

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° d'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 : KHOUNI Samia

THÈME

Contribution à la caractérisation moléculaire et évaluation de la situation sanitaire des cépages et porte greffes cultivés dans la collection germoplasmique de l'ITAF, Skikda.

Soutenue le : 13/11/2023

Devant le jury composé de :

MEHAOUA Mohamed Seghir	Professeur	Président	Université de Biskra
LAIADI Ziane	Professeur	Directeur de la thèse	Université de Biskra
NOURANI Ahmed	Professeur (Directeur de recherche)	Examineur	CRSTRA, Biskra
BENMEDDOUR Tarek	M C A	Examineur	Université de Biskra

Année universitaire : 2022/2023

REMERCIEMENTS

À la fin de ce modeste travail, je voudrais tout d'abord remercier notre Dieu tout puissant pour m'avoir donné la persévérance, la volonté de réussir, et son assistance compatissante pendant toutes mes années d'études.

Ma sincère gratitude au professeur **LAIADI Ziane**, mon directeur de thèse, pour m'avoir encouragé et soutenu durant la réalisation de ce projet. Merci de m'avoir fait confiance et de m'avoir motivé à fournir mes meilleurs efforts. Enfin, je tiens à le remercier d'avoir pris le temps de suivre mon travail.

Je voudrais remercier **MEHAOUA Mohamed Seghir** professeur à l'Université de Biskra, d'avoir eu le privilège de présider le jury et lui présenter mes sincères respects. Je vous remercie également pour vos conseils dans la préparation de ma thèse et pour votre aide.

Je remercie le professeur **NOURANI Ahmed** (Directeur de recherche) à Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Aride (CRSTRA), Biskra pour l'honneur qu'il nous a accordé en acceptant d'examiner ce travail.

Je tiens à exprimer ma gratitude à **BENMEDDOUR Tarek** Maître de conférences classe A à l'Université de Biskra, que je respecte profondément, d'avoir accepté d'examiner ce travail et faire partie du jury de soutenance.

Je voudrais remercier le docteur **Manna CRESPIAN** pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour ses encouragements et son aide.

Je tiens à remercier sincèrement le docteur **Daniele MIGLIARO** pour son aide et j'apprécier le temps et les efforts qu'il a consacrés à la réussite de ce projet, pour sa compréhension, sa patience et ses sages conseils tout au long de mon stage à Conegliano, en Italie.

Je tiens à exprimer ma gratitude le docteur **Elisa ANGELINI**, le docteur **Nadia BERTAZZON**, veuillez accepter mes remerciements pour votre participation j'ai vraiment apprécié notre collaboration.

Je tiens également à remercier Mme **BOUGHAMOUZA Ouidad** pour m'avoir permis de travailler sur la collection de la station ITAFV de Skikda.

Je tiens à remercier du fond du cœur, mon oncle **MORDJAOUI Hocine**, pour m'avoir accompagné tout au long de la période d'échantillonnage malgré le mauvais temps et les difficultés de transport.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à tous les membres de ma famille, que j'aime plus que tout, particulièrement à mes parents, mon mari et mes enfants. Je tiens à vous remercier tous pour votre amour et votre soutien, qui sont essentiels à ma force et à mon équilibre dans la vie.

De nombreuses personnes m'ont aidé directement ou indirectement durant ces années, et je leur en suis très reconnaissant. Je suis très consciente de la chance que j'ai eue de pouvoir travailler sur ce projet avec eux et au sein du de laboratoire de Génétique, Biotechnologie et Valorisation des Bioressources (LGBVB).

ملخص

يمثل توصيف الموارد البيولوجية الوراثية تحديا هاما لبلدنا في سياق تحسين وحفظ تنوعنا البيولوجي الوراثي، تتطلب الإدارة الفعالة للموارد الجينية أولاً تقدير وتحديد التباين الموجود في المجموعات خارج الموقع. تركز دراستنا على تقييم التنوع البيولوجي والحالة الصحية للعنب والاصول المزروعة في مجموعة الأصول الوراثية لسكيكدة، للوصول إلى هذا الهدف، تم تحليل 81 عينة من الكروم باستخدام 12 مؤشراً جزيئياً، مع دراسة الحالة الصحية بواسطة تقنية ELISA تم تحليل البيانات الجينية لتحديد المستوى العالي من التنوع الجيني لـ 43 نمطاً جينياً متميزاً والكشف عن الحالات المرادفة، والتسمية الخاطئة، أو الأصناف المتكررة.

يشير هذا العمل إلى وجود مرادفات جديدة للأصناف المزروعة في الجزائر، لا سيما بين أصناف Lakhdari و Oul b`Ouzgueur ؛ Adadi و Abadi ؛ Ain el Couma و Ain el Bouma ؛ Tadelith و Cherchell Noir ؛ Lekhzine و Ahchichene و Adari des Bibans و Agourane ؛ Amellal و Ahmed draa el Mizen و Amokrane و حل مشكلة المترادفات بين Adadi و Aberkane ، بين Louali و Amokrane. أظهرت معظم المجموعات الأصلية التي تمت زراعتها لفترة طويلة في دائرة مغلقة صغيرة تواتراً عالياً لفيروسات معينة مثل GLRaV-3 و GVA بنسبة 61.9% و 50% على التوالي.

في التبادلات السابقة لأصناف العنب، تم إثبات علاقة وثيقة بين بعض أصناف العنب من المناطق الشرقية والغربية من حوض البحر الأبيض المتوسط. نتيجة لذلك ، يمكن أن تساعد جميع النتائج التي توصلنا إليها في تحسين إدارة المجمع الوراثي للعنب. **الكلمات المفتاحية:** المجمع الوراثي، عنب، المؤشرات الجزيئية، المرادفات، التعريف الجيني، الحالة الصحية، القرابة الوراثية.

RÉSUMÉ

La caractérisation des bioressources génétiques est un défi important pour notre pays dans le contexte de l'amélioration et de la préservation de notre biodiversité génétique, une gestion efficace des ressources génétiques exige d'abord une estimation et une détermination de la variabilité existant dans les collections *ex situ*. Notre étude porte sur l'évaluation de la biodiversité et de l'état sanitaire de la vigne et des porte greffes cultivés dans la collection de germoplasme de Skikda. Pour atteindre cet objectif, 81 échantillons de vigne ont été analysés à l'aide de 12 marqueurs SSR nucléaires, avec une étude du statut sanitaire par technique ELISA. L'analyse des données génétiques a permis de déterminer la haute diversité génétique des 43 géotypes distincts et de mettre en évidence des cas de synonymie, d'erreur de dénomination ou les variétés répétées.

Ce travail suggère l'existence de nouveaux synonymes de variétés cultivées en Algérie, notamment entre les variétés Lakhdari et Oul b'Ouzgueur ; Adadi et Abadi ; Aïn el Couma et Aïn el Bouma ; Tadelith et Cherchell Noir ; Lekhzine, Ahchichene, Adari des Bibans et Agourane ; Amellal, Ahmed draa el Mizen et Amokrane et résoudre le problème des synonymes entre Aberkane et Adadi, entre Louali et Amokrane. La plupart des populations autochtones qui ont été cultivées pendant longtemps dans un petit cercle fermé ont montré une fréquence élevée de certains virus comme GLRaV-3 et GVA avec respectivement 61,9 % et 50 %.

Lors d'échanges antérieurs de cultivars de vigne, une relation étroite a été démontrée entre certaines variétés de raisin des régions orientales et occidentales du bassin Méditerranéen. Par conséquent, tous nos résultats peuvent contribuer à améliorer la gestion des collections de germoplasmes de la vigne.

Mots-clés : collection de germoplasme, vigne, microsatellites nucléaires, synonymie, identification génétique, statut sanitaire, relations génétiques.

ABSTRACT

The characterization of genetic bioresources is an important challenge for our country in the context of improving and preserving our genetic biodiversity, an efficient management of genetic resources demands first estimation and determination of the variability existing in *ex situ* collections. Our study focuses on the assessment of biodiversity and the sanitary status of grapevine and rootstocks grown in the germplasm collection of Skikda. To reach this goal, 81 vine samples were analyzed using 12 nuclear SSR markers, with a sanitary status study by ELISA technique. Genetic data were analyzed to determine the high level of genetic diversity of 43 distinct genotypes and to uncover instances of synonymy, misnaming, or repeated varieties.

This work suggests the existence of new synonyms of varieties grown in Algeria, especially between the Lakhdari and b'Ouzgueur varieties; Adadi and Abadi; Aïn el Couma and Aïn el Bouma; Tadelith and Cherchell Noir; Lekhzine, Ahchichene, Adari des Bibans and Agourane; Amellal, Ahmed draa el Mizen and Amokrane and to solve the problem of synonyms between Aberkane and Adadi, between Louali and Amokrane. Most autochthonous populations that have been cultivated for a long time in a small closed circle have shown a high frequency of certain viruses as GLRaV-3 et GVA with 61.9% and 50%, respectively.

In previous exchanges of grapevine cultivars, a close relationship has been demonstrated between some grape varieties from the eastern and western regions of the Mediterranean basin. As a result, all of our findings can help to improve grapevine germoplasm collection management.

Key words: germplasm collection, grapevine, nuclear microsatellites, synonymy, genetic identification, sanitary status, genetic relationships.

Table des matières

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INTRODUCTION 1

PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. LA BIODIVERSITÉ ET LA RICHESSE DES RESSOURCES GÉNÉTIQUES 4

1.1. La diversité de la vigne 5

1.1.1. Le sous genre *Vitis* 6

1.1.1.1. Les groupes Eurasiens 6

1.1.1.2. Les groupes Asiatiques 6

1.1.1.3. Les groupes Américains (porte greffes) 6

2. HISTOIRE DE LA CULTURE VITICOLE EN ALGÉRIE 6

2.1. Vignoble à l'époque coloniale 7

2.2. Vignoble de l'Algérie indépendante 7

2.3. Vignoble de l'Algérie actuelle 8

3. VALORISATION DES RESSOURCES NATURELLES 8

3.1. Conservation *in situ* 9

3.2. Conservation *ex situ* (gestion des collections germoplasmiques) 9

3.2.1. Établissement de la collection 10

3.2.2. Gestion de la santé des végétaux 14

3.2.2.1. Les ravageurs et les maladies cryptogamiques de la vigne 14

3.2.2.2. Les maladies virales de la vigne 17

3.2.2.3. Tests de diagnostic des maladies de la vigne 21

3.2.3. La caractérisation et évaluation du matériel végétal 22

3.2.4. La documentation 24

3.2.5. La conservation du matériel génétique 25

3.2.6. Utilisation de la collection 25

PARTIE II : RÉALISATION EXPÉRIMENTALE

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES 26

1.1. Présentation de la région d'étude 26

1.2. Matériel végétal 27

1.3. Identification génotypique 29

1.3.1. Extraction de l'ADN	29
1.3.2. La concentration et la qualité de l'ADN extrait	30
1.3.3. Amplification de microsatellites (SSR)	30
1.3.3.1. Préparation des solutions mixtes	31
1.3.3.2. Principe de PCR	34
1.3.4. Analyse des produits de PCR	34
1.3.5. Analyse bioinformatique des résultats	35
1.4. Statistiques des données génotypiques	35
1.4.1. La diversité génétique	36
1.4.2. Analyse phylogénétique	36
1.5. Étude du statut sanitaire	37
1.5.1. Technique DAS-ELISA direct	37
1.5.1.1. Préparation des tampons	38
1.5.1.2. Préparation des échantillons de bois	39
1.5.1.3. Coating : (sensibilisation des microplaques avec un anticorps spécifique) adsorption des anticorps spécifiques	39
1.5.1.4. Dépôt de l'antigène : incubation avec l'extrait de plante	40
1.5.1.5. Conjugué : incubation avec des anticorps couplés à une enzyme (conjugate)	40
1.5.1.6. Substrat : la réaction colorimétrique indique les échantillons positifs	40
1.5.1.7. Lecture et interprétation des résultats	40
2. RESULTATS ET DISCUSSION	
2.1. Évaluation et vérification de la pureté de l'ADN extrait	42
2.2. Analyse d'identification (génotypage)	42
2.2.1. La validation des synonymes décrits dans les références précédentes	49
2.2.2. Les synonymes supplémentaires détectés	50
2.2.3. Les anciens synonymes non prouvés	51
2.2.4 Les profils génétiques similaires à ceux déjà enregistrés sous leurs noms particuliers	52
2.2.5. Certaines acquisitions incorrectes dans la collection et nécessitent une correction	52
2.2.6. Les erreurs détectées au niveau des porte greffes	54
2.3. Résultats statistiques	54

2.3.1 Évaluation de la diversité génétique	54
2.3.1.1. Le nombre effectif d'allèles	55
2.3.1.2. La probabilité d'identité (PI)	55
2.3.1.3. La probabilité d'identité (PI) pour Combinaisons croissantes	56
2.3.1.4. Les fréquences alléliques (AF)	57
2.3.1.5. L'hétérozygotie attendue et l'hétérozygotie observée	66
2.3.1.6. La fréquence de l'allèle nul F	66
2.3.1.7. L'indice d'information de Shannon (I)	67
2.3.2. Phylogénétiques et relations entre les cultivars Méditerranéens	67
2.4. Analyse de statut sanitaire	71
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	76
BIBLIOGRAPHIE	79
ANNEXES	

Liste des tableaux

Tableau 1. Pathogènes, transmission, répartition géographique et vecteurs des maladies de la vigne (OEPP/EPPO, 1992).....	13
Tableau 2. Liste des accessions analysées, y compris le nom, la couleur des baies.....	27
Tableau 3. Noms, séquences d'amorces et références pour les microsatellites utilisés.	31
Tableau 4. Composition de cocktail des amorces.....	32
Tableau 5. La concentration de l'étiquetage des quelques amorces (Migliaro et <i>al.</i> , 2013)...	33
Tableau 6. Composition de la solution mixte pour la PCR.....	34
Tableau 7. Tous les sites web des applications de génétique des populations utilisées dans cette recherche	37
Tableau 8. Tampon de test ELISA.....	38
Tableau 9. Liste de 43 profils génétiques uniques obtenus à 12 loci SSR	45
Tableau 10. Une liste de 81 accessions organisée en fonction du génotype. Origine, couleur des baies, nom principal (Correspondance par SSR), numéro d'identification (profil SSR), ainsi que la Vitis International Variety Code catalogue	47
Tableau 11. Paramètres de diversité génétique en basant sur 12 marqueurs SSR pour les 43 génotypes obtenus.	55
Tableau 12. Les valeurs de la probabilité d'identité (PI) pour Combinaisons croissantes.....	56
Tableau 13. Taille des allèles (AS, pb) et fréquence des allèles (AF) pour les 12 nSSR marqueurs.....	65
Tableau 14. Statut sanitaire des échantillons évalué à l'aide de la technique ELISA pour neuf virus.	71

Liste des figures

Figure 1. Les étapes du protocole de certification sanitaire de la vigne (OEPP/EPPO, 2008).	12
Figure 2. Les symptômes du phylloxera (Koegel et <i>al.</i> , 2013).....	15
Figure 3. Les symptômes de l'oïdium de la vigne (Delbac, 2020).....	15
Figure 4. Les symptômes de mildiou de la vigne sur feuilles et grappes (Chen, 2019).....	16
Figure 5. Les symptômes de la maladie du court-noué de la vigne (Ozturk et <i>al.</i> , 2017).....	18
Figure 6. Les symptômes de l'enroulement de la vigne (Martinson, 2008).....	19
Figure 7. Symptômes d'éclaircissement des veines associés au virus de marbrure de la vigne (GFKV) (Constable et Rodoni, 2011).....	20
Figure 8. Les symptômes du bois rugueux (Maliogka et <i>al.</i> , 2014).....	20
Figure 9. Localisation géographique de l'institut technique d'arboriculture fruitière et de la vigne (ITAFV) d'Emdjez Edchich (wilaya de Skikda) (Image satellite, Google Earth, 2023).	26
Figure 10. Exemple de profil moléculaire (électrophorogrammes) par PCR multiplex la méthodologie proposée (Migliaro et <i>al.</i> , 2013).....	43
Figure 11. La probabilité d'identité de 12 marqueurs SSR pour 43 génotypes.....	56
Figure 12. La probabilité d'identité (PI) pour Combinaisons croissantes (Probability of Identity (PI) for Increasing Combinations).	57
Figure 13. Fréquence allélique pour VVS2.....	58
Figure 14. Fréquence allélique pour VVMD5.....	58
Figure 15. Fréquence allélique pour VVMD7.....	59
Figure 16. Fréquence allélique pour VVMD25.....	59
Figure 17. Fréquence allélique pour VVMD27.....	60
Figure 18. Fréquence allélique pour VVMD28.....	60
Figure 19. Fréquence allélique pour VVMD32.....	61
Figure 20. Fréquence allélique pour VrZAG62	61
Figure 21. Fréquence allélique pour VrZAG79	62

Figure 22. Fréquence allélique pour VMC6E1	62
Figure 23. Fréquence allélique pour VMC6G1	63
Figure 24. Fréquence allélique pour VMCNG4b9	63
Figure 25. Dendrogramme illustrant les similarités génétiques de 35 géotypes utilisant 12 marqueurs SSR	68
Figure 26. Un diagramme circulaire présentant en pourcentages le statut sanitaire de la vigne cultivée à la collection.	73
Figure 27. Le nombre d'accessions infectées par le virus de la vigne	74

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- **AND** : Acide Désoxy Ribonucléique
- **AF** : Allele Frequency (fréquences alléliques)
- **AS** : Allele Size (taille des allèles)
- **J.-C** : Avant Jésus-Christ
- **°C** : Degré Celsius
- **dNTP** : Désoxyribonucléotide Triphosphate
- **ELISA** : Enzyme-Linked Immuno Assay
- **FAO** : Food and Agriculture Organization
- **g** : Gramme
- **INRA** : Institut national de la recherche agronomique
- **ITAFV** : Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne
- **M** : Mole
- **M1** : Multiplex 1
- **M 2** : Multiplex 2
- **mg** : Milligramme.
- **min** : Minute
- **ml** : Millilitre
- **µl** : Microlitre
- **mM** : Millimolaire
- **mRT-PCR**: Multiples Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
- **ng** : Nanogramme
- **NJ** : Neighbor-Joining alghorithm
- **OEPP/EPPO** : European and Mediterranean Plant Protection Organization
- **pb** : Paire de bases
- **PCR** : Polymerase Chain Reaction / Réaction de polymérisation en chaîne

- **pH** : Potentiel Hydrogène
- **RNase** : Ribonucléase
- **rpm** : Rotation Par minute
- **RW** : Rugose Wood
- **ssp** : sous-espèce
- **SSR** : Short sequence repeate / petite séquence répétée ou microsatellite
- **T** : Température
- **Taq** : Thermus aquaticus
- **U/ml** : Unité d'activité enzymatique / microlitre
- **VIVC** : Catalogue International des Variétés *Vitis*

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La viticulture, est une activité qui peut avoir un impact significatif sur la biodiversité. En effet, la gestion des vignobles peut avoir des conséquences sur l'environnement local, en particulier sur la flore et la faune. Cependant, la biodiversité est menacée par l'activité humaine, telle que la déforestation, la pollution, la surpêche, l'urbanisation et le changement climatique. La perte de la biodiversité a des conséquences graves pour les écosystèmes et les êtres humains, notamment la diminution de la productivité agricole, la perte des cultures et des médicaments précieux, ainsi que la perturbation des cycles écologiques. Il est donc important de protéger et de restaurer la biodiversité à travers des pratiques de conservation et de gestion durables des ressources naturelles. Cela peut inclure la création des zones protégées pour la faune et la flore, la restauration des écosystèmes dégradés, la réduction de la pollution et la gestion responsable des ressources naturelles. La protection de la biodiversité est essentielle pour garantir un avenir durable pour l'humanité et pour préserver la richesse et la beauté de la vie sur terre.

Le patrimoine végétal en Algérie continue de se dégrader de manière irréversible ; on constate une perte d'environ 80 produits agricoles, dont des fruits. Bien que la culture de la vigne se soit adaptée aux caractéristiques géographiques de notre pays, les dernières années ont vu une augmentation des régions occupées et des productions associées. Cependant, au niveau national, la viticulture est exclusivement représentée par les vignes allochtones, qui continuent à dominer le paysage viticole au détriment des vignes autochtones, dont la région d'origine est l'Algérie, où elles s'épanouissent dans ses conditions pédoclimatiques (Bounab, 2020, INRA, 2006).

