*, 4, 347-354.
- Pauquet, J., Bouquet, A., This, P., Adam-Blondon., A.F. (2001). Establishment of a local map of AFLP markers around the powdery mildew resistant gene *Run1* in grapevine and assessment of their usefulness for marker assisted selection. *Theor Appl Genet*, 103,1201-1210.
- Péros, J.P., Berger, G., Portemont, A, Boursiquot, J.M, Lacombe, T. (2010). Genetic variation and biogeography of the disjunct *vitis* subg. *Vitis* (vitaceae). *Journal of Biogeography*, 38(3), 471-486.
- Petit, R.J, Duminil, J., Fineschi, S., Hampe, A., Salvini, D., Vendramin, G. G. (2005). Comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. *Mol. Ecol*, 14,689-701.
- Phillips .I.R. L. Vasil, K. (2001). *DNA-based markers in plants*. Dordrecht : Springer
- Planchon, J.E. (1887). Monographie des Ampelidées vraies. Dans A de Candol (ed., vol 5). *Monographiae phanerogamarum* (306-356). France : Editions Masson, Paris.
- Pouget, R. (1990). *Histoire de la lutte contre le Phylloxéra de la vigne en France*. Paris, France : INRA, OIV (eds), Editions Quae.
- Précheur-Canonge, T. (1962). *La Vie rurale en Afrique romaine : d'après les mosaïques*. France: Presses Universitaires de France.
- Provan, J., Powell, W., Hollingsworth, P.M. (2001). Chloroplast microsatellites: New tools for studies in plant ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 16 (3), 142-147.
- Raimondi, S., Ruffa, P., De Lorenzis, G., Imazio, S., Fiori, S., Failla, O., Schneider, A. (2015). Detection of grapevine synonyms in Lombardy and Piedmont regions (northern Italy). *Vitis*, 54, 31-36.

Reddy, P.M., Sarla, N., Siddiq, E.A. (2002). Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128(2), 9-17.

Reynier, A. (2007). *Manuel de viticulture*. Paris : Edit, Tec. Doc.

Reynier, A. (2011). *Manuel de viticulture : Guide technique du viticulteur* (11^e édition). Paris : Lavoisier.

Riahi, L., Laucou, V., Le Cunff, L., Zoghlami, N., Boursiquot, J.M., Lacombe, T., El-Heit, K., Mliki, A., This, P. (2010). Genetic structure and differentiation among grapevines (*Vitis vinifera*) accessions from Maghreb region. *Genet. Resour. Crop Evol*, 57, 255-272.

Riahi, L., Laucou, V., Le Cunff, L., Zoghlami, N., Boursiquot, J.M., Lacombe, T., El-Heit, K., Mliki, A.; This, P. (2012). Highly polymorphic nSSR markers: A useful tool to assess origin of North African cultivars and to provide additional proofs of secondary grapevine domestication events. *Sci. Hortic*, 141,53-60.

Riaz, S., Doligez, A., Henry, R. J. and Walker, M. A. (2007). Grape. Dans C. Kole (eds., Vol. 4). *Genome mapping and molecular breeding in plants* (63–101). Berlin: Springer-Verlag.

Ririe, K. M., Rasmussen, R. P., Wittwer, C. T. (1997). Product differentiation by analysis of DNA melting curves during the polymerase chain reaction. *Analytical Biochemistry*, 245, 154-160.

Robinson, J., Harding, J. (2015). *The Oxford Companion to Wine* (Fourth Edition). United kingdom : Oxford University Press.

Royer, C. (1988). Mouvement historiques de la vigne dans le monde. *La Vigne et le Vin* (15-25). Paris : La Manufacture et la Cité des sciences et de l'industrie.

Sahnouni, M., Parés, J.M., Duval, M., Cáceres, I., Zoheir Harichane, Z., Made, J.V.D., Pérez-González, A., Semaw, S. (2018). 1.9 Million – and 2.4 Million-Year-Old Artifacts and Stone Tool – Cut Marked Bones from Ain Boucherit, Algeria. *Science*, 362,1297-1301.

Samaali, B.M., Mougou, A.H, Kallel, S. (2015). Interaction plante-virus-vecteur. Cas du court-noué de la vigne en Tunisie. *Cah Agric*, 24, 292-300.

Sánchez-Escribano, E.M., Martin, J.P., Carreno, J., Cenis, J.L. (1999). Use of sequence-tagged microsatellite site markers for characterizing table grape cultivars. *Genome*, 42, 87-93.

Santana, J.C., Heuertz, M., Arranz, C., Rubio, J.A., Martinez-Zapater, J.M., Hidalgo, E. (2010). Genetic structure, origins, and relationships of grapevine cultivars from the Castilian plateau of Spain. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61 (2), 214-224.

Sarolta, T., Farah, M. (2015). *The Modern World: Civilizations of Africa, Civilizations of Europe, Civilizations of the Americas, Civilizations of the Middle East and Southwest Asia, Civilizations of Asia and the Pacific*. London and New York: Routledge.

Savolainen, V., Fay, M.F., Albach, D.C., Backlund, A., van der Bank, M., Cameron, K.M., Chase, M.W. (2000). Phylogeny of the eudicots: a nearly complete familial analysis based on *rbcL* gene sequences. *Kew Bulletin*, 55, 257-309.

Sefc, K.M., Lefort, F., Grando, M.S., Scott, K., Steinkellner, H., Thomas, M. (2001). Microsatellite markers for grapevine: A state of the art. Dans K.A Roubelakis-Angelakis (eds). *Molecular Biology & Biotechnology of the Grapevine* (433-466). Dordrecht:Kluwer Academic Publishers.

Sefc, K.M., Pejic, I., Maletic, E., Thomas, M.R., Lefort, F. (2009). Microsatellite markers for grapevine: tools for cultivar identification and pedigree reconstruction. Dans K.A Roubelakis-Angelakis (eds). *Grapevine molecular physiology and biotechnology* (565-596). London New York : Springer Dordrecht Heidelberg.

Sefc, K.M., Regner, F., Turetschek, E., Glössl, J., Steinkellner, H. (1999). Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. *Genome*, 42, 367-373.

Sefc, K.M., Regner, F., Glössl, J., Steinkellner, H. (1998). Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. *Vitis*, 37, 15-20.

Seghiri, A. (2006). Mosaique representant "Les Amours pecheurs". *Revue des Sciences Sociales et Humaines*, 14 ,87-96.

Selmi, I., Lehad, A., Pacifico, D., Carimi, F., Mahfoudhi, N. (2017). Prevalence of viruses associated with grapevine rugose wood disease in Tunisia. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 12,149-158.

Selmi, I., Lehad, A., Pacifico, D., Carimi, F., Mahfoudhi, N. (2018). Prevalence and genetic diversity of Grapevine Virus A in Tunisia. *PhytopathologiaMediterranea*, 57 (2), 237-244.

Siret, R., Merle, M.H., Blaise, A., Cabanis, J.C., This, P. (2002). Nouvelles techniques moléculaires : application à la caractérisation des cépages dans les vins. *Bulletin de OIV*, 20-27.

Small, J.K. (1903). *Flora of the southeastern United States*. New York: Puhlised by the author.

Soranzo, N., Provan, J., Powell, W. (1999). An example of microsatellite length variation in the mitochondrial genome of conifers. *Genome*, 42, 158-161.

Spring, J., Reynard, J., Viret, O., Maigre, D., Gugerli, P. (2012). Effets du virus 1 associé à l'enroulement (GLRaV-1) et du virus de la marbrure (GFkV) sur le comportement agronomique et la qualité des vins de Gamay. *Rev. Suisse Vitic.Arboric. Hortic*, 44, 180-188.

Strefeler, M.S., Weeden, N.F., Reisch, B.I. (1992). Inheritance of chloroplast DNA in two full-sib *Vitis* populations. *Vitis*, 31, 183-187.

Tahirin, M. (2015). *Identification des virus impliqués dans la maladie du court noué de la vigne par des critères sérologiques et biochimiques* (Mémoire de Magister). École National Agronomique El-Harrach. Algérie.

Temmar, N. (2007). Le marché des boissons alcoolisées en Algérie. *Mission économique*, 1, 1-5.

Temnykh, S., DeClerck, G., Lukashova, A., Lipovich, L., Cartinhour, S., McCouch, S. (2001). Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): Frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome Res*, 11,1441-1452.

Terral, J.F., Tabard, E., Bouby, L., Ivorra, S., Pastor, T., Figueiral, I., ... This, P. (2010). Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. *Ann. Bot*, 105, 443-455.

This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R., Costantini, L., Maul, E. (2004). Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor Appl Genet*, 109, 1148-1158.

This, P., Lacombe, T., Thomas, M.R. (2006). Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends Genet*, 22, 511-519.

This, P., Martínez-Zapater, J.M., Péros, J.P., Lacombe, T. (2011). Natural variation in *Vitis*. Dans A.F. Adam-Blondon, J.M. Martínez-Zapater, C. Kole (Éds). *Genetics, genomics and breeding of crop plants*. (30-67).USA: Science Publishers: Clemson, SC.