Pour limiter l'érosion génétique des plantes, des collections de germoplasme ont été créées dans le monde entier afin de préserver l'existence d'une diversité autochtone qui pourrait ensuite être disponible pour des activités scientifiques et économiques. La coopération internationale pour la protection et la réévaluation des ressources génétiques est nécessaire pour les raisons suivantes : (a) tous les pays n'ont pas une capacité suffisante et assez grande pour maintenir toutes les ressources génétiques qui peuvent être collectées. (b) les coopérations régionales et internationales sont nécessaires pour assurer la conservation et l'utilisation des ressources génétiques et le maintien de ce matériel dans des conditions optimales pour l'expression de ses caractéristiques biochimiques, morphologiques, phénologiques, physiologiques et anatomiques des cultures ou de leurs organes). (c) assurer la connaissance internationale des ressources génétiques (Popescu et al., 2017).

En raison de l'importante érosion du patrimoine génétique, des maladies qui provoquent la dégénérescence de la vigne et de l'absence des stratégies de préservation de ces ressources

naturelles, la viticulture est donc confrontée à un certain nombre de risques. En 1996, la FAO a déclaré que la principale cause d'érosion génétique en Afrique était la destruction des forêts, en 2005, le ministère Algérien de l'environnement a signalé que 95 % de la biodiversité des vignes avait été perdue (Mediouni, 1997; Vié et *al.*, 2009).

Les cultivars couvraient autrefois un immense territoire, étant représentés par un grand nombre de variétés et un haut niveau de variabilité variétale (Venturini, 2003). La conservation s'est considérablement réduite et ne se trouve plus qu'au niveau des instituts techniques de l'arboriculture fruitière et de la vigne (ITAFV) ou dans des lieux difficiles d'accès et en haute altitude, distribués seulement dans quelques wilayas du pays, c'est une situation terrible et malheureuse. Les stations expérimentales de l'ITAFV cultivent un très petit nombre de cépages autochtones dans le seul but de les protéger d'une extinction et d'une érosion génétique implacables. De plus, les viticulteurs Algériens, ignorant tout de ce patrimoine botanique local, en abusent lourdement.

Les collections nécessitent une gestion complexe lorsque plusieurs accessions sont incluses, la redondance doit être minimisée, une véritable détermination variétale doit être utilisée et l'incorporation de nouveaux échantillons doit être optimisée (Hârta et Pamfil, 2013 ; De Oliveira et *al.*, 2020). Par conséquent, il est crucial d'identifier et de rectifier les erreurs qui ont pu se produire au moment du transfert, par exemple, des confusions dans la récolte du bois, la greffe, l'installation, etc. (El Oualkadi et *al.*, 2009).

Avec l'expansion de la viticulture, le nombre des variétés de vignes autorisées augmente également rapidement. Par conséquent, de nombreuses variétés de vigne non apparentées ont des noms identiques (homologues), ou des cultivars ont des noms différents mais partagent le même génotype (synonymes) (Sefc et *al.*, 2000; Crespan et Milani, 2001; Schneider et *al.*, 2001; Regner et *al.*, 2006; Ferreira et *al.*, 2015; Goryslavets et *al.*, 2015; Nebish et *al.*, 2017; Donget *al.*, 2018). La méthode traditionnelle d'évaluation sur le terrain est une approche majeure pour déterminer la variété des raisins. Cependant, en raison des variables environnementales, elle prend beaucoup de temps et de travail, est sujette à des erreurs et pose des défis majeurs et peut changer les caractéristiques de l'attribut mesuré (Sripholtaen et *al.*, 2016). Les marqueurs microsatellites, sont désormais (SSR), sont aujourd'hui couramment utilisés et se sont révélés être des outils efficaces dans le domaine de l'agriculture, jouant un rôle significatif dans l'élaboration de cartes génétiques, la description de la génétique individuelle et l'évaluation des gènes, en raison de leur reproductibilité et leur polymorphisme (Eyduran et *al.*, 2016 ; Bozhuyuk et *al.*, 2020 ; Bolaric et *al.*, 2021 ; Hasanbegovic et *al.*, 2021). L'analyse des données de séquençage de l'ADN et l'utilisation de la PCR ont généré des résultats significatifs, démontrant ainsi l'efficacité de ces techniques pour caractériser, évaluer le germoplasme et les

ressources génétiques, ainsi que pour identifier les marqueurs à intégrer dans les programmes de sélection (Ibañez et al., 2003; Martin et al., 2003; This et al., 2004; Costantini et al., 2005; Benjak et al., 2005; Santana et al., 2008; Laiadiet al., 2009; Dokupilová et al., 2013; Zinelabidine et al., 2014; Maletić et al., 2015), mais il est également crucial d'examiner l'état sanitaire des plantes pour assurer une culture optimale.

La menace croissante des maladies de la vigne, en particulier pour les variétés autochtones en voie d'extinction, souligne l'urgence d'agir. Les obstacles liés aux erreurs de dénomination et à la confusion variétale compliquent la préservation de ces trésors génétiques. Il est essentiel de comprendre la gravité de ces problèmes pour assurer un avenir durable à la viticulture algérienne. Le développement de stratégies de préservation rigoureuses est donc un objectif prioritaire, ouvrant une nouvelle phase dans laquelle la sauvegarde de la diversité végétale devient un facteur essentiel de la durabilité de l'industrie de la vigne en Algérie.

Pour atteindre l'objectif de préservation des ressources naturelles, et pour approfondir l'étude du patrimoine génétique et de l'état sanitaire de la vigne Algérienne à des fins de gestion et d'amélioration du germoplasme, nous tenterons à travers cette étude de mettre en évidence :

(i) L'évaluation du matériel génétique de la vigne Algérienne, y compris les variétés autochtones, les cultivars de référence internationaux (cultivars introduits), les porte greffes et les clones en utilisant un ensemble de 12 marqueurs SSR à répétition de séquence simple qui comprenait neuf marqueurs SSR recommandés pour une utilisation commune par le projet Européen grapeGen 06.

(ii) Détection des synonymies, homonymies et erreurs de dénomination ; les résultats ont été comparés aux recherches antérieures et aux profils de marqueurs SSR et par des données ampélographiques publiés et différents résultats ont été obtenus pour résoudre le problème de leur existence, qui est l'un des problèmes majeurs de la viticulture dans le monde.

(iii) Evaluation du niveau de diversité génétique de la collection germoplasmique de l'ITAFV à Skikda.

(iv) Évaluation de leur statut sanitaire en utilisant la détection de virus par analyse ELISA pour conserver les variétés locales négligées et menacées d'extinction. Nous discutons ensuite de la possibilité d'utiliser ces informations pour la gestion et la préservation du germoplasme.

(v) Mettre en évidence les relations génétiques et historiques entre les cultivars Méditerranéens. Cette étude a duré deux ans, pendant lesquels nous avons suivi les deux cycles annuels de la vigne afin d'évaluer la variabilité génétique et l'état sanitaire des différentes variétés.

PARTIE 1.
SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. LA BIODIVERSITE ET LA RICHESSE DES RESSOURCES GENETIQUES

La biodiversité est le terme utilisé pour décrire la diversité de la vie sur terre, qui englobe de nombreuses espèces d'organismes, d'écosystèmes et des processus écologiques. Elle est essentielle pour préserver l'équilibre de l'environnement et assurer la viabilité de notre monde.

La diversité des gènes et des espèces que l'on trouve dans les populations des plantes, d'animaux et des microbes constitue la richesse des ressources génétiques. Comme elles offrent des éléments essentiels pour la création de nouvelles variétés de plantes et de nouveaux médicaments, ces ressources sont cruciales pour l'agriculture, la médecine, la recherche scientifique et d'autres domaines.

Malheureusement, les activités humaines, telles que l'utilisation intensive des terres, mettent en péril la diversité des ressources génétiques. Il est essentiel de prendre des mesures pour sauver les habitats naturels, réduire la pollution et contrôler l'utilisation des ressources génétiques afin de conserver ces trésors inestimables. L'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) prévoit que d'ici 2020, un quart de la variété biologique mondiale aura disparu (Arnaud et *al.*, 1994).

L'internalisation des coûts de la biodiversité demande des compétences, même si l'ensemble du système de production semble être responsable de la perte de la diversité biologique, il est encore impossible de déterminer la part de responsabilité de chacun, cela est particulièrement vrai lorsque les humains ne disposent pas des informations et des ressources nécessaires pour évaluer la variété biologique. Lorsque des ressources sont disponibles, il est nécessaire de compenser l'absence d'internalisation des coûts en gérant l'accès à ces ressources tout en les préservant, la mise en place de systèmes de financement et de protection étant un enjeu majeur (Arnaud et *al.*, 1994).

Dans de nombreux pays, du moins en termes de richesse, de revenu et d'emploi, l'agriculture reste le soutien de l'économie. Même les nations qui ont fait d'énormes efforts pour diminuer leur dépendance à l'agriculture en tant qu'industrie primaire continuent à donner la priorité à ce secteur crucial.

L'agriculture a traditionnellement occupé une position importante dans l'économie Algérienne. Notre pays est réputé pour la diversité de ses systèmes agro-écologiques et de ses paysages, en particulier dans les montagnes et les oasis, les plaines côtières, les hautes plaines, les hauts plateaux.

Les populations locales ont développé la capacité de comprendre et de s'adapter à leur environnement (ressources génétiques animales et végétales, climat et terre) dans chaque agrosystème pendant de nombreuses années (Birebent, 2007 ; Caïd, 2021).

1.1. La diversité de la vigne

La vigne est l'une des plantes les plus cultivées dans le monde et revêt une importance économique énorme (Pertot et *al.*, 2017 ; Gramaje et *al.*, 2018). L'organisation internationale de la vigne et du vin (OIV) estime qu'il y a environ 7,4 millions d'hectares cultivés de vignobles dans le monde, qui produisent 77,8 millions de tonnes de vigne par an (<http://www.oiv.int>, consulté le 15 August 2021).

Aujourd'hui, 99 % du vin et des raisins de table dans le monde sont produits par des cultivars de la vigne (*Vitis vinifera* L.), qui compterait 10 000 variétés différentes (Burger et *al.*, 2009 ; Olmo, 1976).

Les produits du raisin peuvent également être utilisés pour fabriquer de l'éthanol, du vinaigre et de l'huile de pépins de raisin.

La vigne est une plante angiosperme de la famille des *Vitaceae*. 700 espèces de cette famille, pour la plupart des lianes vivaces ou herbacées, sont regroupées en 16 genres. *Muscadinia* et *Euvitis* sont les deux sous-genres du genre *Vitis* (Planchon, 1887), Leurs différences sont basées sur des traits cytologiques, anatomiques et morphologiques (Mullins et *al.*, 1992). Seuls ces 2 sous-genres ont des espèces qui sont domestiquées (This et *al.*, 2006).

Le sous-genre *Euvitis*, qui signifie « vraies vignes », comprend 36 espèces ($2n= 38$), réparties dans les régions tropicales de l'hémisphère Nord, subtropicales et tempérées. Contrairement à d'autres plantes, le génome nucléaire de la vigne est diploïde et comporte 19 paires de petits chromosomes (Morrell et *al.*, 2012).

Le génome de la vigne est extrêmement hétérogène le long de chaque chromosome, la plus faible densité de gènes par centromère se trouvant entre les chromosomes. Avec seulement 30 434 gènes codant pour des protéines et 239 634 microsatellites, 96 % du génome de *Vitis* est non codant (Celestino Pérez et *al.*, 2013 ; Di Gaspero et Foria, 2015 ; Jaillon et *al.*, 2007 ; Lodhi et *al.*, 1995).

1.1.1. Le sous genre *Vitis* (*Euvitis*)

1.1.1.1. Les groupes Eurasiens

L'une des plus anciennes cultures et la seule espèce du genre *Vitis* originaire de la région Méditerranéenne. La domestication de cette plante a conduit au développement de cultivars adaptés au climat (Imazio et al., 2006). L'espèce (*Vitis vinifera* L.) est séparée en deux sous-espèces : la vigne sauvage (*V. vinifera* L. ssp. *sylvestris*) et la vigne cultivée (*V. vinifera* L. ssp. *sativa*) sur la base de distinctions écologiques, biologiques et morphologiques (Rahali, 2020).

1.1.1.2. Les groupes Asiatiques

Se sont révélés être des espèces sensibles au phylloxéra et aux maladies cryptogamiques en général, mais résistantes à l'oïdium, au froid et au mildiou (Galet, 2000 ; Reynier, 2007), qui comprend une dizaine d'espèces peu étudiées.

1.1.1.3. Les groupes Américains (Porte greffes)

Une vingtaine d'espèces de grande utilité viticole (Blanc, 2012), la majorité des porte greffes utilisés aujourd'hui sont des hybrides impliquant des trois espèces *V. berlandieri*, *V. riparia* et *V. rupestris* (Galet, 1998). En raison de l'utilisation de porte greffe, la vigne cultivée est une combinaison de deux génomes. Les porte greffes sont essentiels pour le stockage des nutriments et l'absorption de l'eau et des minéraux. Le système racinaire de la vigne, ou le lien entre l'environnement édaphique et la plante, est représenté par le génotype du porte greffe. Le terme "point de greffage" désigne le point de rencontre entre la racine (porte greffe souterrain) et le la pousse (cultivar de *V. vinifera*, organe au-dessus du sol).

Le greffage des variétés sensibles de *V. vinifera* sur des porte greffes résistants d'origine Nord Américaine, est la seule méthode durable à long terme de gestion de la maladie depuis la première découverte de ces porte greffes (voir annexe A). La méthode privilégiée de sélection de la résistance ou de l'adaptabilité de la vigne à la sécheresse, aux maladies et aux ravageurs (notamment les nématodes) repose sur l'utilisation de porte greffes résistants (Ollat et al., 2016).

2. HISTOIRE DE LA CULTURE VITICOLE EN ALGÉRIE

La vigne sera domestiquée au cours de la période néolithique (5000 à 6000 ans av. JC.). Lorsque l'homme s'installe et développe l'agriculture dans le Caucase du Sud et le croissant fertile (Levadoux, 1956 ; Zohary et Hopf, 2000 ; McGovern, 2003). La viticulture va s'étendre à partir de ces régions vers les civilisations du Moyen-Orient et de la Méditerranée.

2.1. Vignoble à l'époque coloniale

Le Nord de l'Algérie est la zone de distribution de la *Vitis sylvestris* sauvage indigène, à partir de laquelle des variétés de *Vitis vinifera* ssp. *sativa* ont été cultivées (This et al., 2006).

Les peuples Algériens d'origine cultivent la vigne depuis très longtemps en Afrique du Nord, par exemple les Berbères ou les Numides au cours du premier siècle avant J.-C. (Rahali et al., 2019). D'énormes quantités de vignes ont été exportées par les Phéniciens à travers la Méditerranée, Les Phéniciens ont apporté les premiers types de vignes cultivées en Algérie, et ces importations, ainsi que leurs descendants présumés provenant d'hybridations spontanées entre les variétés cultivées et sauvages (Isnard, 1951; Levadoux et al., 1971), et par la suite, les Romains ont développé la viticulture jusqu'à l'arrivée des chrétiens (Levadoux et al., 1971), et ont utilisé l'Algérie comme simple entrepôt de céréales pour leur royaume (Meloni et Swinnen, 2014). Ensuite, le raisin de table a été apporté par les Arabes musulmans. De nouvelles variétés ont été largement introduites par la conquête islamique, toujours du Moyen-Orient vers l'Afrique du Nord, établissant une nouvelle phase dans l'histoire de la viticulture Algérienne qui était consacrée à la culture de raisins frais ou secs destinés à la consommation immédiate. Plus tard, l'influence turque reste importante, comme en témoigne l'apparition de diverses variétés de raisin de table d'origine turque, dont le "Sultanina", pendant l'occupation turque, et au début du XIXe siècle, l'occupation Française a étendu la richesse et l'hétérogénéité de la viticulture. Plusieurs cultivars ont été dirigés vers l'Espagne et la France après la crise du phylloxéra en Europe (Levadoux et al., 1971). Malgré si un million de colons Européens ont consommé une partie du vin produit pendant cette période de colonialisme, la majorité de celui-ci était destinée au marché Français afin d'en faire ce que l'on appelle un " vin docteur " ou " vin de coupage " (Imache et al., 2011). 39 % des importations coloniales sont constituées par le vin Algérien en 1958, cette offre a permis aux colons Français de profiter d'un marché important et lucratif.

2.2. Vignoble de l'Algérie indépendante

En 1960, l'Algérie était devenue le quatrième producteur de vin au monde. Depuis l'indépendance, l'Algérie a produit 15 millions d'hectolitres de vin, dont aucun n'a trouvé de débouché sur le marché local. En conséquence, la viticulture est entrée dans une phase de déclin, avec une baisse de la production et de la superficie. Dans les années qui ont suivi l'indépendance, le gouvernement Algérien s'est efforcé d'aider la filière viticole, mais chaque fois qu'un problème politique entre l'Algérie et la France se posait, le gouvernement Français n'hésitait pas à faire pression sur le gouvernement Algérien pour important du vin Algérien (Rahali, 2020).

Après l'indépendance en 1962, la production de vin a chuté et elle a perdu une grande partie de ses parts de marché (Meloni et Swinnen, 2014). Galet, (2000) dans son dictionnaire mentionne 96 variétés Algériennes, et le VIVC en 2019 (Catalogue International des variétés *Vitis*, VIVC ; <http://www.vivc.de/>) compte 83 variétés Algériennes. L'Algérie a hérité d'une importante richesse moléculaire de la vigne (Rahali, 2020).

2.3. Vignoble de l'Algérie actuelle

L'Algérie est le plus grand pays d'Afrique et abrite une grande variété de cépages et de conditions climatiques (Laiadi et *al.*, 2009 ; Riahi et *al.*, 2010). La vigne est la troisième culture fruitière la plus abondante (75 000 hectares) après les olives et les dattes (Laassami et *al.*, 2020) (voir annexe B et B1).

En Algérie, la viticulture occupe une place importante dans de nombreuses régions, notamment dans le centre avec 75% et dans l'Ouest avec environ 25%, bien qu'elle soit relativement faible dans l'Est, compte tenu de terroirs disponibles et du climat. Le raisin de table est l'objet principal de cette culture (voir annexe C), suivi du raisin de cuve (voir annexe C1) puis du raisin sec (voir annexe C2, C3) ; Office national des statistiques, (2020) (<https://www.ons.dz/> ; Toumi, 2006).

3. VALORISATION DES RESSOURCES NATURELLES

Le principal problème auquel est confrontée la communauté agricole mondiale est de savoir comment accroître et améliorer la productivité des écosystèmes agricoles afin de réduire la pauvreté et de garantir la sécurité alimentaire d'une manière durable. Tout le monde s'accorde à dire que la diversité phylogénétique est essentielle pour établir une durabilité à long terme et satisfaire les besoins à court terme.

Une autre dimension cruciale dans ce contexte est la nécessité de promouvoir la résilience des cultures face aux changements climatiques. Les variations climatiques ont un impact significatif sur les rendements agricoles et la disponibilité des ressources. Intégrer des variétés de cultures résistantes aux conditions climatiques changeantes, mettre en œuvre des pratiques agricoles adaptées au climat et développer des stratégies d'adaptation sont des éléments clés pour renforcer la durabilité des écosystèmes agricoles. Cela contribuerait non seulement à atténuer les risques liés au climat, mais aussi à garantir une production alimentaire stable et fiable à l'échelle mondiale.

La gestion complexe et synthétique de la biodiversité affecte la diversité à toutes les échelles, y compris les gènes, les espèces, l'environnement, et l'écosystème. Elle dépend d'un

certain nombre de domaines, notamment les systèmes agricoles, les sciences sociales, et la génétique. Ce cadre conceptuel doit prendre en compte la manière de mettre en œuvre et de conserver la biodiversité agricole (Jarvis, 2012).

3.1. Conservation *in situ*

La conservation *in situ* consistant à conserver les espèces et les écosystèmes dans leurs habitats naturels est connue sous le nom de conservation *in situ*. En protégeant leur environnement naturel, la population et la diversité génétique des espèces menacées, cette stratégie vise à maintenir la biodiversité et à les sauvegarder.

La conservation *in situ* est souvent considérée comme étant plus efficace que la conservation *ex situ*, qui consiste à préserver les espèces dans de leur habitat original, comme dans les parcs nationaux, des jardins botaniques ou les sanctuaires de faune. La conservation *in situ* permet de préserver les interactions complexes entre les espèces et leur environnement, ce qui est crucial pour le maintien de l'équilibre écologique. De plus, la conservation *in situ* peut encourager le développement durable et la participation des communautés locales à la préservation de la biodiversité.