Thomas, H., Beveridge, J., Girard, B., Kopp, T., Dover, J.C.G. (2005). Yield and composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: varietal effects. *J Agri. Food Chem*, 53, 1799-1804.

Thomas, M.R., Cain, P., Scott, N.S. (1994). DNA typing of grapevines: A universal methodology and database for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. *Plant Mol Biol*, 25,939-949.

Thomas, M.R., Matsumoto, S., Cain, P., Scott, N.S. (1993). Repetitive DNA of grapevine: classes present and sequences suitable for cultivar identification. *Theor Appl Genet*, 86,173-180.

Toumi, M. (2006). *Évaluation de l'état nutritionnel du vignoble de table* (Thèse de doctorat). Institut National Agronomique El Harrach. Algérie.

Unwin, T. (1991), *Wine and the Vine: An Historical Geography of Viticulture and the Wine Trade*, London and New York: Routledge.

Velasco, R., Zharkikh, A., Troggio, M., Cartwright, D.A., Cestaro, A., Pruss, D., Viola, R. (2007). A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety. *Plos One* 2 (12).1-18.

Vié, J. C., Hilton-Taylor, C., Stuart, S. N.(2009). *Wildlife in a Changing World – An Analysis of the 2008 IUCN Red List of Threatened Species*. Switzerland : IUCN, Gland.

Walker, M.A., Boursiquot, M. (1992). Ampelographic and isoenzyme data correcting the misnaming of the grape rootstock S04 at the University of California, Davis. *Am. J. Enol. Vitic*, 43, 261-265.

Winkler, A.J., Cook, J.A., Kliewer, W.M., Lider, L.A. (1974). *General Viticulture*. Berkeley: University of California Press.

Yang, H. B., Kang, W.H., Nahm, S.H., Kang, B. C. (2015). Methods for Developing Molecular Markers. *Current Technologies in Plant Molecular Breeding* (15-50). Dordrecht: Springer Netherlands.

Zah-bi, I. C. (2014). *Génomique comparative entre Muscadinia rotundifolia et Vitis vinifera pour faciliter l'identification de gènes de résistance* (Thèse de doctorat). L'université d'Évry-Val d'Essonne, France.

Zhang, L.Y. (2006). *Study of the transferability of microsatellite markers derived from bread wheat (T. aestivum) or rice (O. zsativa) ESTs (EST-SSRs) to their close and wild relatives and evaluation of their potential for the organization of genetic resources* (Thèse de doctorat). Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand. France.

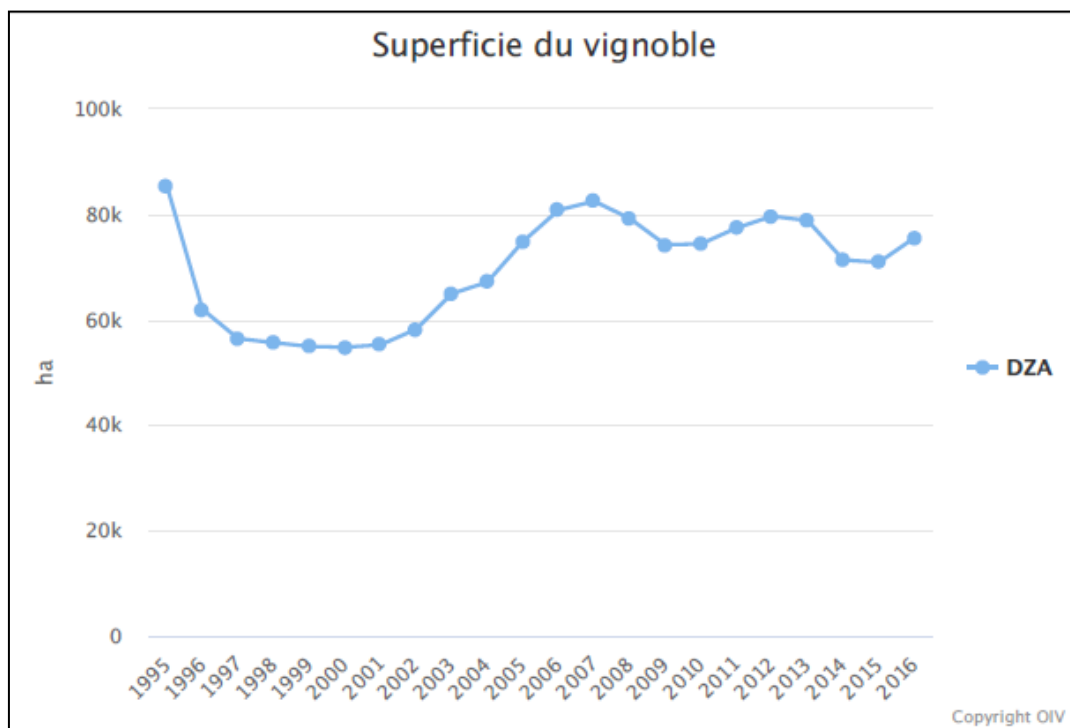
Zinelabidine, L.H., Haddioui, A., Bravo, G., Arroyo-García, R., Martínez Zapater, J.M. (2010). Genetic origins of cultivated and wild grapevines from Morocco. *Am. J. Enol. Vitic*, 61,83-90.

Zinelabidine, L.H., Laiadi, Z., Benmehaia, R., Gago, P., Boso, S., Santiago, J.L., Haddioui, A., Ibáñez, J., Martínez-Zapater, J.M., Martínez M.C. (2014). Comparative ampelographic and genetic analysis of grapevine cultivars from Algeria and Morocco. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20, 324–333.

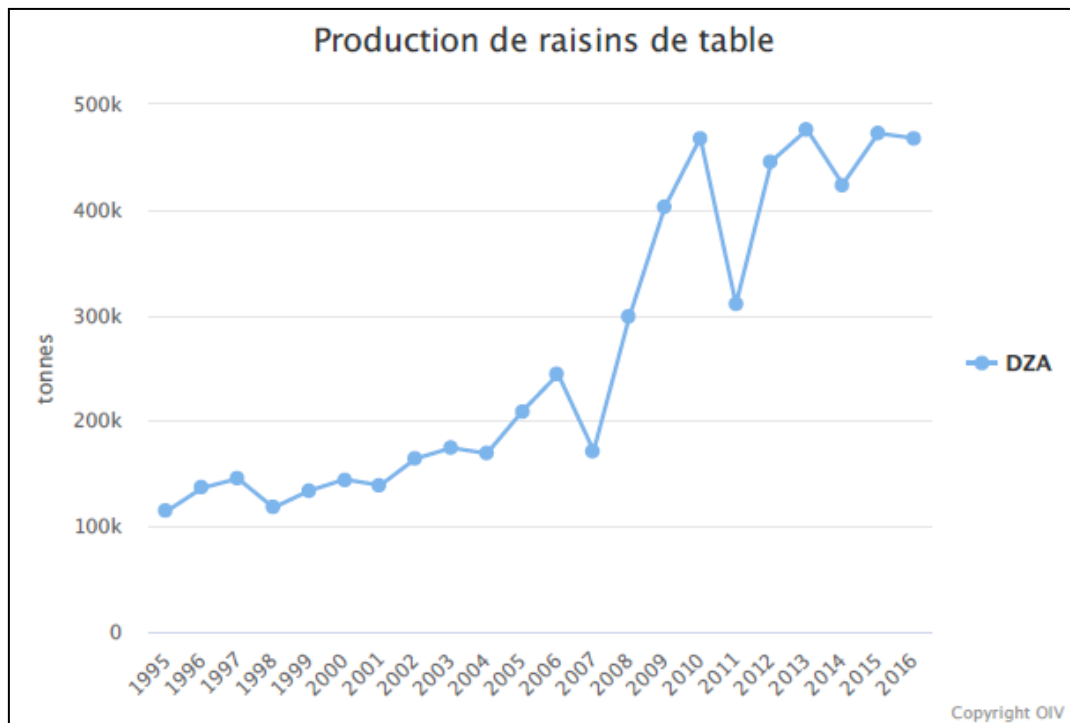
Zohary, D. (1995). Domestication of the grapevine *Vitis vinifera* L. in the Near East. Dans Mc Govern, P.E., Fleming, S.J. and Katz, S.H (eds). *The Origins and Ancient History of Wine*. Amsterdam: Gordon and Breach Publishers.