3.2. Conservation *ex situ* (gestion des collections germoplasmiques)

L'exigence d'utiliser du matériel biologique précis et entièrement défini dans toute activité de recherche nécessite la présence des collections germoplasmiques où les espèces végétales sont conservées en toute sécurité (Popescu et al., 2018). L'objectif principal de la conservation des ressources génétiques dans les collections de germoplasme est de maintenir la diversité génétique des espèces, des genres et des populations de plantes, qui peuvent ensuite être utilisés pour les activités commerciales au niveau national (voir annexe D).

La vigne, l'une des cultures les plus appréciées, a une très longue histoire et est étroitement liée à la société humaine. De nos jours, il existe de nombreuses variétés de cette culture qui présentent une variété d'expressions morphologiques et moléculaires.

Pour la vigne, comme pour toute autre espèce végétale, les collections exigent des techniques de gestion spécifiques pour : l'établissement de la collection, la collecte du matériel végétal, l'évaluation sanitaire, la caractérisation moléculaire, la documentation, la conservation et la distribution des variétés de vigne (Popescu et al., 2018).

Concepts fondamentaux :

Le matériel génétiquement représentatif du genre *Vitis*, conservé et entretenu avec soin. Son intégrité génétique est maintenue d'une génération à l'autre par multiplication végétative ou *in vitro*.

Les anciennes variétés qui ont été éliminées de l'assortiment cultivé, les variétés traditionnelles dont l'aire de culture est limitée, les variétés cultivées et les nouvelles créations obtenues par des techniques de sélection, les génotypes, les lignées, les mutants et les élites sélectionnés au cours des cycles de sélection, ainsi que et les espèces sauvages étroitement apparentées aux espèces cultivées sont autant d'exemples de collections de germoplasme.

L'objectif principal d'une collection est de rassembler la plus grande diversité génétique possible à partir du plus petit nombre possible d'échantillons et d'individus. En fonction de l'authenticité, du nombre minimum d'individus et de l'état sanitaire, les conditions de culture de la collection *ex situ* doivent garantir l'uniformité et l'intégrité du matériel biologique (Marshall et Brown, 1975).

Un matériel végétal est maintenu dans une collection *ex situ* en dehors de sa zone d'origine dans des conditions adéquates pour empêcher toute modification de sa composition génétique. La conservation *ex situ* doit être considérée comme une technique sophistiquée destinée à préserver les espèces végétales menacées dans des environnements aussi proches que possible de leurs habitats d'origine.

La préservation du matériel végétal dans les collections de germoplasme *ex situ* devrait être considérée comme une stratégie de conservation supplémentaire plutôt que comme une alternative de la préservation *in situ*. La diversité génétique étant le fondement de l'adaptabilité à l'environnement actuel ainsi qu'aux changements environnementaux potentiels futurs, il est essentiel de préserver un large éventail de variantes génétiques au niveau des populations, des espèces, des individus et des allèles.

La conservation nécessite une approche intégrée et réaliste qui combine des connaissances théoriques et pratiques sur l'écologie des espèces collectées, la diversité génétique du/des groupe(s) conservé(s) dans la collection et les meilleures pratiques de conservation des espèces/genres dans les collections *ex situ* (Popescu et al., 2018).

Lors de la gestion des collections *ex situ*, il est important de prendre en considération les données suivantes :

3.2.1. Établissement de la collection

La création d'une collection de matériel génétique *ex situ* de vigne est l'étape initiale de la gestion de la collection. Il s'agit de choisir un lieu approprié pour la collection, de localiser le matériel végétal et d'identifier les espèces et les cultivars de vigne à inclure dans la collection.

Le nombre d'accessions, le nombre de plantes de chaque génotype et le nombre total attendu d'accessions à conserver sont déterminés en fonction de l'espace disponible. Il est nécessaire de garantir la survie d'au moins 4 plantes de chaque accession dans une collection. Seules les plantes greffées sur le même porte greffe sont placées dans la collection à l'exception des différents types de porte greffe.

Le porte greffe doit être adapté au sol et garantir l'expression des caractères ampélographiques pour tous les génotypes ou la majorité d'entre eux. Le greffage de la vigne est une méthode de propagation végétative qui consiste à attacher un fragment d'un rameau de vigne, appelé greffon, à un porte greffe choisi (Popescu et *al.*, 2018). En utilisant cette méthode, le greffage a produit des plants de vigne identiques aux plantes mères, tout en assurant un certain niveau de résistance aux maladies du sol et en ajustant la vigne aux différentes conditions climatiques.

Les étapes du greffage dans la viticulture moderne, est une méthode de production de plants de vigne de haute qualité. Ces vignes sont parmi celles dont la production régulière en est assurée :

- Sélection des porte greffes : les porte greffes sont choisis en fonction du climat local, de leur capacité à s'adapter aux différents types de sols et de leur résistance aux maladies.
- Préparation des greffes : les greffes sont obtenues à partir d'une plante mère saine et vigoureuse.
- La réalisation du greffe : une méthode spéciale est utilisée qui permet une soudure complète entre le greffon et le porte greffe au moyen d'un ruban spécial ou d'une cire spécifique pour renforcer la soudure.
- Les plants greffés sont cultivés dans une pépinière pendant un an ou plus jusqu'à ce qu'ils soient de la bonne taille pour être transplantés dans le vignoble.
- La distance de plantation dans la collection doit offrir suffisamment de lumière pour favoriser une meilleure croissance végétative pour chaque plante. La distance de plantation standard est de 2 m entre les rangées et 0,8-1 m entre les plantes (Popescu et *al.*, 2018).

Le matériel produit selon la Figure 1 de certification est issu de plantes du stade initial qui ont été testées et trouvées indemnes des pathogènes listés au Tableau 1, et produites dans des conditions minimisant l'infection par les autres pathogènes majeurs des espèces concernées. Le schéma est présenté selon le plan général proposé par le groupe d'experts (Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes) (OEPP, 1992) sur la certification sanitaire des cultures fruitières.

Figure 1. Les étapes du protocole de certification sanitaire de la vigne (OEPP/EPPO, 2008).

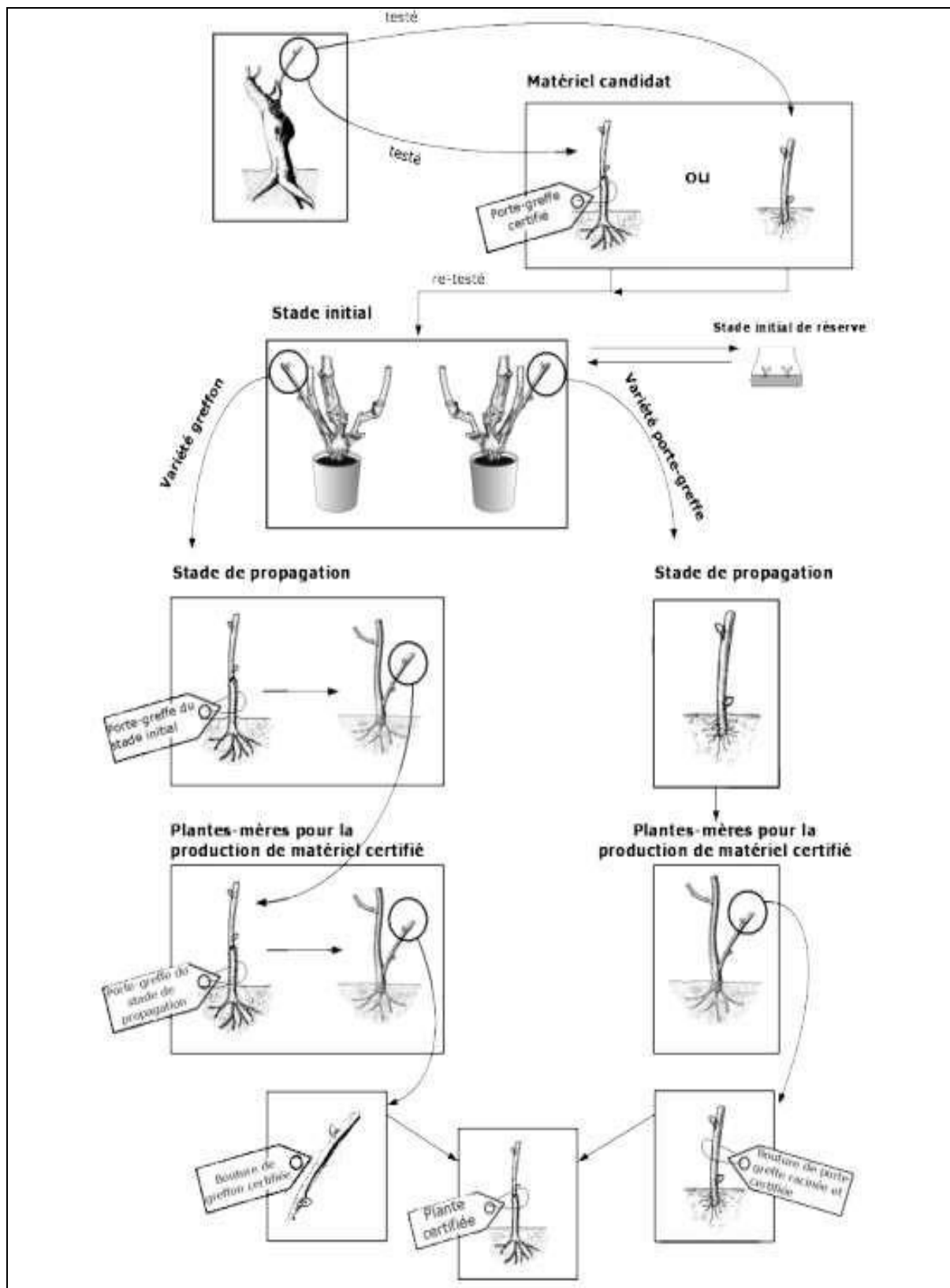


Tableau 1. Pathogènes, transmission, répartition géographique et vecteurs des maladies de la vigne (OEPP/EPPO, 1992).

Virus		Répartition géographique	Vecteur
A. Complexe des dégénérescences de la vigne (toutes mécaniquement transmissibles)			
1.	<i>Arabidopsis mosaic virus</i> (<i>Nepovirus</i> , ArMV)	Europe, Japon, Etats-Unis (California)	<i>Xiphinema diversicaudatum</i>
2.	<i>Grapevine chrome mosaic virus</i> (<i>Nepovirus</i> , GCMV)	Hongrie, ex-Yougoslavie, Slovaquie, Autriche	Inconnu
3.	<i>Grapevine fanleaf virus</i> (<i>Nepovirus</i> , GFLV)	Mondiale	<i>Xiphinema index</i> , <i>Xiphinema italiae</i> , <i>Xiphinema vuittenezi</i>
4.	<i>Raspberry ringspot virus</i> (<i>Nepovirus</i> , RpRSV)	Allemagne	<i>Paralongidorus maximus</i> , <i>Longidorus macrosoma</i> , <i>Longidorus elongatus</i>
5.	<i>Strawberry latent ringspot virus</i> (<i>Sadwavirus</i> , SLRV)	Allemagne, Italie, Turquie	<i>Xiphinema diversicaudatum</i>
6.	<i>Tomato black ring virus</i> (<i>Nepovirus</i> , TBRV)	Canada (Ontario), Allemagne, Hongrie	<i>Longidorus attenuatus</i> , <i>Longidorus elongatus</i>
B. Complexe de l'enroulement de la vigne			
7.	<i>Grapevine leafroll-associated virus 1</i> (<i>Ampelovirus</i> , GLRaV 1)	Mondiale	<i>Heliococcus bohemicus</i> , <i>Neopulvinaria innumerabilis</i> , <i>Phenacoccus aceris</i> , <i>Parthenolecanium corni</i>
8.	<i>Grapevine leafroll-associated virus 2</i> (<i>Closterovirus</i> , GLRaV 2)	Mondiale	Inconnu
9.	<i>Grapevine leafroll-associated virus 3</i> (<i>Ampelovirus</i> , GLRaV 3)	Mondiale	<i>Planococcus citri</i> , <i>Planococcus ficus</i> , <i>Pseudococcus affinis</i> , <i>Pseudococcus calceolariae</i> , <i>Pseudococcus comstocki</i> , <i>Pseudococcus longispinus</i> , <i>Pseudococcus maritimus</i> , <i>Pseudococcus viburni</i> , <i>Pulvinaria vitis</i>
10.	<i>Grapevine leafroll-associated Virus 4</i> (<i>Ampelovirus</i> , GLRaV 4)	Méditerranée, Etats-Unis	Inconnu
11.	<i>Grapevine leafroll-associated Virus 5</i> (<i>Ampelovirus</i> , GLRaV 5)	Méditerranée, Etats-Unis	<i>Pseudococcus longispinus</i>
12.	<i>Grapevine leafroll-associated virus 6</i> (<i>Ampelovirus</i> , GLRaV 6)	Europe	Inconnu
13.	<i>Grapevine leafroll-associated virus 7</i> (GLRaV 7)	Italie, Grèce, Albanie	Inconnu
14.	<i>Grapevine leafroll-associated virus 8</i> (<i>Ampelovirus</i> , GLRaV 8)	Etats-Unis	Inconnu
15.	<i>Grapevine leafroll-associated Virus 9</i> (GLRaV 9)	Etats-Unis, Australie	<i>Pseudococcus longispinus</i>

C. Complexe du bois strié (seul le Grapevine closterovirus A est transmissible mécaniquement)			
16.	<i>Grapevine virus A (Vitivirus, GVA)</i>	Mondiale	<i>Heliococcus bohemicus</i> , <i>Neopulvinaria innumerabilis</i> , <i>Planococcus citri</i> , <i>Planococcus ficus</i> , <i>Pseudococcus affinis</i> <i>Pseudococcus comstocki</i> , <i>Pseudococcus longispinus</i>
17.	<i>Grapevine virus B (Vitivirus, GVB)</i>	Europe, Bassin Méditerranéen, Etats-Unis, Australie	<i>Planococcus ficus</i> , <i>Pseudococcus affinis</i> , <i>Pseudococcus longispinus</i>
18.	<i>Grapevine rupestris stem pitting associated virus (Foveavirus, GRSPV)</i>	Mondiale	Pollen (soupçonné)
D. Marbrure			
19.	<i>Grapevine fleck virus (Maculovirus, GFkV)</i>	Mondiale	Inconnu
E. Maladies de la vigne causées par des phytoplasmes			
20.	Grapevine flavescence dorée phytoplasma	Europe	<i>Scaphoideus titanus</i>
21.	Bois noir de la vigne et autres phytoplasmes responsables de jaunisses	Europe, Chili, Israël, Nouvelle-Zélande, Australie	<i>Hyalestes obsoletus</i> (bois noir) <i>Oncopsis alni</i> (Palatinate yellows)

3.2.2. Gestion de la santé des végétaux

Il est essentiel de préserver le bien être des vignes dans la collection en mettant en place les bonnes procédures de lutte contre les ravageurs et les maladies, en effectuant des inspections de routine et en suivant les bonnes techniques d'élagage et d'irrigation (Popescu et al., 2018).

3.2.2.1. Les ravageurs et les maladies cryptogamiques de la vigne

L'une des raisons de la perte de nombreuses espèces, comme c'est le cas pour les espèces Algériennes dans cette étude, malgré sa présence dans la collection, sont les bioagresseurs de la vigne.

Lorsque le phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae*), l'oïdium (*Erysiphe necator*), puis le mildiou (*Plasmopara viticola*) sont arrivés en Europe entre les années 1850 et 1870 (Zah-Bi, 2014 ; Meng et al., 2017). En conséquence, la diversité des espèces cultivées et sauvages a probablement diminué (Brault, 2021). La diversité actuelle des espèces de *V. vinifera* ne représente vraisemblablement que le reflet de ce qui existait avant la propagation des maladies (Figure 2,3 et 4). Depuis la fin du XVIIIe siècle, des botanistes et des pépiniéristes ont introduit dans de nombreux cépages Nord Américains sans prendre aucune précaution sanitaire, ces

vignes sont résistantes à l'*Erysiphe necator* pathogène et le phylloxéra (Zah-Bi, 2014).



Figure 2. Les symptômes du phylloxera (Koegel et *al.*, 2013)



Figure 3. Les symptômes de l'oïdium de la vigne (Delbac, 2020)

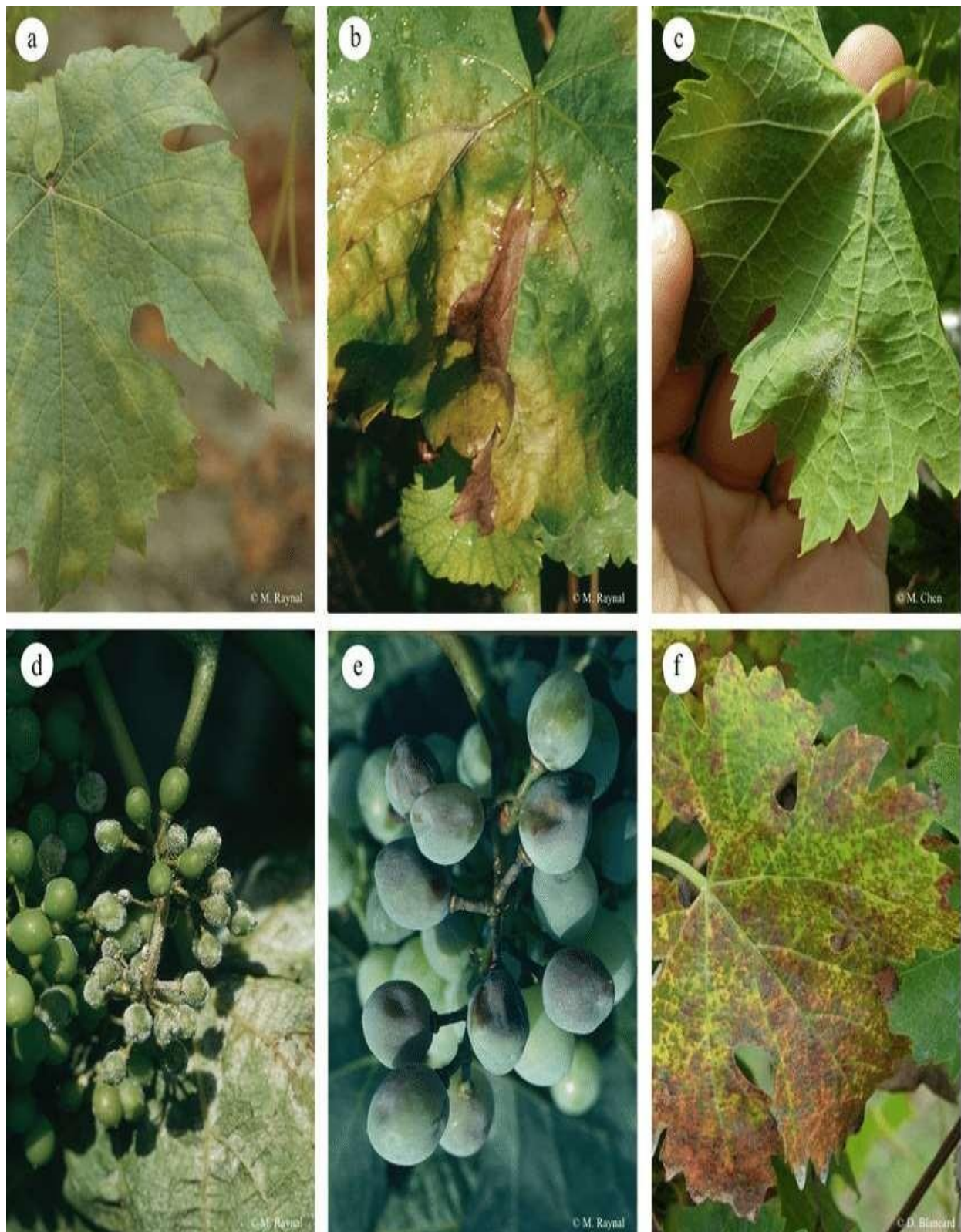


Figure 4. Les symptômes de mildiou de la vigne sur feuilles et grappes (Chen, 2019)

a) : Symptôme « tache d'huile ». (b) : Tissus nécrosés. (c) : Sporulation du pathogène sur la face inférieure de la feuille infectée. (d) : Sporulation du pathogène sur baies de raisin. (e) : Symptôme de « rot brun » sur grappe, avec taches brunes sur baies. (f) : Symptômes de mildiou « mosaïque ».