ANNEXES

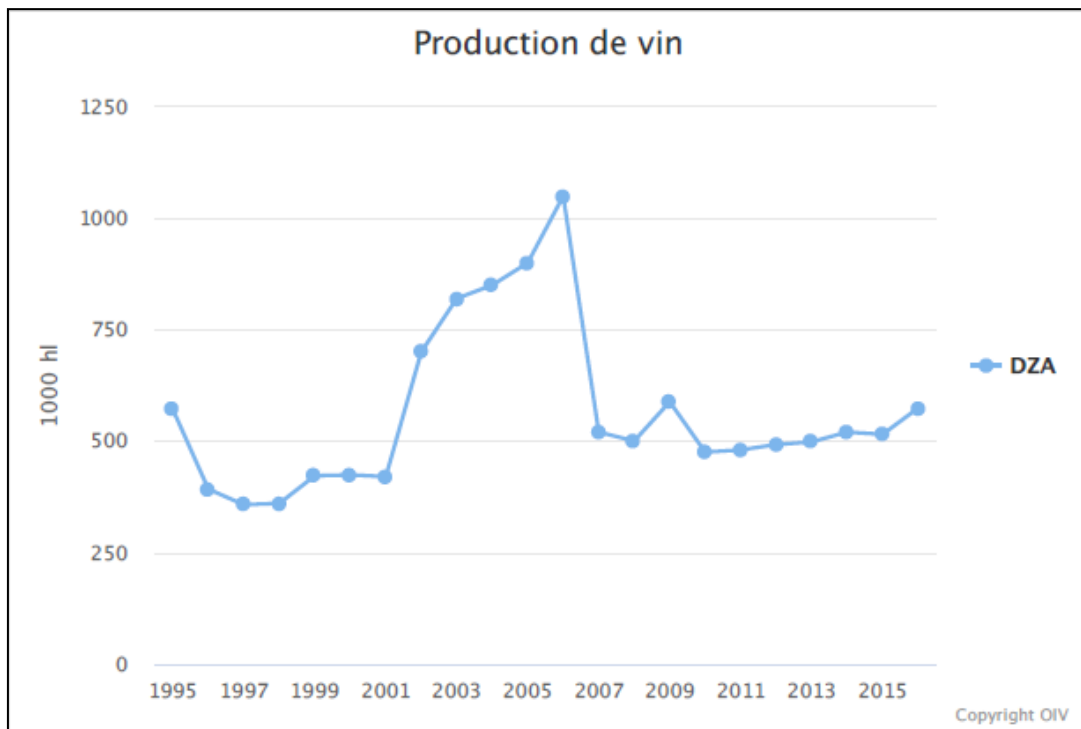
ANNEXE A : Situation économique de la viticulture en Algérie.



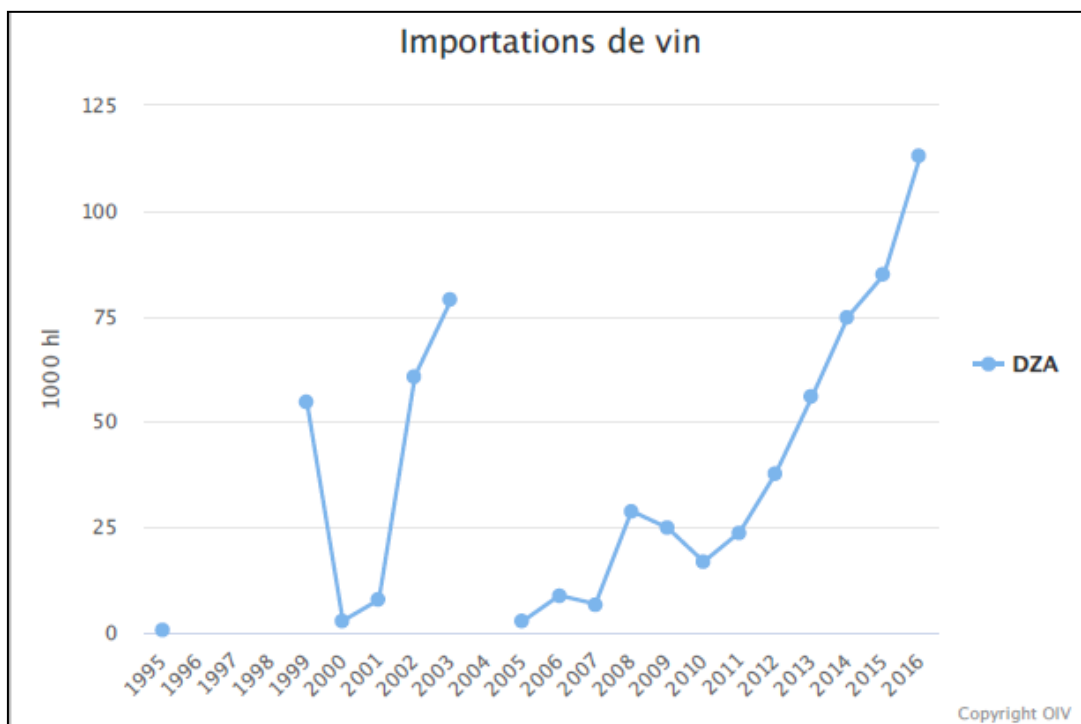
ANNEXE A1 : Superficie du vignoble en Algérie de 2005 à 2016 (source : OIV, 2019).



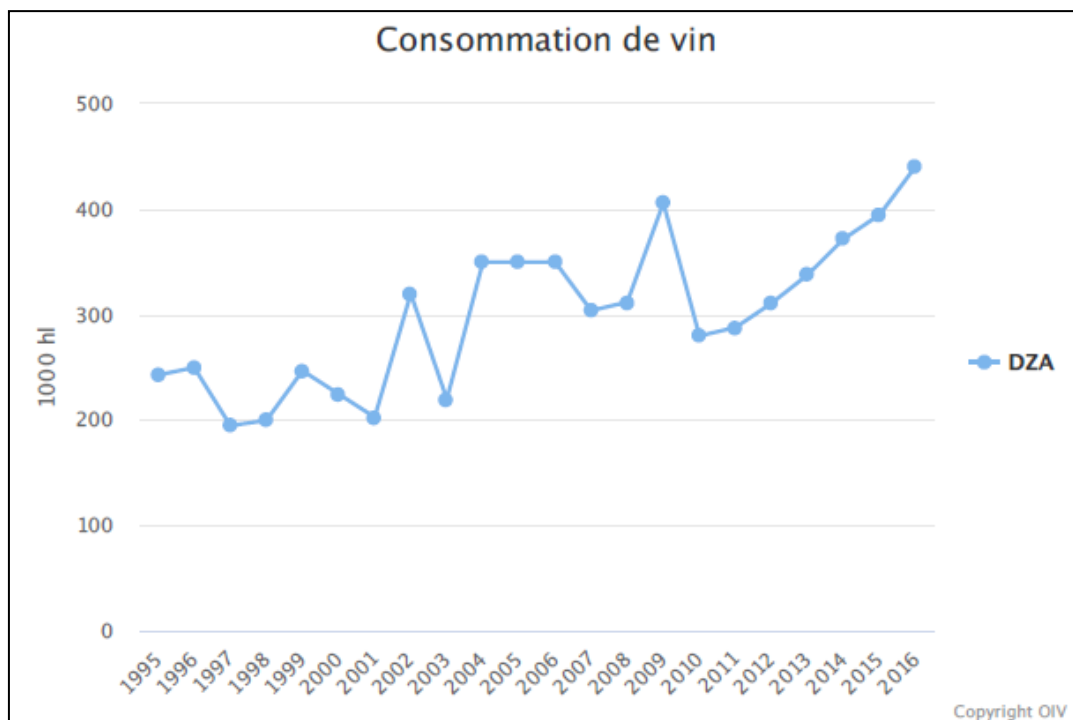
ANNEXE A2 : La production de raisins de table en Algérie de 2005 à 2016 (source : OIV, 2019).



ANNEXE A3 : L'évolution de la production de vin en Algérie de 2005 à 2016 (source : OIV, 2019).



ANNEXE A4: L'importation de vin en Algérie de 2005 à 2016 (source : OIV, 2019).



ANNEXE A5 : La consommation moyenne de vin en Algérie de 2005 à 2016 (source : OIV, 2019).

ANNEXE B : Description de la région d'étude.



ANNEXE D : Description des échantillons.