De plus, en 1872, des inquiétudes ont été soulevées concernant la propagation potentielle du mildiou par ces porte greffes Américains. Les deux maladies cryptogamiques qui ont actuellement le plus d'impact sur les vignobles, en dehors du phylloxéra, qui est totalement enrayé grâce à l'utilisation de porte greffes, sont le mildiou et l'oïdium. Ces trois maladies ont favorisé le développement de porte greffes résistants au phylloxéra et adaptés aux sols souvent calcaires des vignobles, ainsi que d'hybrides spécifiquement résistants au mildiou et à l'oïdium.

Les maladies phytosanitaires ne pouvaient être combattues efficacement que sur une très petite surface par immersion, l'une des nombreuses méthodes de lutte qui se sont toxiques, avérées coûteuses et inefficaces. Il a été démontré en 1874 que les espèces Américaines *Vitis rupestris* et *Vitis riparia* étaient résistantes à ce type de maladie (Zah-Bi, 2014).

La lutte contre le phylloxéra comporte deux nouvelles stratégies. La première stratégie consistait à créer des croisements interspécifiques entre des espèces Européennes et Américaines afin de développer des cultivars pouvant être utilisés en tant que franc de pied ou hybrids. La deuxième stratégie consistait à greffer des variétés résistantes d'ascendance Américaine sur des variétés Européennes. L'intérêt de cette opération était de combiner la qualité de récolte de variétés Européennes conventionnelles avec la résistance racinaire offerte par le porte greffe Américain (Pouget, 1990).

Bien que les résistances au phylloxéra soient en place depuis plus d'un siècle, le développement de variétés résistantes au mildiou et à l'oïdium reste difficile. La sélection pour la durabilité de la résistance nécessite plusieurs années d'étude et de nombreuses générations de croisements, ainsi que des normes de perfection de la qualité. De plus, une étude approfondie des populations d'agents pathogènes, de leur adaptabilité, de leur diversité et de leurs origines est nécessaire. (Zah-Bi, 2014).

3.2.2.2. Les maladies virales de la vigne

Comme pour les autres plantes, la majorité des maladies qui affectent la vigne se développent à la suite de l'interaction d'un agent pathogène vivant avec un hôte sensible. Ces agents pathogènes biotiques se déclinent en un large éventail d'espèces, principalement des champignons, des bactéries, des virus et des insectes.

Les virus provoquent des maladies dans les cellules des plantes infectées, altérant ainsi les capacités de la plante, notamment en réduisant les rendements de la récolte, en général, la qualité, en affaiblissant les vignes qui vieillissent prématurément et en rendant plus difficile à greffer et à bouturer (Rahali, 2020).

Le court-noué, le complexe de la strie du bois et l'enroulement viral de la vigne sont les plus dangereux car ils ont un impact important sur le rendement et l'activité végétative (Figure 5).



Figure 5. Les symptômes de la maladie du court-noué de la vigne (Ozturk et *al.*, 2017)

A-B : Souche de malformation.

C-K : Souche mosaïque jaune

La plus ancienne maladie virale connue de la vigne est la maladie du court-noué, elle est provoquée par deux virus de la famille des *népovirus*, l'ArMV (*Arabis mosaic virus*) et le GFLV (*Grapevine fanleaf virus*).

Les symptômes de l'ArMV et du GFLV sont identiques, et les deux maladies sont propagées par des nématodes vecteurs appelés respectivement *Xiphinema diversicaudatum* et *Xiphinema index*. La décoloration jaune de la surface des feuilles est l'une des caractéristiques de la maladie du court-noué, et parfois une croissance anormale des nervures est également présente (Galet, 1977). De plus, la maladie entraîne une croissance anormale des entre-nœuds.

Selon Agrios, (1997), les vignes infectées perdent continuellement leur vigueur, ce qui entraîne la dégénérescence et la mort de la plante, réduisant ainsi considérablement les rendements. L'enroulement de la vigne est provoqué par le GLRaV (*Grapevine Leafroll-Associated Virus*). Selon le cultivar, les feuilles malades deviennent jaunes ou rouges au début de l'été. En fin de saison, les feuilles s'enroulent d'une manière particulière (Figure 6).

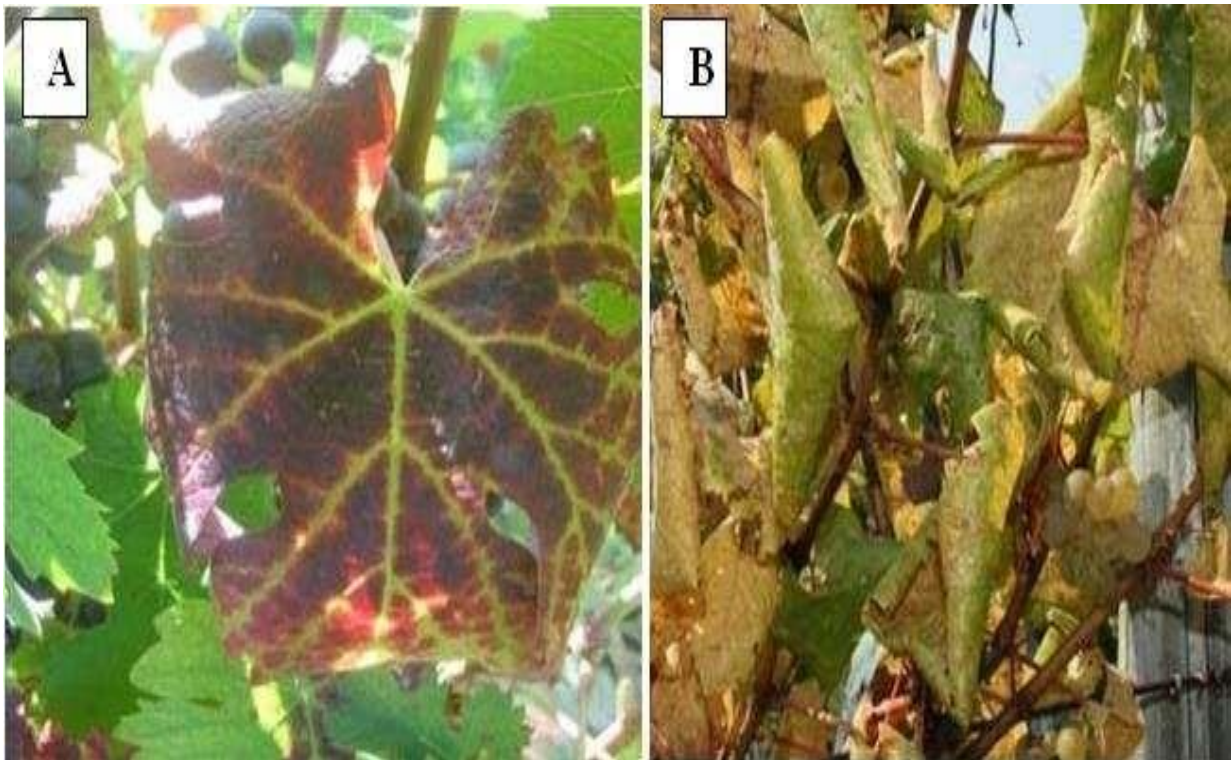


Figure 6. Les symptômes de l'enroulement de la vigne (Martinson, 2008).

(A) Chez une variété rouge.

(B) Chez une variété blanche.

La taille des grappes est inférieure à la normale, et la maturation des fruits est retardée. La maladie ne tue pas les plantes ; elle provoque plutôt des dommages persistants aux plantes et des pertes de rendement.

Un autre virus dit le GFkV, virus de la marbrure de la vigne (*Grapevine fleck virus*), produisent généralement peu ou pas de symptômes (Figure 7) et par conséquent, son existence sur les clones des variétés de vigne certifiées n'est pas éliminatoire. (Spring et al., 2012).



Figure 7. Symptômes d'éclaircissement des veines associés au virus de marbrure de la vigne (GFkV) (Constable et Rodoni, 2011).

L'un des complexes des maladies de la vigne les plus répandus, connu sous le nom de bois rugueux (RW), comprend les virus de la vigne A, B et D (GVA, GVB et GVD, respectivement) du genre *Vitivirus* et le virus de la vigne *rupestris* liés aux perforations de la tige (Figure 8).



Figure 8. Les symptômes du bois rugueux (Maliogka et al., 2014)

3.2.2.3. Tests de diagnostic des maladies de la vigne

- Détection sérologique par le test ELISA

C'est un test immuno-enzymatique, le test ELISA est basé sur la réaction anticorps (IgG)-antigène (virus). Pour la détection du virus du court-noué de la vigne, des *Closteroviridae* (GLRaV 1 à 9), d'autres *népovirus* et des *vitivirus* (GVA et GVB) pour lesquels un antisérum est disponible, un test ELISA est conseillé.

Les bourgeons, les racines, les feuilles ou les copeaux de bois de vigne peuvent tous servir de source d'antigènes pour les tests ELISA. L'utilisation de copeaux de bois a des avantages, puisque les niveaux d'antigènes dans les copeaux de bois ne semblent pas changer de façon saisonnière comme les organes végétatifs, ils peuvent être utilisés toute l'année sans perdre leur efficacité apparente. Ils ont également un bruit de fond faible et constant.

Ils sont beaucoup plus précis pour détecter les virus de la famille des *Closteroviridae* sur les porte greffes Américains, notamment le *Vitis rupestris* et ses hybrides. Le test ELISA peut être considéré comme un ajout aux techniques de diagnostic existantes et non comme un substitut. Il peut être utilisé spécifiquement pour les tests de dépistage ou les procédures d'échantillonnage (OEPP/EPP, 1992).

- Détection de la charge virale par test moléculaire RT-PCR

Parce qu'elle est plus sensible aux techniques biologiques, la PCR est devenue de plus en plus courante ces dernières années. Si les antisérums pour le test ELISA ne peuvent pas être obtenus ou inappropriés, la PCR est particulièrement utile, en particulier pour la détection de GFLV et de *Maculovirus* (GFkV), il a été démontré que l'utilisation de RT-PCR peut améliorer (d'au moins 10%) le nombre d'échantillons positifs.

Pour les échantillons avec un résultat ELISA négatif, l'utilisation de RT-PCR, dans les procédures simples ou multiplexées, est fortement recommandée.

Afin de détecter de nombreux virus en une seule réaction, des techniques de RT-PCR multiplex (mRT-PCR) ont été conçues (Faggioli et La Starza, 2006 ; Gambino et Gribaudo, 2006). Cela permet un diagnostic de routine rapide, précis et abordable. Le plus fin tissu pour l'extraction d'ARN est le phloème, qui est mieux obtenu en raclant des rameaux matures obtenus pendant la taille d'hiver.

Il existe de nombreuses méthodes d'extraction d'ARN totales qui peuvent être utilisées. Aux fins de l'identification du virus, divers ensembles d'amorces peuvent être combinés

individuellement ou en multiplexes (Faggioli et La Starza, 2006; Gambino et Gribaudo, 2006). Étant donné que les tests moléculaires ne nécessitent qu'une quantité faible d'échantillon de tissu fraîchement produit *in vitro*, ils conviennent au dépistage précoce du matériel de culture tissulaire dans le cadre des programmes d'amélioration de la santé (OEPP/EPPO, 1992).

3.2.3. La caractérisation et évaluation du matériel végétal

Afin de maintenir des conditions idéales, il est nécessaire de caractériser et d'évaluer périodiquement le matériel génétique afin de déterminer sa diversité génétique, son adaptabilité et d'autres caractéristiques critiques.

Les plans de sélection et les autres activités pertinentes peuvent être guidés par ces données caractéristiques. Les collections doivent être catégorisées et identifiées avec exactitude, et leurs qualités d'utilité doivent être énoncées (Popescu et *al.*, 2018).

Selon Upadhyaya et *al.*, (2008), la « caractérisation du germoplasme » renvoie à la documentation de traits héréditaires clairement identifiables. Selon Maghradze et *al.*, (2015), les critères de caractérisation et d'identification de la vigne sont les suivants :

- Caractéristiques morphologiques conformes aux 48 descripteurs de la liste de l'OIV (L'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin) pour les cépages et les espèces de *Vitis* (2009) et en utilisant la technique normalisée décrite par Rustioni et *al.*, (2014).
- Caractéristiques moléculaires par neuf marqueurs SSR (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62 et VrZAG79) suggérés par Maul et *al.*, (2012).

Pour obtenir une validation préliminaire de l'authenticité des accessions recherchées, la description ampélographique doit être comparée à la description de la littérature de référence. Les résultats des analyses moléculaires en comparant le génotype obtenu à partir d'un échantillon avec des génotypes de référence présenté dans une base de données internationales (Siret et *al.*, 2002), permettent d'identifier (true-to-type) avec précision chaque accession (d'accessions incorrectement identifiées, détection de variétés distinctes, d'homonymes, de synonymes, de matériel génétique redondant).

Les marqueurs de répétition de séquence simple (SSR), souvent appelés répétitions en tandem courtes, sont maintenant couramment utilisés et se sont avérés être un outil efficace dans la création de cartes génétiques, montrant une description de la génétique individuelle, et

l'évaluation des gènes associés, pour leur reproductibilité et leur polymorphisme (Eyduran et *al.*, 2016 ; Bozhuyuk et *al.*, 2020 ; Bolaric et *al.*, 2021 ; Hasanbegovic et *al.*, 2021).

Les répétitions de séquence (SSR) ou microsatellites sont également connues sous le nom polymorphismes de répétitions de séquences simples (SSRP), séquences marquées de sites microsatellites (STMS), les polymorphismes de longueur de séquence simple (SSLP) et nombre variable de répétitions en tandem (VNTR).

Tous les chromosomes comprennent ces séquences, qui sont largement dispersées dans le génome. Elles ont été découvertes dans des introns et des séquences codantes de gènes. Le SSR di-nucléotide (AT)_n est le type de SSR le plus répandu chez les plantes (Abdel-Mawgood, 2012 ; Firas et Abdulkareem, 2015 ; Hoshino et *al.*, 2012 ; Jones et *al.*, 2009 ; Liu, 2011 ; Soranzo et *al.*, 1999).

Les marqueurs microsatellites sont considérés comme plus fiables, plus variés et plus informatifs que les autres marqueurs moléculaires. En raison de ces caractéristiques et de leur faible coût, ils constituent sans aucun doute le système de marqueurs de choix pour les enquêtes génétiques (Akkaya et *al.*, 1992 ; Phillis et Vasil, 2001).

Comme les SSR n'ont besoin que d'une petite quantité d'ADN et n'ont pas besoin d'être de haute qualité, il est désormais possible d'identifier des loci dans l'ADN même s'il est ancien et fortement dégradé, ce qui explique pourquoi les microsatellites sont devenus les marqueurs moléculaires les plus utiles et les plus performants.

De plus, ces marqueurs sont considérés comme la meilleure méthode pour identifier les variétés et détecter le polymorphisme inter-variétal (Abdel-Mawgood, 2012 ; Firas et Abdulkareem, 2015 ; Zhang, 2006), comprendre la structuration des populations (Sefc et *al.*, 2009 ; This et *al.*, 2006). Afin de construire des liens phylogénétiques (Péros et *al.*, 2010) et des études de cartographie, ils sont également utiles pour l'analyse parentale entre les variétés de vigne et pour estimer le degré de parenté des individus (Bowers et *al.*, 1999 ; Firas et Abdulkareem, 2015 ; Idrees et Irshad, 2014).

Outre la possibilité d'identifier des cépages à partir de produits finis (jus, vins), les microsatellites peuvent également être utilisés pour identifier du matériel végétal d'origine variétale inconnue, ceci en raison de leur fort pouvoir discriminant. Les microsatellites se sont également révélés prometteurs pour mesurer de la variation génétique dans les collections germoplasmiques (Mohammadi et Prasanna, 2003).

Ils se sont révélés très efficaces et sont fortement conseillés pour résoudre les problèmes de synonymie et d'homonymie dans la dénomination des cépages (El Oualkadi et *al.*, 2011; Laiadi et *al.*, 2009).

- **Homonymie** : lorsque les accessions ont des noms identiques, mais un génotype différent, il sera important de faire la distinction entre les accessions qui représentent des noms erronés.

- **Synonymie** : lorsque des noms d'accessions différents mais de même génotype, dans cette situation, les synonymes corrects et les noms incorrects sont distingués.

3.2.4. La documentation

Le dossier d'information doit comporter une identification précise et une caractérisation approfondie. Un système d'accès à l'information simplifie l'obtention de toutes les informations concernant la collection de vigne, les descriptions des accessions et les utilisations potentielles.

Les bases de données internationales et le propre système d'information intégré sont des ressources utiles pour communiquer des informations sur les collections et améliorer l'efficacité de la valorisation des accessions qui les composent (Popescu et *al.*, 2018).

Les documents contiennent :

- L'origine de l'équipement (le nom de l'agriculteur, la région ou l'installation expérimentale où il a été reçu).
- Morphologie des plantes (forme, type de croissance, hauteur et couleur ...etc.).
- Rendement agronomique de la variété (période de floraison, précocité et potentiel de rendement).
- Adaptation de la variété à certains paramètres environnementaux (comme le type de sol et la résistance aux maladies).
- Utilisation de l'équipement (temps de cuisson courts, saveur) (Jarvis et *al.*, 2016).

Des techniques de multiplication et de régénération seront utilisées pour garantir que chaque variété de vigne donne le nombre de plantes requis et, si nécessaire, pour distribuer le matériel végétal. Pour produire de nouveaux cépages, seules des plantes saines et vigoureuses devraient être utilisées (Popescu et *al.*, 2018).

3.2.5. La conservation du matériel génétique

La préservation efficace du matériel génétique végétal nécessite une approche holistique, intégrant diverses pratiques agricoles. Un contrôle attentif de la qualité du sol, en veillant à son adéquation en termes de nutriments, de pH et de structure, constitue le fondement d'une croissance végétale saine et résiliente aux maladies. La mise en place d'un système d'irrigation bien pensé, incluant la collecte d'eau de pluie et des techniques d'irrigation efficaces, garantit une alimentation en eau constante et équilibrée. Parallèlement, la lutte contre les mauvaises herbes, grâce à des méthodes adaptées telles que le paillage et des herbicides naturels, prévient les risques de maladies et favorise un environnement de croissance propre.

La sécurité phytosanitaire revêt une importance cruciale, avec la mise en œuvre de mesures de quarantaine pour prévenir l'introduction de nouvelles maladies ou ravageurs, nécessitant une surveillance régulière des cultures et des actions rapides en cas de détection de problèmes. L'étiquetage précis de chaque plante, comprenant des informations détaillées sur la variété, la date de plantation, et d'autres détails pertinents, facilite la gestion du matériel génétique et assure une traçabilité fiable. La sensibilisation du personnel et des parties prenantes à travers l'éducation et la formation sur les bonnes pratiques agricoles, la reconnaissance des maladies et des ravageurs, ainsi que l'utilisation appropriée des traitements, renforce les compétences nécessaires à une conservation réussie. Enfin, l'établissement d'un programme de suivi régulier permet d'évaluer la santé des plantes, de détecter tout signe de maladie ou de dégradation, et d'ajuster les pratiques de gestion en conséquence, créant ainsi un environnement propice à la préservation à long terme de la diversité génétique des plantes.

Une gestion compétente de la collection de germoplasme est la preuve du respect de l'environnement, des traditions locales et des ressources naturelles (Popescu et *al.*, 2018).

3.2.6. Utilisation de la collection

L'utilisation de la collection de germoplasme est d'une importance vitale dans divers domaines tels que l'agriculture, la recherche scientifique et la préservation de la biodiversité. Les chercheurs et les sélectionneurs utilisent le germoplasme pour introduire de nouvelles caractéristiques, telles que la résistance aux maladies, la sélection végétale et d'autres caractéristiques bénéfiques, ainsi que pour contribuer à renforcer la sécurité alimentaire en permettant le développement de variétés plus productives, plus résistantes et mieux adaptées au changement climatique. La collection de germoplasme agit comme une réserve de diversité génétique végétale, jouant un rôle crucial dans le développement de nouvelles variétés pour répondre aux besoins spécifiques des agriculteurs, des marchés et de l'environnement.

PARTIE 2.
RÉALISATION
EXPÉRIMENTALE

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Présentation de la région d'étude

Les plantes étudiées appartiennent au genre *Vitis*, plus précisément à l'espèce *Vitis vinifera* L. et des porte greffes cultivés dans la collection germoplasme au niveau de la ferme de démonstration de l'institut technique d'arboriculture fruitière et de la vigne (ITAFV) d'Emdjez Edchich (wilaya de Skikda) (Figure 9). Cette station a été créée par arrêté ministériel n°143 du 12/02/1989, avec une superficie totale de 83 hectares dans la commune d'Emjez Edchich (daïra d'El Harrouch). Elle est bordée au Nord par la route nationale n°22 menant à la wilaya de Skikda, au sud par la ferme pilote Bouraoui Mohamed, et à l'Ouest et à l'Est des terres agricoles privées. Leurs coordonnées géographiques sont : X : 6° 48' E, Y : 36° 43' N, avec une altitude de 200 m. Le vignoble s'étend sur une superficie de 8 hectares dont 5 hectares de champs de pieds-mère (CPM) et 3 hectares de raisins de table (voir Annexe E, E1, E2, E3, E4, E5, E6 et E7).

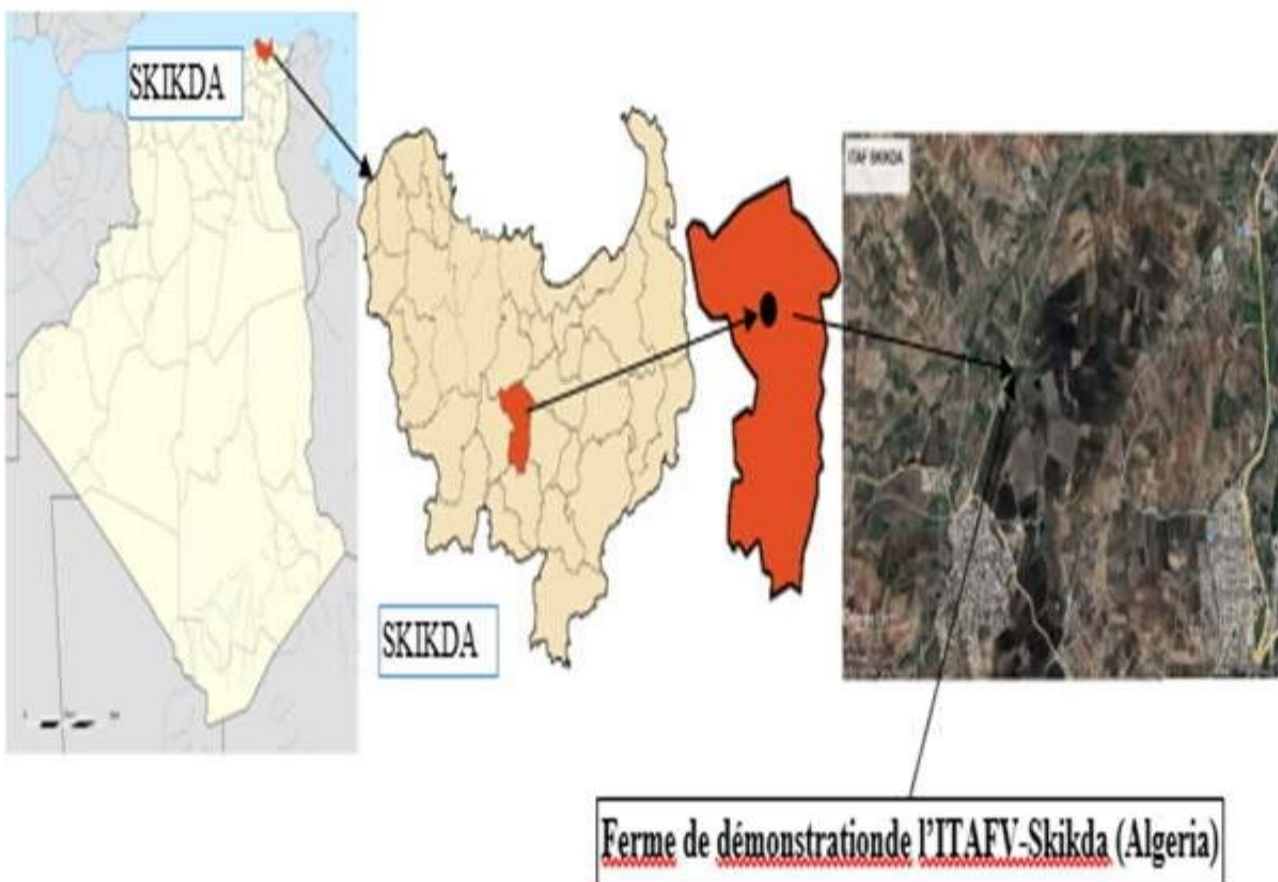


Figure 9. Localisation géographique de l'institut technique d'arboriculture fruitière et de la vigne (ITAFV) d'Emdjez Edchich (wilaya de Skikda) (Image satellite, Google Earth, 2023).

1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal retenu pour cette étude est constitué de la majorité des cépages autochtones existants, des cépages introduits et des porte greffes avec leurs clones (Tableau 2).

Les variétés sélectionnées sont du même âge et en phase de fin de production, sont toutes greffées sur le 1103 Paulsen un hybride de *Vitis berlandieri* et *Vitis rupestris*, c'est un porte greffe résiste bien à la sécheresse et au calcaire, il est vigoureux dans les sols frais et humides, il est très bien adapté aux sols pauvres et secs, se remet bien au bouturage et greffage (Galet, 1988, Bounab, 2020).

Le nombre total d'accessions de vigne (*Vitis vinifera* L.) étudiées est de 81 : dont 38 accessions autochtones, toutes classées en variétés menacées ou mineures, 18 cultivars introduits, et 25 accessions de porte greffes dont certains non identifiées et fournies par une pépinière privée à Blida (la liste est rapportée dans le Tableau 2). Chaque accession se composait de quinze plantes propagées, mais la plupart sont mortes à cause des problèmes climatiques et sanitaires.

Pour l'échantillonnage, le tissu de cambium du bois a été prélevé sur une seule plante de chaque accession avec répétition en cas d'incohérence avec les études antérieures. Ensuite, ils ont été emmenés au centre de recherche pour viticulture et Œnologie (CREA) en Italie, pour l'analyse génétique, afin de déterminer l'identification moléculaire de cépages et leur état sanitaire.

Tableau 2. Liste des accessions analysées, y compris le nom, la couleur des baies.

N° de l'accession	Nom de l'accession	Couleur	Origine
1	Aberkane	Noir	Algérie
2	Adadi	Blanc	Algérie
3	Adari des Bibans	Blanc	Algérie
4	Ahchichene	Blanc	Algérie
5	Ahmar de Mascara	Rouge	Algérie
6	Ahmar Mechtras II	Rouge	Algérie
7	Ahmar Mechtras III	Rouge	Algérie
8	Ahmed draa el Mizen	Blanc	Algérie
9	Ahmeur Bou Ahmeur	Rouge	Algérie
10	Aïn el Couma	Blanc	Algérie
11	Aïn el Kelb	Blanc	Algérie
12	Alphonse Lavallée	Noir	France
13	Alvina	Noir	France

14	Amellal	Blanc	Algérie
15	Amokrane	Blanc	Algérie
16	Aneb el Cadi	Blanc	Algérie
17	Bezzoul el Khadem	Noir	Algérie
18	Boghni	Blanc	Algérie
19	Bouaber des Aures	Noir	Algérie
20	Bouni	Blanc	Algérie
21	Cardinal	Rouge	Amérique États-Unis
22	Centennial	Blanc	Amérique États-Unis
23	Cherchelli	Blanc	Algérie
24	Chasselas	Blanc	France
25	Corrin Seedless	Noir	Amérique États-Unis
26	Christmas Rose	Rouge	Amérique États-Unis
27	Dattier de Beyrouth	Blanc	Liban
28	Dona Maria	Blanc	Portugal
29	El Wali	Blanc	Algérie
30	Farana Blanc	Blanc	Algérie
31	Farana de Mascara	Blanc	Algérie
32	Farana Noir	Noir	Algérie
33	Ghanez	Blanc	Algérie
34	Halawani	Rouge	Turquie
35	Italia	Blanc	Italie
36	Kabyle Aldebert	Noir	Algérie
37	Lakhdari	Blanc	Algérie
38	Lekhzine	Blanc	Algérie
39	Louali	Blanc	Algérie
40	Muscat D'Alexandrie	Blanc	Grèce
41	Muscat de Berkain	Noir	Algérie
42	Muscat de Fandouk 1	Blanc	Algérie
43	Muscat de Fandouk 2	Blanc	Algérie
44	Muscat de Hambourg	Noir	Royaume-Uni (UK)
45	Muscat El Adaa	Blanc	Algérie
46	Muscat Noir	Blanc	France
47	Sbaa Tolba	Blanc	Algérie
48	Sulima	Blanc	France
49	Sultanine	Noir	Turquie
50	Tadelith	Noir	Algérie
51	Tinesrine	Blanc	Algérie
52	Tizi Ouinine	Blanc	Algérie
53	Torki	Blanc	Algérie
54	Toustain	Noir	Algérie
55	Valenci Blanc	Blanc	Espagne

56	Valenci Noir	Noir	Espagne
57	Millardet et Grasset 41B clone 194	-	France
58	Millardet et Grasset 41B clone 195	-	France
59	Millardet et Grasset 41B clone 153	-	France
60	Richter 99 clone 179	-	France
61	Richter 99 clone 96	-	France
62	Couderc 3309 clone 111	-	France
63	Richter 110 clone 139	-	France
64	Richter 110 clone 140	-	France
65	Richter 110 clone 151	-	France
66	Richter 110 clone 06	-	France
67	Paulsen 1103 clone 112	-	Italie
68	Paulsen 1103 clone 113	-	Italie
69	Paulsen 1103 clone 768	-	Italie
70	SO4 clone 102	-	Allemagne
71	SO4 clone 05	-	Allemagne
72	Riparia Gloire de Montpellier	-	France
73	Ruggeri 140 clone 200	-	Italie
74	Ruggeri 140 clone 101	-	Italie
75	Ruggeri 140 clone 265	-	Italie
76	Inconnu 01	-	-
77	Inconnu 02	-	-
78	Inconnu 03	-	-
79	Inconnu 04	-	-
80	Inconnu 05	-	-
81	Inconnu 06	-	-

1.3. Identification génotypique

1.3.1. Extraction de l'ADN

Après avoir broyé la plante verte en une fine poudre à l'aide d'un instrument : Tissue-Lyser II (Qiagen, Hilden, Allemagne), l'ADN a été extrait de 20 mg de tissu lyophilisé à l'aide d'un kit commercial Qiagen DNeasy Plant mini-kit (Qiagen, Hilden, Allemagne), selon le protocole du fabricant :

- Suspendre 20 mg de tissu lyophilisé dans 400 µl de tampon AP1, ajouter 4 µl par laRNase A.
- Agiter (par type vortex) et incuber pendant 10 min dans un bain marie à 65 °C.
- Ajouter 130 µl de tampon P3 tout en mélangeant et incuber sur de la glace pendant 5minutes.
- Centrifuger le lysat à 14 000 rpm pendant 5 min.
- Récupérer le surnageant et déplacer dans la colonne (QIAshredder Mini spin column) puis centrifugé 2 min à 14 000 rpm.
- Ajouter 1,5 /volume de tampon AW1 au lysat et mélanger immédiatement par pipetage.
- Transférer 650 µl du mélange dans la mini colonne (DNeasy Mini Spin Column) et centrifugé 1 minute à 8000 rpm.
- Transférer la mini colonne (DNeasy Mini Spin Column) dans un nouveau microtube de 2 ml et ajouter 500 µl de tampon AW2 et après centrifuger pendant 1 min à 8000 rpm puis répéter la centrifugation pendant 2 min à 14 000 rpm.
- Placer la mini colonne (DNeasy Mini Spin Column) dans un nouveau microtube de 2 ml.
- Ajouter 100 µl de tampon AE pour élution, puis incuber à température ambiante (15-25 °C) pendant 5 min, ensuite centrifuger pendant 1 min à 8000 rpm, cette étape est répétée dans le même tube.

1.3.2. La concentration et la qualité de l'AND extrait

La concentration et la pureté de l'ADN extrait ont été mesurées par un Nanodrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) (les rapports 260/280 et 260/230) et par électrophorèse sur gel (agarose 1%).

1.3.3. Amplification de microsatellites (SSR)

La PCR (Polymerase Chain Reaction ou réaction en chaîne par polymérase) est une réaction de synthèse d'ADN in vitro et de manière répétée. Elle permet d'amplifier un très grand nombre de copies un fragment d'ADN choisi, Chaque cycle s'effectue en 3 étapes :

- Une dénaturation thermique de l'ADN
- Une hybridation des amorces
- Une élongation

Les étapes précédentes sont réalisées à différentes températures à l'aide d'un thermocycleur (modèle AB 2720, Applied Biosystems™)

1.3.3.1. Préparation des solutions mixtes

Les variétés ayant fait l'objet de l'étude ont été génotypées par douze marqueurs SSR en fonction de leurs polymorphismes et de leur taille : 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), plus VMC6E1 (ISV2), VMC6G1 (ISV4) et VMCNG4b9 (EVA2) (Vitis Microsatellite Consortium) (Migliaro et al., 2013). Les analyses SSR ont été réalisées selon le protocole détaillé dans Migliaro et al., (2013) pour dix SSR, tandis que VVMD25 et VVMD32 ont été amplifiés séparément avec les mêmes conditions de PCR. Ce protocole évite les étapes de purification de l'ADN pour accélérer le génotypage et l'identification des vignes et améliorer la pratique de la recherche. 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	CAGCCCGTAAATGTATCC ATC	AAATTCAAAATTCTAATTCAACT GG	Thomas et al., (1993)
VVMD5	CTAGAGCTACGCCAATCC AA	TATACCAAAAATCATATTCCTA AA	Bowers et al., (1996)
VVMD7	AGAGTTGCGGAGAACAGG AT	CGAACCTTCACACGCTTGAT	Bowers et al., (1996)
VVMD25	TTCGGTTAAAGCAAAGA AAAAGG	TTGGATTTGAAATTTATTGAGGG G	Bowers et al., (1999)
VVMD27	GTACCAGATCTGAATACA TCCGTAAGT	ACGGGTATAGAGCAAACGGTGT	Bowers et al., (1999)
VVMD28	AACAATTCAATGAAAAGA GAGAGAGAGA	TCATCAATTTTCGTATCTCTATTT GCTG	Bowers et al., (1999)
VVMD32	TATGATTTTTTAGGGGGG TGAGG	GGAAAGATGGGATGACTCGC	Bowers et al., (1999)
VrZAG62	GGTGAAATGGGCACCGAA CACACGC	CCATGTCTCTCCTCAGCTTCTCA GC	Sefc et al., (1999)
VrZAG79	AGATTGTGGAGGAGGGAA CAAACCG	TGCCCCCATTTTCAAACCTCCCTT CC	Sefc et al., (1999)

VMC6E1	CAC TGG CCT GTT GGG AGATAAT	CCT TCA ACT GGA AAA GCCTGT C	Migliaro et <i>al.</i> , (2013)
VMC6G1	TGC ATA GTG CTG TAG GCCATTG	TCT GTC ATT GCT GTC CCTTCA	Migliaro et <i>al.</i> , (2013)
VMCNG4b9	CTGGGGAGCATATACACA TACCAG	CTCTCTCTCCCGATAGCCACC	Migliaro et <i>al.</i> , (2013)

Pour réduire le risque de contamination, nous avons préparé différentes solutions contenant tous les composants PCR répertoriés dans le Tableau 4. La concentration de l'étiquetage des amorces présentée dans le Tableau 5.

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
	VrZAG62	0,11	VIC	172-219
	VVMD28	0,24	PET	219-285
	VrZAG79	0,11	NED	236-280
	VMC6E1	0,14	VIC	117-171
M2	VVMD5	0,48	VIC	218-276
	VVMD25	0,16	6-FAM	238-277
	VVMD27	0,20	6-FAM	175-223
	VVMD32	0,30	NED	236-292
	VMC6G1	0,14	PET	169-197
	VMCNG4b9	0,14	NED	138-180

Tableau 5. La concentration de l'étiquetage des quelques amorces (Migliaro *et al.*, 2013).

Locus SSR	Localisation du chromosome	Conc. (nM)	Séquences d'amorces sens et antisens marquées (5'-3')	Taille de l'allèle	Reference
VVS2	11	52	F : 6-FAM - CAGCCCGTAAATGTATCCATC R : AAATTCAAATCTAATTCAACTGG	123-165	This <i>et al.</i> , 2004
VVMD27	5	52	F : 6-FAM - GTACCAGATCTGAATACATCCGTAAGT R : ACGGGTATAGAGCAAACGGTGT	175-223	This <i>et al.</i> , 2004
VVMD7	7	52	F : 6-FAM - AGAGTTGCGGAGAACAGGAT R : CGAACCTTCACACGCTTGAT	231-267	This <i>et al.</i> , 2004
VMC6E1	14	32	F : VIC - CACTGGCCTGTTGGGAGATAAT R : CCTTCAACTGGAAAAGCCTGTC	122-175	Crespan 2003
ViZAG62	7	28	F : VIC - GGTGAAATGGGCACCGAACACACGC R : CCATGTCTCTCCTCAGCTTCTCAGC	173-219	This <i>et al.</i> , 2004
VVMD5	16	120	F : VIC - CTAGAGCTACGCCAATCCAA R : TATACCAAAAATCATAATCCTAAA	220-268	This <i>et al.</i> , 2004
VMCNG4b9	6	36	F : NED - CTGGGGAGCATATACACATACCAG R : CTCTCTCTCCCGATAGCCACC	138-188	Welter <i>et al.</i> 2007
ViZAG79	5	24	F : NED - AGATTGTGGAGGAGGGAACAAACCG R : TGCCCCCATTTTCAAACCTCCCTTCC	236-270	This <i>et al.</i> , 2004
VMC6F1	2	120	F : PET - GAGTAAGAGAGAAGCAAGAAAA R : GAGTAAGAGAGAAGCAAGAAAA	121-169	Crespan, 2003
VMC6G1	11	100	F : PET - TGCATAGTGCTGTAGGCCATTG R : TCTGTCATTGCTGTCCCTTTCA	169-197	Crespan, 2003
VVMD28	3	64	F : PET - AACAAATCAATGAAAAGAGAGAGAGAGA R : TCATCAATTCGTATCTCTATTTGCTG	216-285	Bowers <i>et al.</i> 1999

1.3.3.2. Principe de PCR

Après la préparation des solutions mixtes, PCR est réalisée à l'aide d'un Thermocycleur (modèle AB 2720, Applied Biosystems™) dans un volume réactionnel de 12,5 µl contenant les réactifs listés dans le Tableau 6.

La pré-dénaturation est démarrée à 94°C, puis le programme d'amplification est réalisé selon trois étapes répétées en 30 cycles :

- Dénaturation à 94°C pendant 45 secondes.
- Hybridation à 55°C pendant 1 minute et 30 secondes.
- Élongation à 72 °C pendant 1 minute.

Enfin, la réalisation d'une phase d'extension tout en maintenant la température à 72 °C pendant 30 minutes.

Tableau 6. Composition de la solution mixte pour la PCR

Produits	Volumes (1tube)	Volumes (81tubes)
H2O ultra-pure	7,45 µl	603,45 µl
Tampon (10x) (QIAGEN)	1,25 µl	101,25 µl
Mg Cl2 (15mM)	0,4 µl	32,4 µl
dNTPs (1mM)	1,0 µl	81,0 µl
Cocktail d'amorces (25µM)	1,25 µl	101,25 µl
Taq Polymérase (QIAGEN) (5U/µl)	0,15 µl	12.15 µl
ADN génomique (10ng/µl)	1,0 µl	81.0 µl
Volume final	12,5 µl/1tube	1012,5 µl/1tube

Les produits de PCR (0,5 µl) ont été mélangés avec 9,35 µl de formamide et 0,15 µl de standard GeneScan™ 500 LIZ® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Les échantillons ont été placés dans un plateau de 96 puits et ce dernier a été placé dans un thermocycleur (AB 2720 pendant 5 min à 94 °C)

1.3.4. Analyse des produits de PCR

L'électrophorèse capillaire a été réalisée dans un ABI 3130xl Génétique Analyseur (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Il est réalisé pour une évaluation des amplicons, une utilisation dans le séquençage de l'ADN et l'analyse des fragments. Après

avoir enregistré la plaque dans le logiciel de collecte de données et créé un ensemble de résultats avec le nom du dossier, puis chargé les échantillons et démarré l'électrophorèse.