Échantillon numéro 1



Échantillon numéro 2



Échantillon numéro 3



Échantillon numéro 4



Échantillon numéro 5



Échantillon numéro 6



Échantillon numéro 7



Échantillon numéro 8



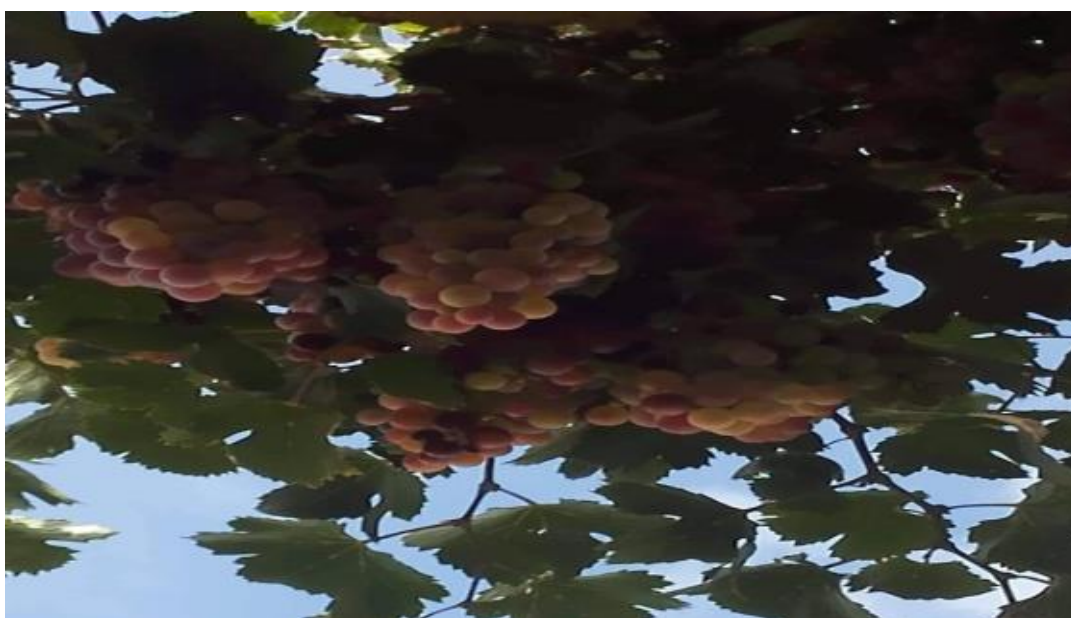
Échantillon numéro 9



Échantillon numéro 10



Échantillon numéro 11



Échantillon numéro 12



Échantillon numéro 13



Échantillon numéro 14



Échantillon numéro 15



Échantillon numéro 16



Échantillon numéro 17



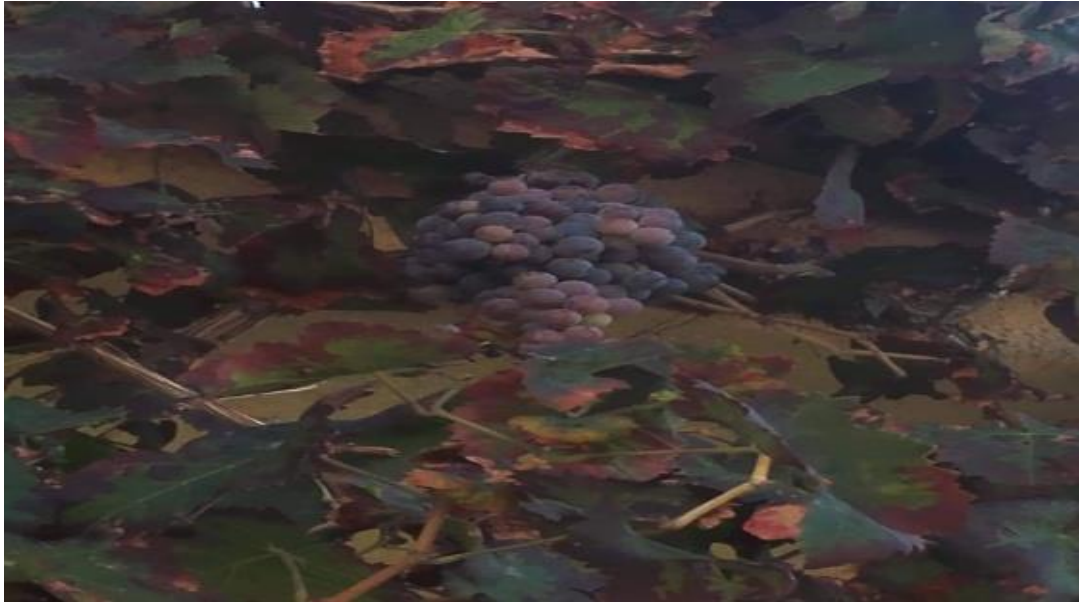
Échantillon numéro 18



Échantillon numéro 19



Échantillon numéro 20



Échantillon numéro 21



Échantillon numéro 22



Échantillon numéro 23



Échantillon numéro 24



Échantillon numéro 25



Échantillon numéro 26



Échantillon numéro 27



Échantillon numéro 28



Échantillon numéro 29



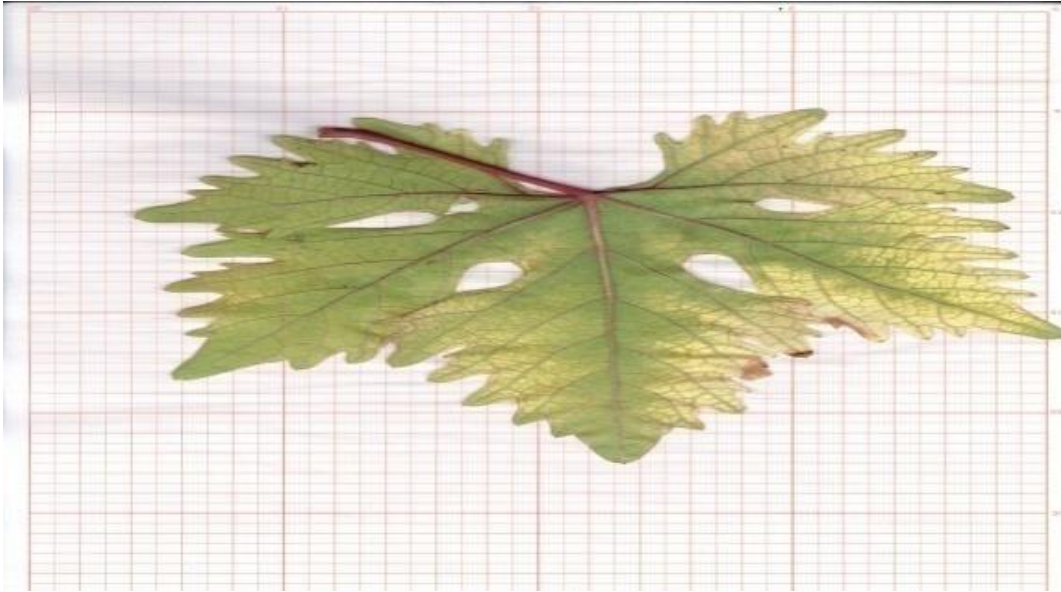
Échantillon numéro 30



Échantillon numéro 31



Échantillon numéro 32



Échantillon numéro 33



Échantillon numéro 34



Échantillon numéro 35

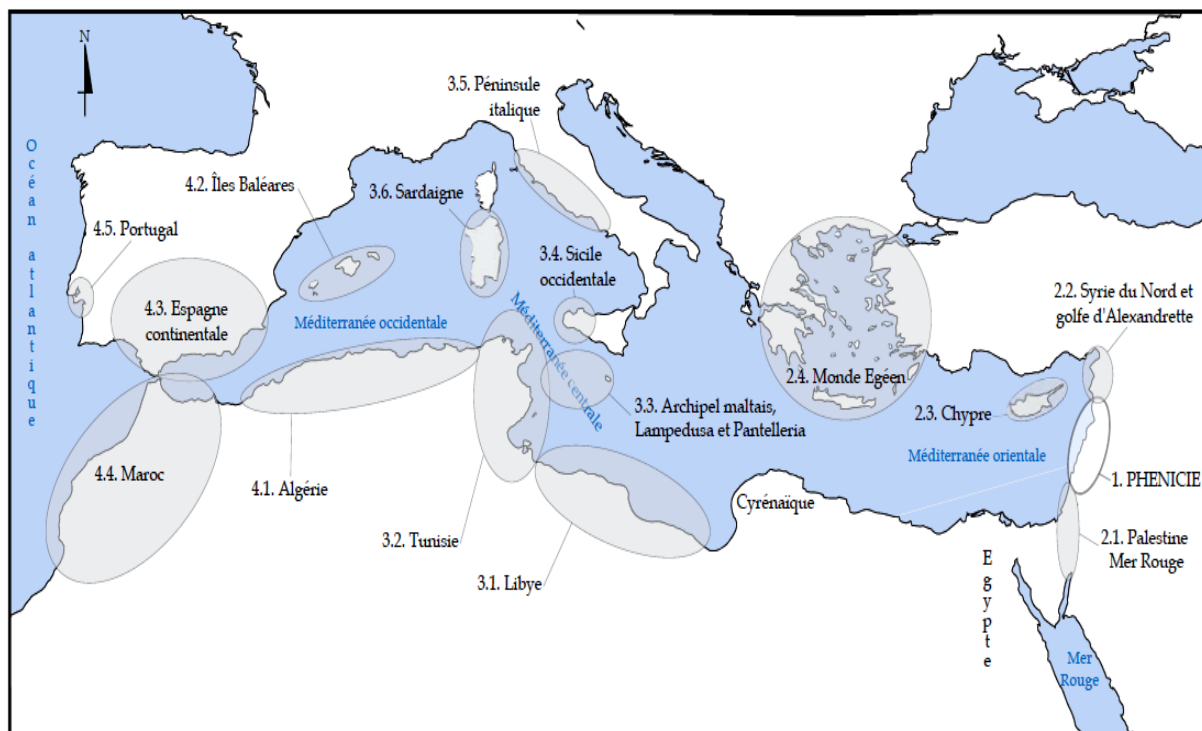


Échantillon numéro 36



Échantillon numéro 37

ANNEXE E: Les différentes zones géographiques d'implantations portuaires phéniciennes et puniques (Carayon, 2008).



Genetic identification, origin and sanitary status of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) grown in Babar, Algeria

M. RAHALI¹⁾, D. MIGLIARO²⁾, Z. LAIADI¹⁾, N. BERTAZZON²⁾, E. ANGELINI²⁾ and M. CRESPIAN²⁾

¹⁾Laboratory of Genetic, Biotechnology and Valorization of Bioresources (LGBVB), University of Biskra, Algeria

²⁾Council for Agricultural Research and Economics, Centre of Viticulture and Enology Research, Conegliano (TV), Italy

Summary

This research focused on present grapevine biodiversity of neglected cultivars grown in 'Babar' region, Northeastern Algeria. The obtained results demonstrate the complex, rich, and even surprising inheritance of grapevine biodiversity in such a small region, with currently residual viticulture practiced only for direct consumption. Babar is one of the oldest inhabited areas in Algeria and part of the Atlas Mountains, considered very favorable for wild and cultivated vine growing since protohistoric times. Thirty-seven vines from the traditional growing area were analyzed using nuclear microsatellite (SSR) markers for cultivar identification and RT-qPCR analysis for virus detection and sanitary status evaluation. As a result, thirteen different genotypes were found, most of them showing a very good sanitary status, then constituting a valuable biological source for clonal selection. A close relatedness was evidenced with some Mediterranean varieties, resulting from previous exchanges of grapevine cultivars in the past. Furthermore, the present study highlighted the existence of three new genotypes, highly probably autochthonous of Babar region, with proposed names 'Babari', 'Babar-Algeria', and 'Amesski-Babar'. They could represent unique Algerian varieties, probably preserved over time. The conservation of these endangered genotypes is highly recommended.

Key words: Algerian grapevine varieties; nuclear microsatellites; synonyms; virus occurrence; Pascale di Cagliari.

Introduction

Vine-growing in Algeria is done since protohistoric times by the indigenous population of North Africa, the "Numidians" or "Berbers"; through the first millennium BC, Phoenicians traded huge quantities of wine and transplanted grapevines across the Mediterranean sea; then Romans used Algeria as a granary for their empire (MELONI and SWINNEN 2014); later, Muslims introduced table grapes from the Middle East in North Africa (BOUQUET *et al.* 2008). The French conquest of Algeria took place between 1830 and 1847; during the French colonization, viticulture in Algeria was oriented exclusively towards European wine production

(ISNARD 1969, LEVADOUX *et al.* 1971), so that, in 1960, Algeria was the 4th largest wine producer and the world's largest exporter, representing a quarter of the volume of international transactions. This situation changed since independence, in 1962, when Algeria lost its market of wine (MELONI and SWINNEN 2014). In 1996 FAO declared that destruction of forests in Africa is the main cause of genetic erosion, and in 2005 the Algerian Ministry of Environment confirmed that the loss of grapevine biodiversity was 95 % (MEDIOUNI 1997, VIÉ *et al.* 2009).

This work contributes to the discovery and conservation of native Algerian grape varieties grown in unchecked places like Babar. Babar belonged to the Numidian kingdom, meeting point between the African and Greco-Eastern influence (CAMPS 1979). Babar is located in the North-East of Algeria (Fig. 1), stays at the foothills of the Aurès mountains, has a semi-arid climate (DROUAI 2018), unique ecosystem features, and plant species unique in Algeria. Aurès has long remained a closed country, difficult to access to foreign forces and therefore relatively preserved throughout the ages. In the mountains of Babar, that are part of Khenchela province, there is no interest in viticulture. In fact, only 11 ha of vineyards exist (Directorate of Agriculture Khenchela, 2018). These vineyards have been inherited by local families over time; nowadays, remnant plants remained near to single houses and are cultivated with primitive methods; these vines are not grafted, their presumed age is between 10 and 30 years and they are used only as table grapes.

The aim of our work was to explore the grapevine varietal diversity still present in the Babar area, to discover their identity and to evaluate their sanitary status, using microsatellite (SSR) markers and virus detection through RT-qPCR analysis.

Material and Methods

Plant material: Thirty-seven vines were sampled, the list is reported in Tab. 1 and the places of sampling in Fig. 1; only 22 of them had a variety name, highlighted in bold in the same table. Some of these names refer to the colour or dimension or shape or use of grapes. As some people inherited the vines without knowing their names, we tried to choose the most commonly used name by the indigenous people or to give the name of the area or the name of the owner to anonymous samples.

Correspondence to: Dr. M. CRESPIAN, CREA - Centro di ricerca Viticoltura ed Enologia, Viale XXVIII Aprile, 26, 31015 Conegliano (Treviso), Italy. E-mail: manna.crespan@crea.gov.it

© The author(s).



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Share-Alike License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).

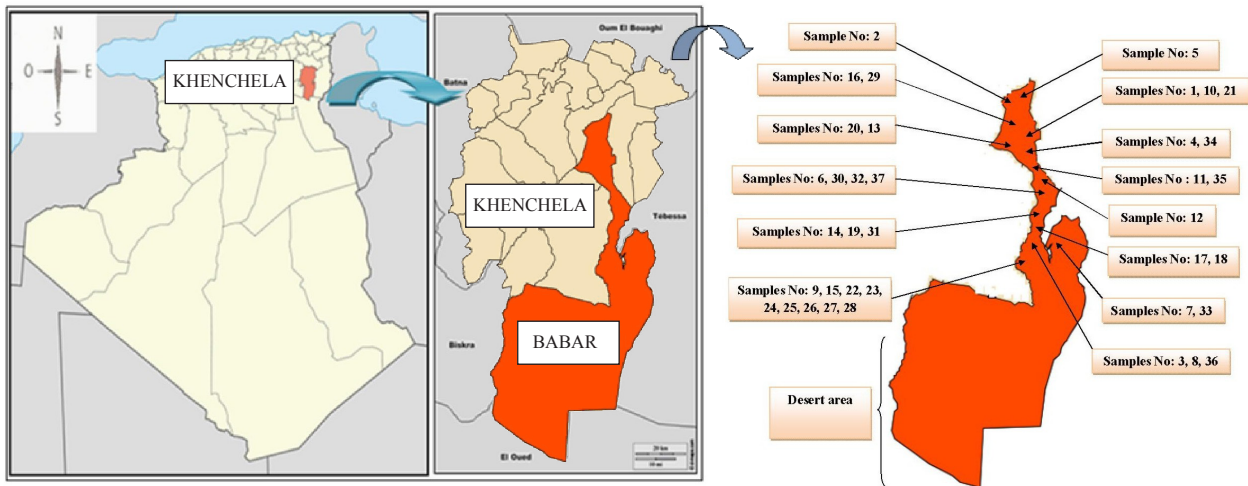


Fig. 1: Area of sampling in Babar, Algeria and samples location map.

Genotyping with SSR markers and statistics: Genomic DNA was extracted from 20 mg leaves or cambium tissue from wood (Qiagen DNeasy Plant mini-kit, Qiagen, Hilden, Germany), following the manufacturer's protocol. Twelve SSR markers were analysed, the nine proposed as common grape markers for international use within the framework of the GrapeGen06 European project (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79) (MAUL *et al.* 2012), plus ISV2 (VMC6e1), ISV4 (VMC6g1) and VM-CNG4b9 (MIGLIARO *et al.* 2013). The SSR analyses were performed following the protocol detailed in MIGLIARO *et al.* (2013), using fluorescent primers and an ABI3130xl genetic analyser (Applied Biosystems, Foster City, CA). SSR allele calling was performed using GeneMapper® software version 3.0, with a bin set produced with reference varieties. Identifications were performed by comparing the obtained SSR profiles with the CREA Viticulture and Enology molecular database, literature information and the *Vitis* International Variety Catalogue (IVVC, <http://www.vivc.de>).

Statistics on SSR data were computed using the following software: Cervus vs 3.0 (KALINOWSKI *et al.* 2007) and GenAlEx 6.51b2 - released June 2018 (PEAKALL and SMOUSE 2006 and 2012); GenAlEx was used also to look for possible parent-offspring relationships and to evaluate population structure using Principal Coordinates Analysis (PCoA), based on standardized covariance of genetic distances calculated for codominant markers.

Sanitary tests: Veins from leaves or cortical scrapings from canes were cut and used for the sanitary molecular analyses. Fresh samples were homogenized in liquid nitrogen, and total RNA was extracted using the RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) with a protocol described by MACKENZIE *et al.* (1997). One μg of RNA was treated with 1 unit of RNase-free DNase I (MBI Fermentas) for 45 min at 37 °C, and the reaction was stopped with 1 μL of 25 mM EDTA. After denaturation at 95 °C for 5 min, RNA was reverse transcribed at 42 °C for 50 min with Moloney Murine Leukemia Virus reverse transcriptase (Invitrogen) and DNA random primers (Roche Diagnostic).

Detection of the grapevine viruses *Arabis mosaic virus* (ArMV), *Grapevine fanleaf virus* (GFLV), *Grapevine leaf-*

roll-associated virus 1, 2 and 3 (GLRaV-1, 2 and 3), *Grapevine virus A and B* (GVA and GVB) and *Grapevine Rupestris stem pitting-associated virus* (GRSPaV) was performed by real-time PCR with primer pairs listed in Tab. 1S. All PCR assays were carried out on a Bio-Rad thermal cycler (model CFX96) in 96-well plates using the 2X Platinum SYBR Green qPCR Supermix-UDG (Invitrogen). PCR reactions were performed at least in duplicate, in a total volume of 10 μL , including 0.3 μM of each primer and 1 μL of cDNA.