Les spectres d'émission seront détectés et les dimensions des allèles était réalisé avec le logiciel Gene Mapper 4.0 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, ETATS- UNIS). Les tailles d'allèles ont été enregistrées en pb et les géotypes montrant un seul pic à un locus donné étaient considérés comme homozygotes.

1.3.5. Analyse bioinformatique des résultats

Les identifications ont été réalisées en comparant les profils SSR obtenus avec le CREA base de données moléculaire de la viticulture et œnologie qui contient actuellement environ 5000 profils uniques et est constamment mis à jour (partiellement publié dans le catalogue Italien de la vigne (<http://catalogoviti.politicheagricole.it/>), des informations sur la littérature et le Vitis International Variety Catalogue (VIVC, <http://www.vivc.de>), une base de données des différents cépages, depuis 1996, la base de données est accessible en ligne à l'institut de la culture de la vigne (Geilweilerhof)), situé à Siebeldingen, en Allemagne, qui est responsable de l'administration du VIVC qui contient des données de collections de vignes conservées par de nombreux instituts de viticulture à travers le monde, cette base de données a été soutenue par l'Organisation Internationale de la Vigne et du vin (International Organisation of Vine and Wine OIV) et Bioversity International, source d'informations pour les chercheurs viticoles pour visant à offrir une documentation sur les ressources génétiques de la vigne actuellement disponibles.

Toutes les caractéristiques principales de chaque souche sont incluses dans VIVC avec tous leurs synonymes connus. La description et des données génétiques (données microsatellites utilisés pour le géotypage ADN) sont fournies par neuf loci de microsatellites nucléaires (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79) (Maul et *al.*, 2012).

1.4. Statistiques des données géotypiques

Des techniques raffinées d'exploitation des données ont considérablement contribué à l'utilisation croissante des microsatellites dans la recherche. Trois phases successives sont utilisées pour classer les analyses statistiques basées sur les données géotypiques de microsatellites :

- Traitement des données initiales.
- Etude génétiques de base pour produire une vue d'ensemble statistique des paramètres génétiques de la population.
- Analyses génétiques avancées pour tester des hypothèses ou répondre à certaines questions.

1.4.1. La diversité génétique

La diversité génétique désigne le niveau de variabilité des gènes au sein d'une même espèce, correspondant à la fréquence des différents allèles d'un même gène. La génétique de population permet la mesure de la diversité génétique par la fréquence alléliques des différents gènes grâce à des indices qui présentent le niveau de polymorphisme, nombre d'allèles différents (No allèles), le nombre effectif d'allèles (allèles N_e), les valeurs d'hétérozygotie observée (H_o), attendue (H_e), la fréquence de l'allèle nul F , l'indice d'information de Shannon (I), Hardy–Weinberg equilibrium (HW), la probabilité d'identité (PI), la probabilité que deux individus frères sélectionnés au hasard dans une population aient le même génotype multilocus (PID SIBS).

Les logiciels suivants ont été utilisés pour effectuer les analyses statistiques de la présente étude :

- Le logiciel Cervus vs 3.0 (Kalinowski et *al.*, 2007).
- Le logiciel GenAlEx release 6.51b2.xlam - June 16, 2018 (Peakall et Smouse, 2006, 2012).

1.4.2. Analyse phylogénétique

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

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

Les sites web indiqués dans le Tableau 7 permettent de télécharger gratuitement tous les logiciels de génétique des populations utilisés dans cette étude.

Tableau 7. Tous les sites web des applications de génétique des populations utilisées dans cette recherche

Logiciels	Sites Web
Cervus vs 3.0	http://www.fieldgenetics.com/pages/download.jsp
GenAlEx release 6.51b2.xlam	http://biologyassets.anu.edu.au/GenAlEx/Welcome.html
Populations-1.2.32	http://bioinformatics.org/populations/#ancree_telechargement
MEGA-X	http://www.megasoftware.net/

1.5. Étude de statut sanitaire

Elle a été réalisée au laboratoire du service de certification sanitaire de la vigne du centre de recherche en viticulture et œnologie de Conegliano, en Italie.

1.5.1. Technique DAS-ELISA direct

Pour la majorité des virus de la vigne reconnus, le test DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-ELISA), une technique qui peut détecter de très petites quantités de virus est la méthode la plus couramment utilisée, développée et bien appliquée (Selmi, 2018).

Une approche sérologique basée sur la réaction anticorps (sérum)-antigène (virus) est appelée ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Si le virus est présent dans le matériel testé, l'ajout d'une enzyme pré-fixée aux anticorps agissant sur le substrat, révèle son existence par le biais d'une réaction colorée. (Tahirine et *al.*, 2020 ; Idris, 2016).

La méthode directe traditionnelle connue sous le nom de test ELISA sandwich à 2 anticorps (DAS-ELISA), nécessite l'utilisation de deux anticorps monoclonaux qui reconnaissent différents épitopes de l'antigène (Idris, 2016).

Détection des virus de la vigne les plus importants *grapevine leaf roll-associated virus* 1, 2, 3, et 6, *grapevine virus* (A et B), *grapevine fanleaf virus*, *Arabis mosaic virus* et *grapevine fleck virus*) a été réalisée par test ELISA, à l'aide de kits commerciaux (Bioreba AG-Switzerland, et Agritest-Italy).

L'utilisation prévue de ce dernier est la détection simultanée du virus du court-noué de la vigne (GFLV) et de Virus de la mosaïque Arabis (ArMV) dans les tissus de la vigne. Ce kit est principalement destiné à être utilisé dans les programmes de certification contre les maladies du complexe du court-noué.

1.5.1.1. Préparation des tampons

Tous les tampons (tampons d'extraction "broyage", tampons de coating, tampons de conjugaison, tampons de substrat, tampons de lavage) doivent être prêts avant de commencer le test ELISA. Le matériel utile comprend des barreaux d'agitation, de l'eau distillée, un cylindre de 1 litre propre et autoclavé, et un bécher de 1 litre (Tableau 8).

Tableau 8. Tampon de test ELISA

Tampon	Quantité (volume et masse)		
PBS 1L 10X (Quantité par 10 L ; pH 7.4)	NaCl	80g	
	KH ₂ PO ₄	2g	
	Na ₂ HPO ₄	11,5g	
	KCl	2g	
	Tween 20	5ml	
PBS 1X (Quantité par 1 L ; pH 7.4) Dans l'eau distillée	NaCl	8,0g	
	KH ₂ PO ₄	0,2g	
	Na ₂ HPO ₄	1,15g	
	KCl	0,2g	
TAMPON DE LAVAGE (pH 7.4) Dans PBS 1x		x 1L	x 500ml
	Tween 20	0,5ml	0,25ml
SENSIBILISER (pH 7.4) Dans l'eau distillée		x 1L	x 500ml
	Na ₂ CO ₃	1,59g	0,795g
	NaHCO ₃	2,93g	1,465g
TAMPONS D'EXTRACTION (pH 8.2) Dans l'eau distillée (ajuster le pH avec HCl)		x 1L	x500ml
	TRIS	24,3g	12,15g
	NaCl	8g	4g
	PVP MW 10000	8,3g	4,150g
	PEG MW 6000	10 g	5g
	Tween 20	0,5ml	0,25ml
CONJUGUE (pH 7.4) Dans PBS 1X		x 1L	x500ml
	PVP MW 10000	8,3g	4,150g
	Tween 20	0,5ml	0,25ml
SUBSTRAT (pH 9.8) Dans l'eau distillée (ajuster pH avec HCl)		x 1L	x500ml
	Diéthanolamine	97ml	48,5ml

1.5.1.2. Préparation des échantillons de bois

Les échantillons sont préparés, à l'aide d'un cutter, le bois est écorcé, et la partie verte est grattée jusqu'à ce que des copeaux soient produits, ensuite les copeaux sont pesés après le grattage du bâton sur une feuille d'aluminium.

Le tampon d'extraction est ensuite ajouté au tube à essai où les copeaux de bois existaient. Homogénéisez les échantillons en les mélangeant avec du tampon d'extraction. Ensuite, procédez à la dilution de l'extrait végétal dans le tampon d'extraction, suivant un ratio de 1 pour 20.

Nettoyez la surface de travail, la feuille d'aluminium, la balance, le cutter et les mains avec de l'alcool après chaque traitement d'échantillon. Les copeaux doivent être réfrigérés dans le tampon d'extraction pendant trois heures.

1.5.1.3. Coating : (sensibilisation des microplaques avec un anticorps spécifique) adsorption des anticorps spécifiques

- Les IgGs doivent être diluées dans le tampon de coating par un facteur de 1 :1000, soit 20 µl IgGs pour 20 ml de tampon de coating.
- Chaque puits doit recevoir 200 µl de la dilution.
- La plaque couverte avec du Parafilm ensuite la plaque doit être incubée à 30 °C pendant 4 h ou à 4 °C pendant la nuit.

Des résultats similaires sont obtenus avec une incubation plus courte de 2 heures et demie à 37 °C. Il est également possible d'incuber la plaque pendant la nuit à 4 °C. La conservation au réfrigérateur des plaques enduites est possible jusqu'à une semaine (plaques couvertes, avec un conservateur tel que NaN₃ dans le tampon).

- Laver la plaque trois fois, en utilisant 200 µl de tampon de lavage pour chaque puits. Ne commencez le lavage que lorsque l'étape suivante du protocole a été préparée.

Si le remplissage immédiat des puits après le lavage n'est pas réalisable, inverser la plaque et la déposer sur une serviette propre et humide. Une fois l'étape de « coating » et les lavages terminés, éliminez le liquide résiduel en tapotant la plaque sur du papier absorbant. Ensuite, la plaque peut être conservée à -20 °C dans un sac en plastique scellé pendant plusieurs semaines, (ce n'est pas possible après les autres étapes de la procédure). La plaque ne doit pas être décongelée et recongelée à plusieurs reprises.

1.5.1.4. Dépôt de l'antigène : incubation avec l'extrait de plante

- Homogénéiser les échantillons dans du tampon d'extraction (On dilue l'extrait végétal au 1/20 dans le tampon d'extraction).
- 200 µl d'extrait végétal doivent être ajoutés à chaque puits.
- Incuber la plaque à 4 °C pendant la nuit en la couvrant avec du Parafilm.
- Pour éliminer l'excès d'antigène, laver la plaque trois fois avec 200 µl de tampon de lavage par puits.

1.5.1.5. Conjugué : incubation avec des anticorps couplés à une enzyme (conjugate)

- 20 µl de conjugué dans 20 ml de tampon de conjugué est une dilution du conjugué au 1 :1000.
- Il faut ajouter 200 µl de la dilution dans chaque puits.
- La plaque couverte et incuber pendant 5 heures à 30 °C, une incubation plus courte de 2 h à 37 °C donne des résultats identiques.
- Laver la plaque trois fois, en utilisant 200 µl de tampon de lavage pour chaque puits.

1.5.1.6. Substrat : la réaction colorimétrique indique les échantillons positifs

- À une concentration finale de 1 mg/ml, dissoudre le substrat pNPP (para-Nitrophenylphosphate) dans le tampon de substrat.
- Ajouter 200 µl de la solution de substrat dans chaque puits.
- Incuber la plaque dans l'obscurité à température ambiante (20-25 °C).
- Après 30 à 120 minutes, observer l'évolution de la réaction colorimétrique visuellement ou à l'aide d'un lecteur d'absorbance réglé à 405 nm.

1.5.1.7. Lecture et interprétation des résultats

- La lecture se fait 2 heures après le chargement du substrat.
- La plaque est placée dans le plateau spécial du spectrophotomètre et on appuie sur start.
- Remettre à zéro le lecteur ELISA sur le blanc et lire les valeurs d'absorbance.
- Sur le reçu qui sort, écrivez le nom de la plaque et le temps de lecture.

La valeur d'absorbance de l'échantillon est comparée à une valeur seuil pour déterminer si le virus est présent ou non. Trois fois la valeur moyenne de l'absorbance du contrôle négatif peut être utilisée pour calculer la valeur seuil.

La valeur moyenne de l'absorbance du contrôle positif doit être au moins égale à la valeur seuil. Dans le cas contraire, le résultat doit être considéré avec scepticisme.

Informations générales

- Les microplaques certifiées Nunc Maxisorp F96 avec 200 µl par puits donnent les meilleurs résultats.
- Les tampons doivent être amenés à température ambiante avant utilisation.
- Le verre ou le polyéthylène (PE) doivent être les seuls matériaux utilisés pour les récipients de laboratoire.
- Remettre les IgG et les réactifs de conjugaison à 4 °C juste après le pipetage.
- Lorsque les puits des plaques ne sont pas tamponnés, les anticorps se dégradent, les puits doivent être remplis dans les dix minutes qui suivent chaque lavage.
- Le kit conseille de traiter chaque contrôle comme un échantillon et d'inclure un contrôle positif et un contrôle négatif sur chaque test.

Les contrôles positifs et négatifs du kit peuvent être utilisés comme points de repère pour (i) confirmer que le test a été effectué correctement, (ii) confirmer que les réactifs étaient actifs lorsqu'ils ont été préparés pour le test, (iii) établir le seuil du test.

Pour valider les résultats, il est recommandé de mettre en place un schéma de plaque comprenant :

- 2 puits de répétition de contrôle positif par test
- 2 puits de répétition de contrôle négatif par test
- 2 puits de répétition de blanc (sans antigène) par test
- Chaque échantillon doit être réparti sur 2 puits de répétition.

Il est conseillé d'être extrêmement précis lors de la distribution, de l'aspiration et de lavage, de vérifier la qualité des tampons (pureté, contamination, pH).

- De changer les embouts lors du prélèvement dans différents flacons ou sur différents échantillons.
- Évitez de toucher les composants du kit ELISA avec la peau.
- Utiliser une verrerie parfaitement propre pour la dilution du substrat et évitez d'utiliser des restes de produits provenant de kits précédents.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Évaluation et vérification de la pureté de l'ADN extrait

La méthode la plus courante pour déterminer la quantité d'acides nucléiques est la spectrophotométrie 1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA), qui mesure l'absorbance à 260 nm. En mesurant l'absorbance à 280 nm et à 230 nm, on détermine leur pureté.

Le rapport 260/280 permet d'identifier la contamination protéique des acides nucléiques. Pour l'ADN, il est compris entre 1,8 et 2,0. Le rapport 260/230 doit être compris entre 2,0 et 2,2. S'il est inférieur, cela signifie que des polluants sont détectés.

Les résultats de la mesure des concentrations d'ADN dans les 81 échantillons sont quelque peu convergés entre (12.5-130) ng / μ L avec une moyenne de 71.25 ng / μ L. La plupart des échantillons ont donné de l'ADN pur, à l'exception de certains cultivars contaminés par des protéines, cela peut être dû au fait que certains des échantillons étaient des adultes, et Sefc et *al.*, (2001) a déclaré que l'ADN était moins pur dans ces échantillons.

2.2. Analyse d'identification (génotypage)

L'amplification réussie de nombreux tissus (bois), pour les raisins de table et les porte greffes, par rapport aux méthodes existantes, la PCR multiplex directe que nous proposons est plus rapide, moins coûteuse et produit des résultats fiables. Cette analyse de devient ainsi plus suitable pour un plus grand nombre d'utilisateurs potentiels, en plus des institutions de recherche.

La taille des allèles (AS) est déterminée pour les cultivars en fonction de taille de chaque allèle utilisé en analysant et en identifiant les pics exprimant chaque allèle (Figure 10), afin que nous puissions le comparer par les bases de données et les recherches publiées. L'estimation de la taille des allèles facilite la création d'une base de données et la détection des profils identiques, qu'ils soient d'une même région ou de régions différentes.

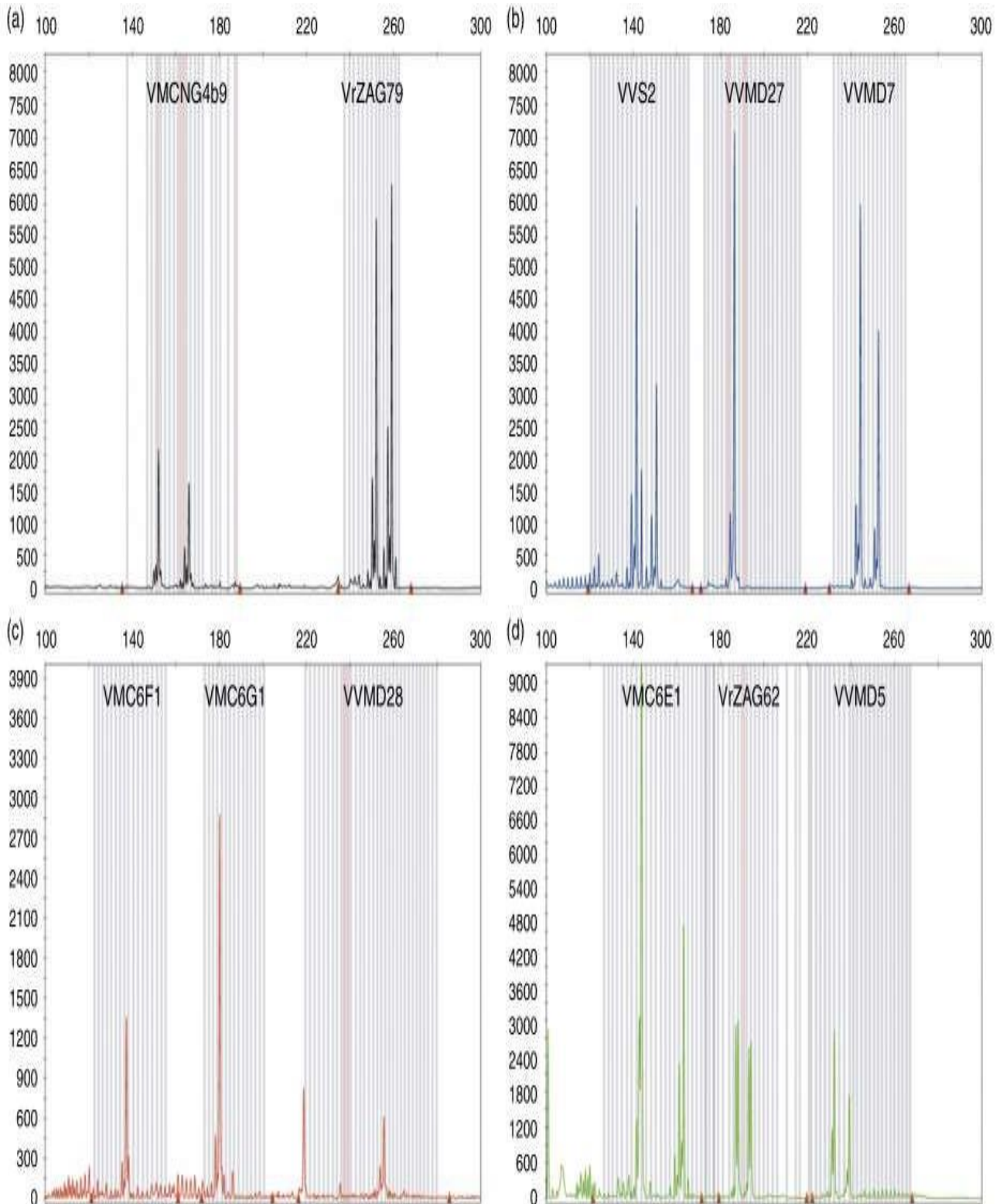


Figure 10. Exemple de profil moléculaire (électrophorégrammes) par PCR multiplex la méthodologie proposée par Migliaro et al., 2013.

Certaines formes d'électrophorégrammes obtenues avec deux pics représentant des allèles (SSR) pour l'échantillon Hétérozygote, quant à la couleur, elle dépend de fluorochromes utilisés (les amorces ont été marquées avec du 6-FAM, des fluorochromes NED, PET ou VIC).

- a) VMCNG4b9 et VrZAG79 (NED : Noir)
- b) VVS2, VVMD7 et VVMD27 (6-FAM : Bleu)
- c) VMC6G1 et VVMD28 (PET : Rouge)
- d) VMC6E1, VVMD25 et VrZAG62 (VIC : Vert)

L'analyse moléculaire de 81 échantillons conservés dans la collection de M'zej Edchiche a été réalisée (Tableau 9). Douze marqueurs SSR, englobant les neuf marqueurs de répétition de séquence simple recommandés par le projet Européen GrapeGen06, ont été utilisés pour examiner la diversité génétique des accessions. En comparant chaque profil SSR, une première indication de l'identité génétique a été obtenue sur la base du Vitis International Variety Catalogue (VIVC) (<http://www.vivc.de/>, 15 août 2021), la base de données moléculaires CREA-Viticulture et Œnologie.

Aujourd'hui, plus de 23000 espèces de *Vitis* provenant de la littérature sur la vigne sont inclus dans la base de données encyclopédique. Les chercheurs et les conservateurs de germoplasme peuvent y trouver des informations sur les marqueurs SSR, une bibliographie complète et des images.

En outre, il a été nécessaire d'utiliser des informations tirées de la littérature, des dossiers historiques pour une identification précise des cultivars et le soutien du Réseau Français des Conservatoires de Vigne (https://bioweb.supagro.inra.fr/collections_vigne/SearchS.php, 15 août 2021), pour aider à déterminer l'identité des accessions, des profils uniques, des synonymes, des duplication et erreurs de dénomination ont également été identifiés. Quarante trois génotypes uniques ont été trouvés (Tableau 10).

Tableau 9. Liste de 43 profils génétiques uniques obtenus à 12 loci SSR

ID de profil SSR	Nom de l'accession	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		VMC6E1		VMC6G1		VMCNG4b9	
1	RICHTER 110	137	143	234	268	231	257	241	267	189	205	223	237	238	255	195	213	242	258	129	133	177	183	160	172
2	PAULSEN 1103	137	147	236	236	233	257	241	254	203	207	245	255	236	261	195	213	250	262	129	133	177	179	160	163
3	RICHTER 99	137	149	236	236	231	261	241	251	191	207	223	239	236	261	195	209	250	262	129	133	177	177	160	166
4	CASTEL 196- 17	133	145	266	266	249	265	243	245	189	207	219	247	238	241	187	199	254	260	157	165	177	183	152	172
5	RUGGERI 140	137	143	246	268	231	257	241	267	189	205	237	245	236	253	195	213	242	258	129	133	177	177	160	172
6	COUDERC 3309	123	161	252	264	245	259	241	243	185	211	243	249	238	238	179	189	254	256	133	135	177	183	152	162
7	SO4	145	147	236	266	233	265	243	254	203	211	219	239	236	261	199	213	250	254	129	157	179	183	152	163
8	MILLARDET ET GRASSET 41 B	135	143	226	228	231	239	259	260	189	191	245	271	241	257	193	219	254	258	129	141	177	179	162	164
9	ADADI	133	145	226	236	243	243	243	259	179	194	247	249	257	273	187	187	246	248	137	169	177	187	158	172
10	MUSCAT DE BERKAIN	133	133	228	236	247	249	245	253	179	185	249	271	241	273	185	203	250	254	143	165	169	169	158	158
11	GHANEZ	133	137	234	236	233	251	259	259	183	194	247	251	263	273	199	203	250	256	143	151	187	191	158	166
12	BOGHNI	135	137	228	232	239	249	243	259	179	179	239	247	253	273	185	193	254	260	141	165	177	187	158	158
13	ITALIA	133	149	232	238	243	247	243	253	179	194	237	247	253	273	191	203	254	256	141	165	187	187	150	158
14	AIN EL COUMA	137	143	232	238	243	249	259	259	183	194	247	251	251	273	187	193	244	256	151	161	187	191	170	176
15	LEKHZINE	133	137	232	238	239	247	259	275	185	189	247	261	253	253	185	203	254	256	141	151	169	191	158	172
16	ALPHONSE LAVALLEE	133	135	226	238	249	255	243	259	185	185	247	247	253	273	185	203	238	250	141	165	187	193	158	176
17	ALVINA	133	145	234	238	249	253	243	243	185	194	247	247	251	253	185	187	250	258	141	143	193	193	138	158
18	BEZZOUL EL KHADEM	133	143	238	238	239	249	243	249	179	181	247	261	257	261	187	203	250	250	167	167	191	195	160	176
19	ANEB EL CADI	143	145	232	234	239	253	245	245	189	194	249	263	251	263	187	199	242	256	165	169	177	177	158	176
20	FARANA BLANC	143	145	228	240	239	243	245	259	179	194	251	261	251	271	185	187	250	256	141	169	177	187	172	176
21	TIZI OUININE	145	151	226	228	233	239	245	253	185	194	261	263	253	253	187	187	236	250	151	157	177	177	150	158

22	MUSCAT EL ADDA	133	133	226	228	247	251	245	253	179	185	271	271	263	265	191	203	250	254	141	143	169	177	150	158
23	AIN EL KELB	135	143	236	240	243	249	259	259	181	189	247	261	257	273	187	203	242	246	165	169	177	191	150	164
24	ABERKANE	137	137	236	240	233	253	259	259	183	194	239	263	253	263	195	199	256	258	143	165	177	191	166	170
25	FARANA NOIR	133	135	238	240	249	249	243	245	194	194	237	263	253	273	193	203	256	256	141	165	191	191	176	176
26	AMOKRANE	137	155	226	240	239	249	249	259	179	194	247	261	257	263	187	203	242	256	143	165	187	187	150	158
27	AHMAR DE MASCARA	135	147	232	238	239	249	259	271	183	194	251	257	253	257	191	203	246	256	165	169	179	193	150	150
28	BOUNI	137	149	226	246	239	249	253	259	185	194	237	247	273	273	187	203	250	256	141	169	187	195	138	160
29	DATTIER DE BEYROUTH	133	135	226	232	239	249	253	259	185	185	237	261	259	273	185	187	242	250	143	167	177	191	150	158
30	HALAWANI	145	151	232	240	239	251	243	253	194	194	251	261	251	257	191	203	250	256	167	169	169	177	158	166
31	DONA MARIA	135	149	226	228	239	251	253	259	185	194	237	271	259	265	187	203	246	250	143	167	169	177	158	158
32	OUL B'OUZGUEUR	137	143	238	240	249	253	245	259	183	194	261	263	253	263	199	203	256	258	141	165	187	191	158	166
33	CARDINAL	135	135	226	236	249	249	259	259	179	185	247	271	253	273	185	185	250	254	143	165	177	193	158	176
34	LOUALI	133	137	236	240	233	253	245	259	183	185	261	263	253	253	199	203	236	258	141	157	187	191	158	170
35	CHASSELAS	133	143	228	236	239	247	245	259	185	189	221	271	241	241	193	203	250	258	141	165	169	177	158	162
36	BOUABER DES AURES	133	143	232	232	233	249	243	249	191	194	247	261	251	273	203	203	246	246	141	143	169	193	150	160
37	MUSCAT DE HAMBOURG	135	149	232	238	247	249	253	259	179	185	239	247	273	273	185	191	238	254	141	161	169	187	158	158
38	SULIMA	133	145	226	234	247	253	243	253	179	194	221	255	251	257	187	203	254	258	137	143	193	193	158	158
39	MUSCAT DE FANDOUK I	133	149	228	232	249	251	253	253	179	194	247	271	265	273	185	203	246	254	141	143	169	195	158	158
40	TOUSTAIN	133	133	226	236	239	263	245	245	179	185	237	247	253	257	193	195	242	258	143	165	177	197	158	168
41	CHRISTMAS ROSE	133	151	236	236	239	249	243	253	181	194	247	261	251	273	187	203	258	258	169	169	187	191	138	160
42	TADELITH	133	143	226	226	239	253	243	245	179	183	251	261	253	257	187	199	244	248	141	157	177	187	158	172
43	AHMAR MECHTRAS II	143	149	226	232	243	253	249	249	181	194	247	261	257	275	187	187	258	258	141	153	169	177	138	164

Tableau 10. Une liste de 81 accessions organisée en fonction du génotype.
 Origine, couleur des baies, nom principal (Correspondance par SSR), numéro d'identification (profil SSR), ainsi que la Vitis International Variety Code catalogue.

Nom de l'accession	Origine	Couleur de baies	Correspondance de SSR	Numéro de profil SSR	VIVC Code
Richter 110 Clone (06,139, 140, 151) Inconnue 01	France	-	Richter 110	1	10065
Paulsen 1103 Clone (112, 113, 768) Inconnue 02 Inconnue 03	Italie	-	Paulsen 1103	2	9023
Richter 99 Clone (96, 179) Inconnue 04	France	-	Richter 99	3	10064
Riparia Gloire de Montpellier	France	-	Castel 196- 17	4	2170
Ruggeri 140 Clone (101 200, 265) Inconnue 05 Inconnue 06	Italie	-	Ruggeri 140	5	10351
Couderc 3309 Clone (111)	France	-	Couderc 3309	6	3160
SO4 Clone (05,102)	Allemagne	-	SO4	7	11473
Millardet et Grasset 41B Clone (153, 194, 195)	France	-	Millardet et Grasset 41B	8	7736
Adadi	Algérie	Blanc	Abadi	9	24154
Muscat de Berkain	Algérie	Blanc	Muscat fleur d'orange	10	8221
Ghanez	Algérie	Blanc	Ohanes	11	8716
Boghni	Algérie	Blanc	Bogni 15	12	1514
Italia	Italie	Blanc	Italia	13	5582
Aïn el Couma	Algérie	Blanc	Aïn el Bouma	14	17384

Lekhazine Ahchichene Adari des Bibans	Algérie	Blanc	Agourane	15	110
Alphonse Lavallée	France	Noir	Alphonse Lavallée	16	349
Alvina	France	Noir	Alvina	17	16384
Bezzoul el Khadem	Algérie	Noir	Bezzoul el Khadem D'Algérie	18	24150
Aneb el Cadi	Algérie	Blanc	Ahmed	19	135
Farana Blanc Farana de Mascara Cherchelli Sbaa Tolba	Algérie	Blanc	Planta Fina	20	9542
Tizi Ouinine	Algérie	Blanc	Tizi Ouinine	21	24558
Muscat el Adda	Algérie	Noir	Moscato d'adda	22	8050
Aïn el Kelb Valenci Blanc	Algérie Espagne	Blanc	Beba	23	22710
Aberkane Corrin Seedless	Algérie Amérique	Noir	Aberkane	24	13
Farana Noir Valenci Noir Sultanine	Algérie Espagne Turquie	Noir	Taferielt	25	12196
Amokrane Amellal Ahmed draa el Mizén Muscat Noir	Algérie Algérie Algérie France	Blanc	Amokrane	26	431
Ahmar de Mascara Ahmeur Bou Ahmeur	Algérie Algérie	Rouge	Ahmeur Bou Ahmeur	27	140
Bouni	Algérie	Blanc	Dominga	28	4985
Dattier de Beyrouth	Liban	Blanc	Afus Ali	29	122
Halawani	Turquie	Rouge	Verigo	30	4752
Dona Maria	Portugal	Blanc	Dona Maria	31	3641
Lakhdari	Algérie	Blanc	Oul b'Ouzgueur	32	8844

Cardinal	Amérique	Rouge	Cardinal	33	2091
Louali Torki Tinesrine	Algérie	Blanc	Louali	34	24613
Chasselas	France	Blanc	Chasselas Blanc	35	2473
Bouaber des Aures Kabyle Aldebert	Algérie	Noir	Kabyle Aldebert	36	22896
Muscat de Hambourg	Royaume-Uni	Noir	Muscat Hamburg	37	8226
Sulima	France	Blanc	Sulima	38	13723
Muscat de Fandouk 1 Centennial Muscat de Fandouk 2 El Wali Muscat d'Alexandrie	Algérie Amérique Algérie Algérie Grèce	Blanc	Muscat of Alexandria	39	8241
Toustain	Algérie	Noir	Sangiovese	40	10680
Christmas Rose	Amérique	Rouge	Christmas Rose	41	2624
Tadelith	Algérie	Noir	Cherchell Noir	42	14827
Ahmar Mechtras II <u>A</u> hmar Mechtras III	Algérie	Rouge	Fraoula Aspri	43	17275

2.2.1. La validation des synonymes décrits dans les références précédentes

L'analyse par SSR a permis de valider des synonymies décrits dans des références antérieures comme Ahmar Mechtras II et Ahmar Mechtras III (Bounab et Laiadi, 2019), qui est l'un des cépages menacés aujourd'hui, maintenu dans deux collections de germoplasme, M'zej Edchiche de Skikda et Teghennif de Mascara dans le Nord-Ouest de l'Algérie; Bouaber des Aures et Kabyle Aldebert; Farana Blanc et Farana de Mascara; Ahmar de Mascara et Ahmeur Bou Ahmeur; Lekhzine, Ahchichene et Adari des Bibans (Laiadi et *al.* , 2009;

Zinelabidine et *al.*, 2014). Ces trois derniers génotypes se sont combinés avec le même profil SSR que Agourane, qui se trouve dans la collection de germoplasme de l'Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, conservée à la collection germoplasme de l'INRA de Vassal, France, et considérée comme étant d'origine Algérienne.

2.2.2. Les synonymes supplémentaires détectés

Des synonymes supplémentaires ont été démontrés pour les cultivars Ahmed draa el Mizen et Amellal qui partagent le même génotype d'Amokrane de la collection germoplasme de l'Université Mouloud Mammeri.

Le profil génétique de Aïn el Couma a montré un profil SSR légèrement différent de celui de Aïn el Bouma, comme indiqué précédemment par Laiadi et *al.*, (2009). Aïn el Couma a montré des profils microsatellites identiques à Aïn el Bouma comme mentionné précédemment par Riahi et *al.* (2010), ce qui prouve qu'il s'agit de synonymes. Dans la présente étude, les résultats de l'analyse SSR ont confirmé les résultats décrits par Zinelabidine et *al.*, (2014) en utilisant l'analyse génotypique (SNP) ; marqueurs de polymorphisme à un seul nucléotide dans la même collection de germoplasme.

Selon Lacombe et *al.*, (2013), Aïn el Bouma (Algérie) est le résultat d'un croisement entre 'Olivette Blanche' (France) et 'Trebiano Toscano' (Italie) (score LOD = 32,60, 20/20 loci), déjà trouvé à l'aide de 20 SSR confirmant cette relation. La variété cultivée n'est pas directement issue des populations de la même région, mais correspond plus probablement à des vignes importées introduites au cours de l'histoire ou développées à partir de croisements entre elles (Riahi et *al.*, 2012), étant donné qu'il y avait un commerce bilatéral entre l'Europe et l'Afrique du Nord à cette époque (El Oualkadi et *al.*, 2011).

Dans la présente étude, Lakhdari correspond à Oul b'Ouzguez analysé par les auteurs précédents (Riahi et *al.*, 2010 ; El Oualkadi et *al.*, 2011), tandis que Laiadi et *al.*, (2009) ont trouvé que le profil SSR de Lakhdari montrait des profils microsatellites identiques à la variété Italienne traditionnelle Sangiovese (Crespan et Milani, 2001 ; Vouillamoz et *al.*, 2007). Dans ce travail, Toustain s'est avéré avoir le même génotype que Sangiovese et confirme les résultats précédemment rapportés par Staraz et *al.*, (2007). Ceci suggère que la propagation des activités commerciales entre l'Algérie et d'autres pays, impliquait l'Italie.

2.2.3. Les anciens synonymes non prouvés

Nous avons découvert qu'après avoir étudié tous les échantillons de la variété blanche Adadi, ils ne partageaient pas le même profil SSR que l'Aberkane (variété noire), ils ne sont donc pas synonymes. Cependant, au cours de l'enquête, nous avons trouvé un profil individuel d'Aberkane (inter-rang) et cela peut expliquer l'une des causes de la couleur différente des baies Adadi et Aberkane précédemment proposée comme variants somatiques (Laiadi et *al.*, 2009). Cette dissimilarité se retrouve également dans l'étude décrite par (Bounab et Laiadi, 2019) sur le même cultivar en utilisant le coefficient de similarité de Jaccard pour chaque descripteur (108). Adadi a montré des profils microsatellites identiques à Abadi, un cultivar Algérien classique (Riahi et *al.*, 2010). Aberkane a été trouvé dans la collection de vigne située à la station expérimentale de Teghennif (Mascara) dans le Nord-Ouest de l'Algérie avec le même profil SSR. Abadi a été cultivé dans la collection de germoplasme de l'Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou.

Amokrane est le cultivar le plus apprécié en Algérie. Pendant la colonisation Française de l'Algérie dans les années 1950, Amokrane a été collecté dans différentes régions d'Algérie et de Kabylie, ce dernier étant conservé sous l'ID d'accession 2030MtpMM et placé à l'INRA Domaine de Vassal, Montpellier, à la même époque. Il a été collecté en France sous le nom de Aïn Amokrane et son existence est due à " l'échange de richesses " de l'époque. Selon Larnaud (1948), les premiers vignobles ont été plantés dans la colonie Française d'Algérie vers 1830.

En 2008, il a été sauvegardé et inclus à l'INRA Domaine de Vassal, Montpellier sous le nom d'Amokrane Draa Mizen du Tizi Ouzou (des informations supplémentaires sont disponibles sur la base de données du réseau Français des dépôts de la vigne (https://bioweb.supagro.inra.fr/collections_vigne/SearchS.php, 15 août 2021), tandis que Riahi et *al.*, (2010) et El Oualkadi et *al.*, (2011) l'ont étudié à l'INRA Domaine de Vassal. La seule différence était la couleur blanche des baies, mentionnée par Riahi et *al.*, (2010), alors qu'elle était noire pour El Oualkadi et *al.*, (2011). Après confirmation de l'origine de la source, il s'avère qu'elle est blanche, comme expliqué dans l'histoire de la variété. Il a été montré qu'elle ne présente pas le même profil SSR que la variété Amokrane de la collection de germoplasme (Laiadi et *al.*, 2009). Dans le présent travail, toutes les accessions d'Amokrane ont été identifiées et toutes correspondent à Louali. Ceci explique que les résultats rapportés par Laiadi et *al.*, (2009) soient dus à une erreur de plantation de cette variété dans la collection de germoplasme; par conséquent, elle n'est pas un synonyme de Louali.

2.2.4. Les profils génétiques similaires à ceux déjà enregistrés sous leurs noms particuliers

Trente variétés ont présenté des profils génétiques similaires à ceux déjà enregistrés sous leurs noms particuliers tels que; Muscat de Berkain, Muscat d'Alexandrie, Boghni, Italia, Alphonse Lavallée, Alvina, Bezzoul el Khadem, Valenci Blanc, Aneb el Cadi, Tizi Ouinine, Muscat el Adda, Aïn el Kelb, Bouni, Christmas Rose, Dattier de Beyrouth, Halawani, Dona Maria, Cardinal, Chasselas, Muscat de Hambourg, Sulima, Louali, Toustain, Millardet et Grasset 41B, Richter 99, Couderc 3309, Richter 110, Paulsen 1103, SO4 et Ruggeri 140.

2.2.5. Certaines acquisitions incorrectes dans la collection et nécessitent une correction

Les erreurs d'identification variétale sont souvent le résultat d'erreurs de culture et sont fréquentes dans les collections de germoplasme (Emanuelli et *al.*, 2013), peut être en raison de l'introduction d'une variété similaire sous différents noms provenant de différents donateurs. Le profil SSR de Farana Noir était le même profil SSR que celui de Taferielt une variété Marocaine, comme décrit précédemment par Zinelabidine et *al.*, (2014) et Rahali et *al.*, (2019).

En outre, ce génotype est couramment cultivé dans la zone Méditerranéenne sous différents noms comme " Akhal Meguergueb ", une variété Tunisienne décrite comme étant principalement cultivée en Algérie et catégorisée comme une variété Algérienne (Galet, 2000 ; Laiadi et *al.*, 2009 ; Zinelabidine et *al.*, 2014 ; Rahali et *al.*, 2019). Cependant, le génotype de Farana Noir ne correspondait pas à celui de Farana Noir décrit par Laiadi et *al.*, (2009), qui correspond à Oul b'Ouzgueur analysé par Riahi et *al.* (2010) et El Oualkadi et *al.*, (2011). Bien que les études précédentes (Laiadi et *al.*, 2009 ; Zinelabidine et *al.*, 2014) aient été réalisées sur la même plante conservée dans la même collection, il y a un certain mélange dans la culture de cette variété également, ce qui explique la différence dans leurs génotypes respectifs.

Plusieurs variétés conservées dans la collection de Mascara 'Teghennif' dans le Nord-Ouest de l'Algérie ont été répliquées et transférées au germoplasme de Skikda, notamment Tadelith, Ghanez et Sbaa Tolba, pour créer une autre collection dans la zone du Nord-Est Algérien. Dans la présente étude, le profil SSR de Ghanez correspondait à Ohanes et était comparable à celui obtenu par Zinelabidine et *al.*, (2014) en utilisant un SNP et confirmé par Laiadi et *al.*, (2019) pour l'existence de deux génotypes pour le même nom, comme

homonymes. Le dernier génotype analysé par Laiadi et *al.*, (2009) n'a pas été retrouvé dans cette étude sauf pour Ohanes qui est resté dans cette rangée.