Results and Discussion

Genotyping and identifications: The SSR analysis of the 37 vines with 12 SSR markers produced 13 molecular profiles; ten genotypes were identified whereas three represent novelties, being different from all those present until now in the available molecular databases and in the literature (Tab. 1 and Tab. 2).

About the identified genotypes, the most frequent refers to 'Dabouki' and encompasses eight samples; three of them have names based on berry dimension and shape (Tab. 1). According to the IVVC, Armenia should be the 'Dabouki's' country of origin (BASHEER-SALIMIA *et al.* 2014); GALET (2000) refers that this variety is cultivated in the Near Orient, Palestine, Lebanon, Syria, Jordan, and our study shows that it was spread also in Algeria. 'Rassegui blanc' is the second more common variety among the identified plants and was represented by five vines; it is considered a Tunisian variety (GALET 2000). 'Danugue' and 'Pascale di Cagliari' were represented by four plants each. 'Danugue' is considered a French variety, well spread in Algeria (RAIMONDI *et al.* 2015). 'Pascale di Cagliari' is an Italian cultivar, typical of Sardinia, where it is used as table grape and for wine, too. To our knowledge, and according to LOVICU (2017), this is the first report on the presence of this variety outside Italy. LAIADI *et al.* (2009) found that the presumed Algerian cultivar 'Lakhdari' corresponded to the well-known Italian 'Sangiovese', meaning that the wideness of grapevine exchanges among Algeria and other Countries included also Italy. 'Chikki', represented by two vines, showed to be synonym with 'Azanjari' and 'Agogal'; this genotype is

Table 1

Sample name, berry colour, sample name meaning, varietal correspondences, and country of origin of the 37 sampled vines. Berry colour codes: B = black, G/R = red/green, G/p = green/pink, G = green, R = red, P = purple, W = white (green/yellow)

Sample name (and number)	Berry colour	Sample name meaning	Correspondance by SSR	Country of origin
Azizao (10)	G	green, in Amazigh languages	Afus Ali	Lebanon
Arabth (14)	B	arabic, in Amazigh languages	Alphonse Lavallee	France
Nabil Athmani (8)	G	name of the owner	Chanronge (LACOMBE 2013, <i>ITVC</i> 40350)	
Azanjari (13)	P	violet, in Amazigh languages	Chikki (RAIHI 2010, LACOMBE 2013)	Algeria
Agogalth (15)	B	black, in Amazigh languages		
Aneb Takhatelt (7)	G/p	name of a large area in Babar	Clairette	France
Datte (23)		palm date		
Azogar (24)		palm date, in Amazigh language		
Anonymous (25)				
Anonymous (26)				
Amellal (27)	W	white, in Amazigh language	Dabouki	Armenia
Afagoss (28)		watermelon, in Algerian dialect		
Lanab agahlan (30)		good taste, in Amazigh languages		
Sbaa laroussa (33)		the fingers of the bride (in Algerian dialect)		
Anabi (12)	R	related to Anabi city, eastern region of Algeria called Annaba		
Mokrani noir (16)	B	big black, in Amazigh languages	Danugue (RAIMONDI 2015, <i>ITVC</i> 3425)	France
Amanzo (17)	B	big, in Amazigh languages		
Anonymous (36)	G/R			
Bousada (1)		name of the owner		
Aberkan (11)	P	black	Pascale di Cagliari	Italy
Anonymous (20)				
Anonymous (21)				
Khoudja (4)		name of the owner		
Anonymous (29)				
Anonymous (32)	G		Rassegui blanc	Tunisia
Amokran (34)		great, in Amazigh languages		
Talyani (35)		Italian, in Amazigh languages		
Azbib (18)	P	used for zebib (raisins); dried grapes, in Amazigh languages	Taferielt (<i>ITVC</i> 12196)	Morocco
Anonymous (19)	B			
Rahali mohamed cherif (3)		name of the owner		
Amezian (5)	G	small, in Amazigh languages	none, proposed name: Babar-Algeria	Algeria
Aneb Babar (6)		the grapes of Babar, in Amazigh languages		
Azorith (9)		grape tree, in Amazigh languages		
Anonymous (37)				
Lanab amesski (31)	W	aromatic grape, in Amazigh languages	none, possible self of Dabouki; proposed name: Amesski-Babar	Algeria
Babari (2)	P	the grapes of Babar	none, proposed name: Babari	Algeria
Azogagh (22)	R	red, in Amazigh languages		

considered original of Algeria. Another two plants showed the SSR profile of 'Taferielt', a Moroccan variety; however, under the synonym 'Farana noir', this variety is considered as grown mostly in Algeria, and is therefore classified as an Algerian variety (GALET 2000, ZINELABIDINE *et al.* 2014). Finally, single vines showing the SSR profile of 'Afus Ali', 'Alphonse Lavallee', 'Chanronge', and 'Clairette' were found. Almost all these plants clearly represent a French heritage, even if the original variety name was lost. When

the French landed in Algeria, in 1830, they were surprised by the amazing force of the local vines on alluvial soils such as the slopes of the Aurés and by the importance given by the natives to viticulture (LEROUX 1894, LEQUEMENT 1980). LARNAUDE (1948) pointed out that the first vine plantations in the French colony of Algeria dated only from the end of a long period for half a century from 1830 on. 'Clairette', a renowned variety in southern France, was also the most important white variety during the French colonization of

Algeria, and it does not appear to be grown in Europe outside France (KERRIDGE and GACKLE 2005). 'Clairette' is mentioned among the Algerian fruit trees by LAPLAGNE-BARRIS (1848).

About the three novelties (Tab. 1), one genotype was represented by as many as five vines dispersed in different fields (Fig. 1); for it we propose the name 'Babar-Algeria'; our data show that it could be parent-offspring related with 'Chikki', because they share at least one allele per locus for all 12 SSR markers. We hypothesize that sample 31 could be a selfing of 'Dabouki', because its molecular profile shows segregation of 'Dabouki's' alleles and higher homozygosity than 'Dabouki'; we propose 'Amesski-Babar' as "prime name" for this vine, while being aware that it is not possible to ensure that it is a real new variety, spread by vegetative multiplication, but just a selfed progeny plant that became cultivated. For the last genotype, shared by two vines found in distant places (Fig. 1), we propose the name 'Babari'; we do not have any hypothesis on the origin of these plants, however, 'Babari' shows to be very close to 'Danugue', sharing at least one allele per locus, except for VVMD28 marker. These three novelties could represent unique Algerian varieties and highly probably grapevines specific of the Babar area.

Some genotypes corresponding to Mediterranean or international varieties showed to have been renamed, suggesting that the local names represent new synonyms.

Genetic diversity: About the genetic diversity of our genotypes, 84 alleles were found in total, with a mean of 7 alleles per locus; the mean number of effective alleles (N_e) was 4.727; mean observed and expected heterozygosity (H_o and H_e) were very similar being 0.788 and 0.809, respectively; the mean polymorphic information content (PIC) was 0.747 and the cumulative probability of identity (PI) $4.13 \cdot 10E^{-14}$. These data reflect the high genetic diversity of the grapevines found in Babar. PCoA showed 21.72 % diversity along axis 1, and additional 14.80 % along axis 2 (Fig. 2). Interestingly, the Armenian 'Dabouki' and its probable selfing progeny, 'Amesski-Babar', are located at the opposite of the Moroccan 'Taferielt'; 'Chanronge' is very close to 'Clairette', suggesting a French origin.

Sanitary status: The sanitary status of the plants studied was generally very good, probably since the plants are self-rooted (Tab. S2). Indeed, grafting is one of the major routes of virus spreading in grapevine. A limited survey

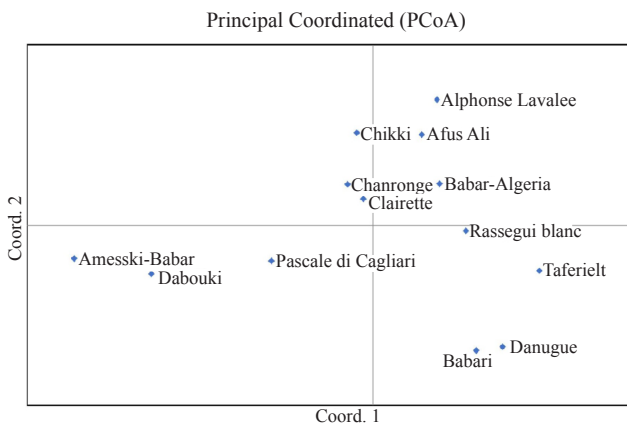


Fig. 2: PCoA graph. Coordinate 1 explains 21.72 % of variation, coordinate 2 14.80 %.

Table 2
Thirteen SSR profiles obtained with 12 microsatellite markers

Variety	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VzZAG62	VzZAG79	ISV2	ISV4	VMCng4b9
Afus Ali	133	226	239	253	185	237	259	185	242	143	177	150
Alphonse Lavallee	133	226	249	243	185	247	253	185	238	141	187	158
Chanronge	133	240	239	243	183	261	257	185	244	137	165	164
Chikki	133	226	233	245	185	263	253	199	236	143	177	170
Clairette	137	226	239	245	179	231	257	185	250	141	165	158
Dabouki	135	234	247	245	179	261	251	187	246	169	175	160
Danugue	137	228	233	245	194	247	263	187	256	137	177	166
Pascale di Cagliari	145	226	243	245	181	261	257	187	246	165	177	166
Rassegui blanc	143	226	239	253	179	251	251	185	250	141	169	172
Amesski-Babar	135	236	247	249	179	261	251	203	246	175	177	160
Taferielt	133	238	249	243	194	237	253	193	256	141	191	176
Babari	145	234	239	245	194	261	253	187	256	143	177	158
Babar-Algeria	133	226	233	243	185	237	257	187	236	141	177	150

carried out in the past had shown a much higher prevalence of all viruses on the only 10 samples analysed (DIGIARO *et al.* 1999). In the present work, twelve out of 37 plants (32.4 %) were free of all searched viruses, among them, interestingly, all vines identified as 'Rassegui blanc' (5 out of 5 plants), although collected in different areas. Indeed, some viruses, *i.e.* the *Nepoviruses* ArMv and GFLV, the *Ampelovirus* GLRaV-1 and the *Vitivirus* GVB, were not present in any of the analysed plants. The absence of *Nepoviruses* is interesting, as nematode vectors of these viruses, such as *Xiphinema* spp., are known to occur in these regions although at low densities (LOUADI and ROBAUX 1992). GLRaV-3, associated with leafroll complex, was identified in 13 % of the collected vines, while GVA, one of the viruses associated to rugose wood complex in the form of Kober stem grooving, was detected in 24 % of total samples. Both viruses, though belonging to different genera, are known to be transmitted by many species of mealybugs. Given the reported occurrence of mealybugs in some of the investigated areas (LOUADI 1992 and ROBAUX 1992), the coinfection of a few samples with the two viruses, and the geographic pattern of the infection, it is possible to postulate a field vector transmission for most of the infected plants. Some surveys on autochthonous varieties in nearby Tunisia showed the presence of GVA in 35 % of the analysed plants (out of 141 in total; SELMI *et al.* 2018), quite similar to the prevalence found in the present work, while GLRaV-3 was much more frequent (MAHFOUDDHI *et al.* 2008). The occurrence of GLRaV-2 in 16 % of the plants is intriguing. Indeed, no vector of the virus has been found so far in the world, and some evidence suggested an American origin of the virus (ANGELINI *et al.* 2017). Thus, it was unexpected to find it out in self-rooted grapevines, especially those of local or African origin, such as 'Taferielt', and two vines of 'Babar-Algeria' out of 5. It could be stimulating to investigate most deeply its occurrence in self-rooted autochthonous germplasm of Algeria and other nearby countries, with the aim of verifying if clustered distribution of the virus exists, which could suggest the existence of local possible vectors. Finally, the most widespread virus was GRSPaV, associated with rugose wood disease complex in the form of Rupestris Stem Pitting, recorded in 62 % of the samples. In details, the virus was randomly distributed among the different vines, and especially in 'Dabouki', where it was ascertained in all the 8 analysed samples, regardless the locality of collection; this could imply a common mother plant of all tested grapevines belonging to this variety. A prevalence of 35 % infected vines was found in autochthonous varieties in Tunisia (SELMI *et al.* 2017), while in Egypt the prevalence is much lower (16.6 %, FATTOUH *et al.* 2014). However, this virus reaches infection level of 100 % in most of the countries, supposed to be mostly linked to the high grafting volume following the phylloxera outbreak in Europe and the fact that no vector of GRSPaV is known (MENG *et al.* 2006).

Conclusions

The set of twelve microsatellite markers employed in this study allowed the detection of thirteen genotypes among 37 vines from Babar region in Northeastern Algeria; ten

of them revealed to be new synonyms of varieties grown around Mediterranean Countries, like 'Dabouki', 'Rassegui blanc', 'Danugue', 'Taferielt', 'Afus Ali', 'Alphonse Lavallee', 'Chanronge', 'Clairette' and 'Chikki'. The Italian cultivar 'Pascale di Cagliari' was firstly detected outside Italy.

Furthermore, three novelties could represent unique Algerian varieties specific of Babar area: 'Babar-Algeria', which could be parent-offspring related with 'Chikki', Amesski-Babar a probable selfing of 'Dabouki', and 'Babari', looking very close to 'Danugue'. The statistical analysis reflects the high genetic diversity of Babar's grapevines.

Furthermore, the viral tests showed the very good sanitary status of Babar's grapevine in general, probably because the plants are self-rooted.

The present results contribute towards a better understanding of the genetic structure and the sanitary status of Babar's grapevines as a neglected natural resource that needs to be protected and maintained in the near future. These vines constitute a valuable biological source for clonal selection, future sustainable breeding and improvement of grapevine. Our results demonstrate the complex, rich, and even surprising inheritance of grapevine biodiversity in such a small region, with currently residual viticulture. Our findings show that Babar region was a big crossroads of exchanges between peoples, which resulted in the grapevine varietal diversity residual richness.

Acknowledgements

This research was supported by the Service for grapevine identification and the Service for grapevine sanitary certification of the Centre of Viticulture and Enology Research, Conegliano (TV), Italy.

References

- ANGELINI, E.; ABOUGHANEM-SABANADZOVIC, N.; DOLJA, V. V.; MENG, B.; 2017: Grapevine leafroll-associated virus 2. In: B. MENG, G. MARTELLI, D. GOLINO, M. FUCHS (Eds): *Grapevine viruses: molecular biology, diagnostics and management*, 141-165. Springer, Cham.
- BASHEER-SALIMIA, R.; LORENZI, S.; BATARSEH, F.; MORENO-SANZ, P.; EMANUELLI, F.; GRANDO, M. S.; 2014: Molecular identification and genetic relationships of Palestinian grapevine cultivars. *Mol. Biotechnol.* **56**, 546-56.
- BOUQUET, A.; TORREGROSA, L.; LOCCO, P.; THOMAS, M. R.; 2008: *Grapes 189-231*. Chittaranjan Kole and Timothy C. Hall-Blackwell Publishing Ltd.
- CAMPS, G.; 1979: Les Numides et la civilisation punique. *Antiquités Afric.* **14**, 43-53.
- DIGIARO, M.; MARTELLI, G. P.; SAVINO, V.; 1999: Phloem limited viruses of the grapevine in the Mediterranean and Near East: a synopsis. *Options Méditerranéennes, Série B. Etudes Recherches* **29**, 83-92.
- DROUAI, H.; BELHAMRA, M.; MIMICHE, F.; 2018: Inventory and distribution of the rodents in Aurès Mountains and Ziban oasis (Northeast of Algeria). *Annales de Biol.* **40**, 47-55.
- FATTOUH, F.; RATTI, C.; EL AHWANY, A. M. D.; ABDEL ALEEM, E.; BABINI, A. R.; RUBIES AUTONELL, C.; 2014: Detection and molecular characterization of Egyptian isolates of grapevine viruses. *Acta Virol.* **58**, 137-145.
- GALET, P.; 2000: *Dictionnaire Encyclopédique des Cépées*. Hachette, Paris.
- ISNARD, H.; 1969: *L'Algérie ou la décolonisation difficile*. *Méditerranée* **3**, 325-340.
- KALINOWSKI, S. T.; TAPER, M. L.; MARSHALL, T. C.; 2007: Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecol.* **16**, 1099-1006.

- KERRIDGE, G.; GACKLE, A.; 2005: Vines for Wines: A Wine Lover's Guide to the Top Wine Grape Varieties. CSIRO Publishing, Australia.
- LAIADI, Z.; BENTCHIKOU, M. M.; BRAVO, G.; CABELLO, F.; MARTÍNEZ-ZAPATER, J. M.; 2009: Molecular identification and genetic relationships of Algerian grapevine cultivars maintained at the germplasm collection of Skikda (Algeria). *Vitis* **48**, 25-32.
- LAPLAGNE-BARRIS, F. L.; 1848: Algeria: *Moniteur algérien*. Journal officiel de la colonie. nr. 532-880 (5 avril 1843-10 fevr. 1848) 2v. The History of the French Conquest of Algeria, France. Commission de colonisation de l'Algérie. Université d'État de l'Ohio, United States.
- LARNAUDE, M.; 1948: La vigne en Algérie (d'après H. ISNARD). *Ann. Géogr.* **308**, 356-359.
- LEQUEMENT, R.; 1980: Le vin africain à l'époque impériale. *Antiquités Afric.* **16**, 185-193.
- LEROUX, S.; 1894: *Traité de la Vigne et le Vin en Algérie et en Tunisie*. Blida, A. Mauguin, Algeria.
- LEVADOUX, L.; BENABDERRABOU, A.; DOUAOURI, B.; 1971: *Ampélographie Algérienne: Cépages de Cuve et de Table Cultivés en Algérie*. SNED.
- LOUADI, K.; ROBAUX, P.; 1992: Etudes des populations d'acariens pulvicoles dans l'est Algérien selon les Gradients climatiques propres a cette région **33**, 177-191.
- LOVICU, G.; 2017: *Akinas*. Uve di Sardegna. Ilisso Edizioni, Nuoro.
- MACKENZIE, D. J.; MCLEAN, M. A.; MUKERJI, S.; GREEN, M.; 1997: Improved RNA extraction from woody plants for the detection of viral pathogens by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Plant Dis.* **81**, 222-226.
- MAHFOUDHI, N.; DIGIARO, M.; DHOUIBI, M. H.; 2008: Incidence and distribution of grapevine leafroll-associated viruses in Tunisian vineyards. *J. Phytopathol.* **156**, 556-558.
- MAUL, E.; SUDHARMA, K. N.; KECKE, S.; MARX, G.; MÜLLER, G.; AUDEGUIN, L.; BOSELLI, M.; BOURSQUOT, J. M.; BUCCHETTI, B.; CABELLO, F.; CARRARO, F.; CRESPIAN, M.; DE ANDRÉS, M. T.; DIAS, J. E.; EKHVAA, J.; GAFORIO, L.; GARDIMAN, M.; GRANDO, M. S.; GYROPOULOS, D.; JANDUROVA, O.; KISS, E.; KONTIC, J.; KOZMA, P.; LACOMBE, T.; LAUCOU, V.; LEGRAND, D.; MAGHRADZE, D.; MARINONI, D.; MALETIC, E.; MOREIRA, F.; MARIO MUÑOZ-ORGANERO, G.; NAKHUTSRISHVILI, G.; PEJIC, I.; PETERLUNGER, E.; PITSOLI, D.; POSPISILOVA, D.; PREINER, D.; RAIMONDI, S.; REGNER, F.; SAVIN, G.; SAVVIDES, S.; SCHNEIDER, A.; SERENO, C.; SIMON, S.; STARAZ, M.; ZULINI, L.; BACILIERI, R.; THIS, P.; 2012: The European *Vitis* Database (www.eu-vitis.de) – a technical innovation through an online uploading and interactive modification system. *Vitis* **51**, 79-85.
- MEDIOUNI, K.; 1997: *Synthèse de la Stratégie Algérienne d'Utilisation Durable de la Diversité Biologique*. Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, Algeria.
- MELONI, G.; SWINNEN, J.; 2014: The rise and fall of the world's largest wine exporter and its institutional legacy. *J. Wine Econom.* **9**, 3-33.
- MENG, B.; REBELO, A. R.; FISHER, H.; 2006: Genetic diversity analysis of Grapevine rupestris stem pitting-associated virus: Revelation of distinct population structures in scion versus rootstock varieties. *J. Gen. Virol.* **87**, 1725-1733.
- MIGLIARO, D.; MORREALE, G.; GARDIMAN, M.; LANDOLFO, S.; CRESPIAN, M.; 2013: Direct multiplex PCR for grapevine genotyping and varietal identification. *Plant Genet. Res.* **11**, 182-185.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E.; 2006: GenAIEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* **6**, 288-295.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E.; 2012: GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* **28**, 2537-2539.
- RAIMONDI, S.; RUFFA, P.; DE LORENZIS, G.; IMAZIO, S.; FIORI, S.; FAILLA, O.; SCHNEIDER, A.; 2015: Detection of grapevine synonyms in Lombardy and Piedmont regions (northern Italy). *Vitis* **54**, 31-36.
- SELMI, I.; PACIFICO, D.; CARIMI, F.; MAHFOUDHI, N.; 2017: Prevalence of viruses associated with grapevine rugose wood disease in Tunisia. *Tunisian J. Plant Protect.* **12**, 149-158.
- SELMI, I.; LEHAD, A.; PACIFICO, D.; CARIMI, F.; MAHFOUDHI, N.; 2018: Prevalence and genetic diversity of Grapevine virus A in Tunisia. *Phytopathol. Mediterr.* **57**, 237-244.
- VIÉ, J. C.; HILTON-TAYLOR, C.; STUART, S. N.; 2009: *Wildlife in a Changing World – An Analysis of the 2008 IUCN Red List of Threatened Species*. IUCN, Gland, Switzerland.
- ZINELABIDINE, L. H.; LAIADI, Z.; BENMEHAIA, R. .; GAGO, P.; BOSO, S.; SANTIAGO, J. L.; HADDIOL, A.; IBÁÑEZ, J.; MARTÍNEZ-ZAPATER, J. M.; MARTÍNEZ, M. C.; 2014: Comparative ampelographic and genetic analysis of grapevine cultivars from Algeria and Morocco. *Aust. J. Grape Wine Res.* **20**, 324-333.

Received May 8, 2019

Accepted August 15, 2019

هذا العمل يمثل الدراسة الأولى من نوعها في الجزائر المعتمدة على الإستراتيجية الأوروبية لحفظ المادة الوراثية للكروم، يركز هذا البحث على تقييم التنوع البيولوجي والحالة الصحية للكروم المهملة في منطقة بابار شمال شرق الجزائر. من أجل ذلك، تم تحليل 37 عينة من الكروم باستخدام 12 علامة SSR نووية، مع تحديد الشحنة الفيروسية بواسطة تقنية RT-qPCR. النتائج المحصل عليها توضح الموروث المعقد والغني والمثير للدهشة للتنوع البيولوجي للعنب في هذه المنطقة الصغيرة جداً، وذلك بفضل تحديد ثلاثة عشر نوعاً مختلفاً؛ تبين أن عشرة منها عبارة عن مرادفات جديدة لأصناف تزرع حول البحر الأبيض المتوسط، نتيجة لتبادل المواد الوراثية عبر التاريخ. كما أن هذه الدراسة هي التقرير الأول عن وجود الصنف الإيطالي «باسكال دي كاغلياري» خارج إيطاليا. هذا العمل يشير إلى وجود ثلاث أصناف جديدة يمكن أن تمثل أصناف جزائرية فريدة من نوعها خاصة بمنطقة بابار. علاوة على ذلك، نتائج هذا البحث بينت أن الحالة الصحية لكروم العنب في بابار جيدة جداً عمومًا، وبذلك تشكل هذه الكروم مصدرًا بيولوجيًا مهمًا للانتقاء النسيبي والتربية المستدامة وتحسين العنب في المستقبل. بالتالي، يُنصح بشدة بالحفاظ على هذه الأنماط الجينية المهددة بالانقراض.

الكلمات المفتاحية: أصناف الكروم الجزائرية، الميكروستيليت النووية، المترادفات، الحالة الفيروسية، باسكال دي كاغلياري، بابار.

RÉSUMÉ

Ce travail constitue la première étude en Algérie menée sur la stratégie Européenne pour la conservation des matériels génétiques de la vigne. Cette recherche porte sur l'évaluation de la biodiversité et le statut sanitaire des vignes négligées à Babar, le Nord-est Algérien. Pour atteindre cet objectif ; 37 échantillons de vignes ont été analysés à l'aide de 12 marqueurs SSR nucléaires, en déterminant la charge virale en utilisant la technique RT-qPCR. Les résultats obtenus montrent l'héritage complexe, riche et même surprenant de la biodiversité viticole dans cette région si petite, grâce à l'identification de treize génotypes différents ; dix d'entre eux se sont révélées d'être de nouveaux synonymes de variétés cultivées autour de la Méditerranée, à la suite d'échanges de matériel génétique à travers l'histoire. En revanche, cette étude est le premier rapport sur l'existence de la variété Italienne "Pascale di Cagliari" en dehors de l'Italie. D'autre part, ce travail suggère l'existence de trois nouvelles variétés peuvent représenter des variétés Algériennes uniques et spécifiques à la région de Babar. De plus, l'état sanitaire de la vigne de Babar étant généralement très bon, donc ces vignes constituent une source biologique précieuse pour la sélection clonale et l'amélioration de la vigne. Alors, la conservation de ces génotypes en voie de disparition est fortement recommandée.

Mots-clés : variétés de vignes Algériennes, microsattellites nucléaires, synonymie, l'état viral, Pascale di Cagliari, Babar.

SUMMARY

This work is the first study in Algeria based on the European strategy for the conservation of vine genetic material. This research focuses on the assessment of biodiversity and the sanitary status of neglected vines in Babar in northeastern Algeria. To reach this goal, 37 vine samples analyzed using 12 nuclear SSR markers, with a viral status study by determining the viral load by the RT-qPCR technique. The obtained results demonstrate the complex, rich, and even surprising inheritance of grapevine biodiversity in this so small region, thanks to the identification of thirteen different genotypes; ten of them revealed to be new synonyms of varieties grown around the Mediterranean, as a result of previous exchanges of genetic material that occurred throughout history. On the other hand this study is the first report on the existence of the Italian variety «Pascale di Cagliari» outside Italy. This work suggests the existence of three new varieties could represent unique Algerian varieties specific to Babar area. Furthermore, the sanitary status of Babar's grapevines was generally very good, so these vines constitute a valuable biological source for clonal selection and improvement of grapevine. So, the conservation of these endangered genotypes is highly recommended.

Key words: Algerian vine varieties, nuclear microsattellites, synonymy, viral status, Pascale di Cagliari, Babar.