L'analyse des marqueurs microsatellites de toutes les accessions de Tadelith a révélé que deux génotypes différents, le premier et l'original de cette variété, étaient identiques à Laiadi et *al.*, (2009), et avaient un profil moléculaire similaire à Cherchali conservé dans la collection de germoplasme de Vassal (France) obtenu par des études ultérieures (Riahi et *al.*, 2010) et ce dernier n'est pas Cherchelli avec un E et un double L, comme mentionné par Laiadi et *al.*, (2009). Le VIVC classe les deux variétés comme blanches et bien que leurs généalogies soient distinctes, ce qui est différencié par l'analyse des marqueurs SSR en raison des profils de génotype distingués ; la seconde pour Ohanes, comme indiqué précédemment par Zinelabidine et *al.*, (2014) sous le nom de Tadelith. Sachant que les deux ont des raisins de couleur différente, donc sont considérés comme des variétés différentes (Zinelabidine et *al.*, 2014), cela confirme l'existence de mélanges lors de la plantation de ce cultivar.

L'accession Farana de Mascara s'est révélée être synonyme du cultivar Farana Blanc dans les études précédentes de Laiadi et *al.*, (2009) et Zinelabidine et *al.*, (2014). Dans ce travail, tous les marqueurs SSR des deux derniers profils correspondaient à Cherchelli, comme indiqué précédemment par Zinelabidine et *al.*, (2014) en utilisant l'analyse SNP et confirmé par une correspondance morphologique significative en utilisant un total de (108) descripteurs (Bounab et Laiadi, 2019), tandis que le profil SSR de Cherchelli analysé par Laiadi et *al.*, (2009) a montré une légère différence au niveau de deux allèles avec VVS2 et VVMD5.

Les trois derniers profils ont le même profil moléculaire que Sbaa Tolba, ce qui est confirmé par Zinelabidine et *al.*, (2014) et la morphologie convergente (Bounab et Laiadi, 2019). Cette variété est différente de Sbaa Tolba qui a été analysée par Laiadi et *al.*, (2009), qui correspond à Sulima (Vitis International Variety Catalogue, VIVC : <http://www.vivc.de/> ; la base de données moléculaires CREA-Viticulture et Œnologie) et Morsi (Jiménez et *al.*, 2019 et Gago et *al.*, 2022), indiquent qu'il s'agit d'un cas de mauvais étiquetage.

Alors que le génotype original de Sbaa Tolba existe probablement encore dans la collection originale de 'Teghennif' (mascara) (Laiadi et *al.*, 2019), il a été démontré que ce dernier n'est pas lié au génotype maintenu dans Mzej Edchiche (Skikda), indiquant un cas d'étiquetage erroné de Sbaa Tolba au moment de l'introduction. Des erreurs se sont produites lors de l'obtention de ces échantillons, et le profil moléculaire correspondant a été planté sous plusieurs noms.

Dans cette étude, neuf accessions mal nommées ont été identifiées en analysant les profils génétiques obtenus avec les informations de la littérature et des bases de données ; il s'agit du Muscat de Fandouk 2, du Valenci Noir, de la Sultanine, du Muscat Noir, du Torki, de la Tinesrine, de l'El Wali, du Centennial et du Corrin Seedless.

2.2.6. Les erreurs détectées au niveau des porte greffes

Cette étude a également inclus quelques porte greffes pour leur importance dans la culture et la protection des cépages. Deux cas d'accessions mal nommées ont été identifiés en vérifiant les profils génétiques obtenus avec les informations accessibles dans la littérature et les bases de données ; le profil SSR de Ruggeri 140 (clone 101) correspondait à l'accession Millardet et Grasset 41 B et le profil génotype de "Riparia Gloire de Montpellier" correspondait à Castel 196-17.

Une identification précise est fondamentale pour optimiser la conservation et l'utilisation du germoplasme dans les programmes de sélection actuels. Il est important d'identifier l'existence de synonymes et des erreurs de dénomination pour éviter les problèmes actuels de sélection et de propagation (Schuck et *al.*, 2011). Les influences environnementales ont un impact significatif sur les caractéristiques morphologiques, tandis que les marqueurs SSR sont très efficaces au niveau de la plante car ils peuvent être utilisés pour différencier facilement des variétés distinctes et pour évaluer la diversité génétique. Cependant, les marqueurs SSR sont moins efficaces pour discriminer les clones (Laucou et *al.*, 2011). Les résultats de l'analyse moléculaire ne doivent pas remplacer les observations ampélographiques mais doivent vraiment les inclure dans ces observations principalement pour identifier les mutations somatiques (De Oliveira et *al.*, 2020).

2.3. Résultats statistiques

2.3.1 Évaluation de la diversité génétique

Les paramètres génétiques obtenus dans douze marqueurs SSR pour quarante trois génotypes distincts (Tableau 11). Résultats statistiques pour 12 marqueurs microsatellites utilisés dans la présente étude, à savoir le nombre effectif d'allèles (N_e), le nombre observé d'allèles (N_a), l'hétérozygotie attendue (H_e), l'hétérozygotie observée (H_o), la fréquence de l'allèle nul F , l'indice d'information de Shannon (I), Hardy–Weinberg equilibrium (HW), la probabilité d'identité (PI) et la probabilité que deux individus frères sélectionnés au hasard dans une population aient le même génotype multilocus (PID SIBS).

Tableau 11. Paramètres de diversité génétique en basant sur 12 marqueurs SSR pour les 43 géotypes obtenus.

Locus	Na	Ne	Ho	He	I	HW	F (Nul)	PI	PID SIBS
VVS2	11	6	0,884	0,842	2,029	***	-0,049	4,3E-02	3,4E-01
VVMD5	12	8	0,837	0,870	2,174	***	0,038	3,2E-02	3,2E-01
VVMD7	15	8	0,930	0,865	2,298	***	-0,076	2,9E-02	3,2E-01
VVMD25	12	6	0,767	0,823	1,967	*	0,068	5,1E-02	3,5E-01
VVMD27	11	6	0,884	0,837	2,051	***	-0,055	4,4E-02	3,4E-01
VVMD28	15	8	0,930	0,872	2,335	*	-0,067	2,8E-02	3,2E-01
VVMD32	14	8	0,837	0,870	2,288	***	0,038	2,9E-02	3,2E-01
VrZAG62	12	6	0,884	0,840	2,041	***	-0,052	4,4E-02	3,4E-01
VrZAG79	12	7	0,884	0,860	2,161	NS	-0,028	3,4E-02	3,3E-01
VMC6E1	13	8	0,953	0,873	2,270	***	-0,092	2,7E-02	3,2E-01
VMC6G1	9	5	0,767	0,817	1,866	NS	0,060	5,9E-02	3,6E-01
VMCNG4b9	13	6	0,814	0,832	2,142	NS	0,022	4,3E-02	3,5E-01
Mean	12,42	6,82	0,864	0,85					
Sum	149	81,8							
Cumulative								7,35 E-18	

2.3.1.1. Le nombre effectif d'allèles

La diversité génétique au sein de la collection de 81 accessions de vigne a été évaluée par 12 marqueurs nucléaires. Le haut degré de variabilité génétique parmi les 81 cultivars est prouvé par le nombre élevé (149) d'allèles différents aux 12 loci SSR analysés. Le nombre d'allèles par locus SSR variait de 09 pour VMC6G1 à 15 pour VVMD7 et VVMD28, le nombre moyen d'allèles par locus étant de 12,41 (Tableau 11) (voir annexe F). Le locus le plus informatif était VMC6E1 avec (Ne=8) allèles effectifs avec la plus faible probabilité d'identité (PI= 0,027), tandis que le moins informatif était VMC6G1 (Ne=5) avec plus forte probabilité d'identité (PI=0. 059).

2.3.1.2. La probabilité d'identité (PI)

On a détecté six marqueurs (VVS2, VVMD25, VVMD27, VrZAG62, VMC6G1 et VMCNG4b9) proches de la valeur de PI=0,050 à laquelle un microsatellite de la vigne est considéré comme hyperpolymorphe, ce qui correspond à une probabilité de 5 % de partage du génotype entre des cultivars non apparentés (Sefc et al., 2001), De toute évidence, la probabilité d'identité de la plupart des loci ont des valeurs légèrement variables, dont la plus élevée était VMC6G1 (0,059) et la plus faible était en VMC6E1 (0.027) (Figure 11).

L'PI cumulative ou probabilité d'obtenir des individus avec un profil identique aux 12 loci a été estimée à $7,35E-18$, ce qui indique une très faible probabilité que deux variétés différentes partagent le même génotype, cette valeur de PI étant supérieure à celle de la Bulgarie 1.2×10^{-8} (Hvarleva et al., 2004), en Espagne 9.9×10^{-12} (Ibáñez et al., 2003) et en Ombrie du Sud (Italie centrale) $1,6 \times 10^{-15}$ (Zombaro et al., 2021).

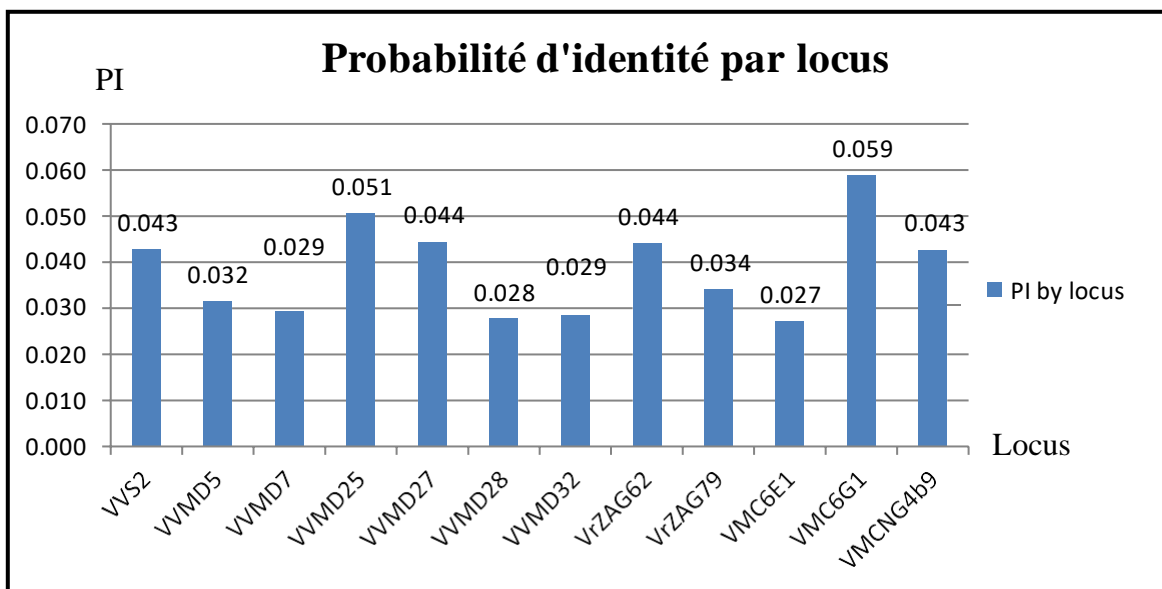


Figure 11. La probabilité d'identité de 12 marqueurs SSR pour 43 génotypes

2.3.1.3. La probabilité d'identité (PI) pour Combinaisons croissantes

Les valeurs de la probabilité d'identité (PI) pour Combinaisons croissantes (Probability of Identity (PI) for Increasing Combinations) sont présentées dans le Tableau 12. Elle est également illustrée à la Figure 12.

Tableau 12. Les valeurs de la probabilité d'identité (PI) pour Combinaisons croissantes.

PI for Increasing Locus Combinations	Pi
n	43
VVS2	0,0427
VVS2+VVMD5	0,0014
VVS2+VVMD5+VVMD7	4E-05
VVS2+VVMD5+VVMD7+VVMD25	2E-06
VVS2+VVMD5+VVMD7+VVMD25+VVMD27	9E-08
VVS2+VVMD5+VVMD7+VVMD25+VVMD27+VVMD28	2E-09
VVS2+VVMD5+VVMD7+VVMD25+VVMD27+VVMD28+VVMD32	7E-11
VVS2+VVMD5+VVMD7+VVMD25+VVMD27+VVMD28+VVMD32+VrZAG62	3E-12
VVS2+VVMD5+VVMD7+VVMD25+VVMD27+VVMD28+VVMD32+VrZAG62+VrZAG79	1E-13
VVS2+VVMD5+VVMD7+VVMD25+VVMD27+VVMD28+VVMD32+VrZAG62+VrZAG79+VMC6E1	3E-15
VVS2+VVMD5+VVMD7+VVMD25+VVMD27+VVMD28+VVMD32+VrZAG62+VrZAG79+VMC6E1+VMC6G1	2E-16
VVS2+VVMD5+VVMD7+VVMD25+VVMD27+VVMD28+VVMD32+VrZAG62+VrZAG79+VMC6E1+VMC6G1+VMCNG4b9	7E-18

La probabilité d'identité (PI) pour combinaisons croissantes, entre les loci commence à partir deux loci (VVS2, VVMD5) avec une valeur de 0,0013540756701562 puis diminue à chaque fois avec l'ajout d'un nouveau locus, cumulativement, jusqu'à son maximum valeur, qui est une très petite valeur (7,356458438432E-18).

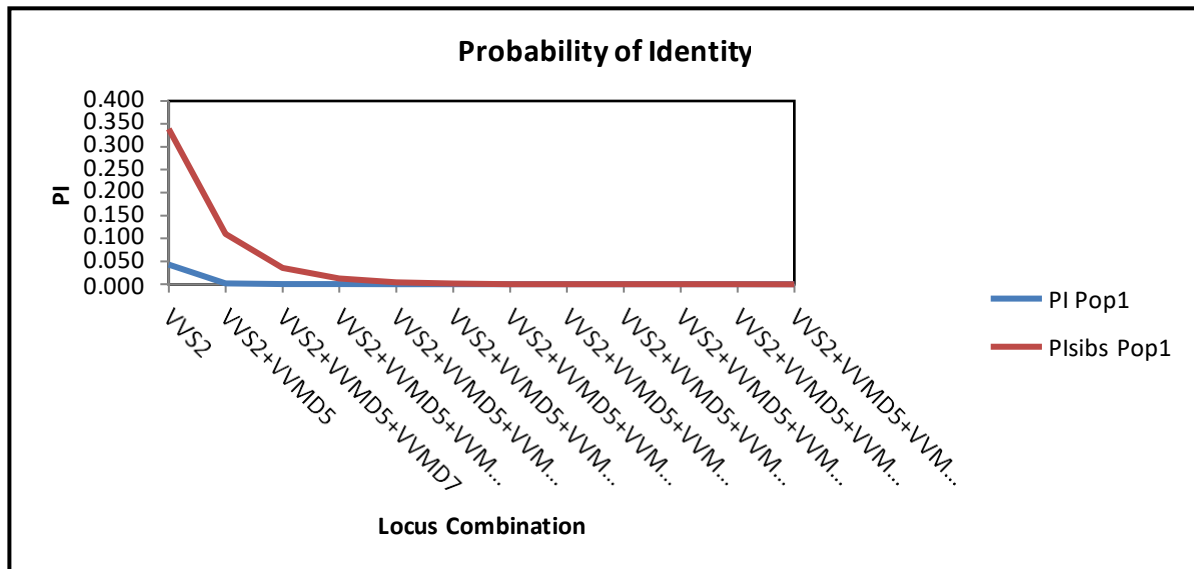


Figure 12. La probabilité d'identité (PI) pour Combinaisons croissantes (Probability of Identity(PI) for Increasing Combinations).

Pour évaluer le pouvoir de différenciation des marqueurs SSR, le PID SIBS a été calculé, qui a été défini comme la probabilité que deux individus frères sélectionnés au hasard dans une population aient le même génotype multilocus, Les valeurs de PID SIBS de la plupart des loci ont des valeurs convergentes, dont la plus élevée était VMC6G1 (3,6 E-01) et la plus faible était (3,2 E-01) pour VVMD5, VVMD7, VVMD28, VVMD32 et VMC6E1, a travers les 12 loci, PI et PID SIBS sont extraordinairement bas, ce qui a permis de classer les marqueurs comme efficaces pour discriminer les variétés analysées et très informatifs pour prouver la diversité génétique entre les variétés de vigne étudiées.

2.3.1.4. Les fréquences alléliques (AF)

La taille des allèles (AS) (Allele Size) et les fréquences alléliques (AF) (Allele Frequency) pour chacun des microsatellites sont présentées dans le Tableau 13.

Pour les neuf marqueurs microsatellites polymorphes proposés par GrapeGen 06, les allèles les plus fréquents ont été déterminés : VVS2 (133, 137 bp), VVMD5 (226, 236 bp), VVMD7 (239, 249 bp), VVMD25 (243, 259 bp) VVMD27 (185, 194 bp), VVMD28 (247, 261 bp), VVMD32 (253, 273 bp), VrZAG62 (187, 203 bp), et pour VrZAG79 (250, 256 bp) Figures (13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21).

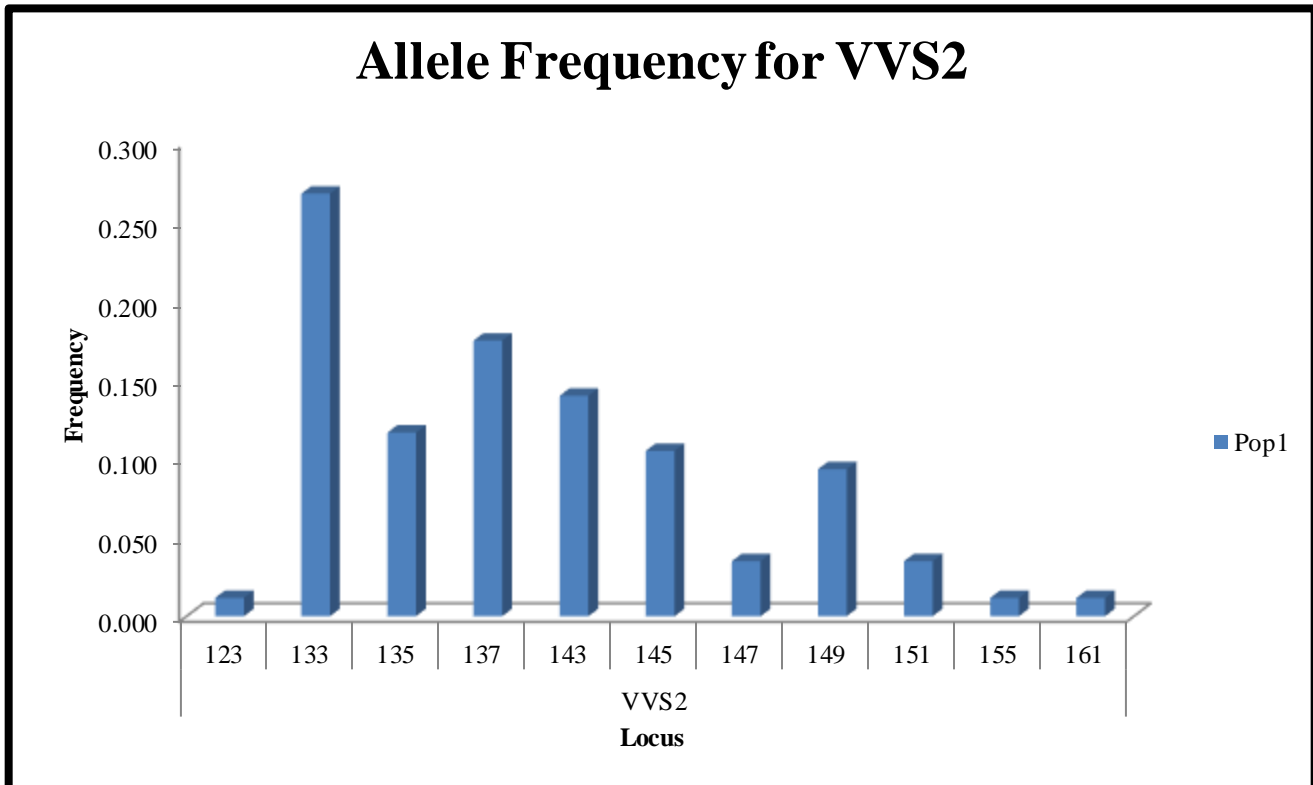


Figure 13. Fréquence allélique pour VVS2

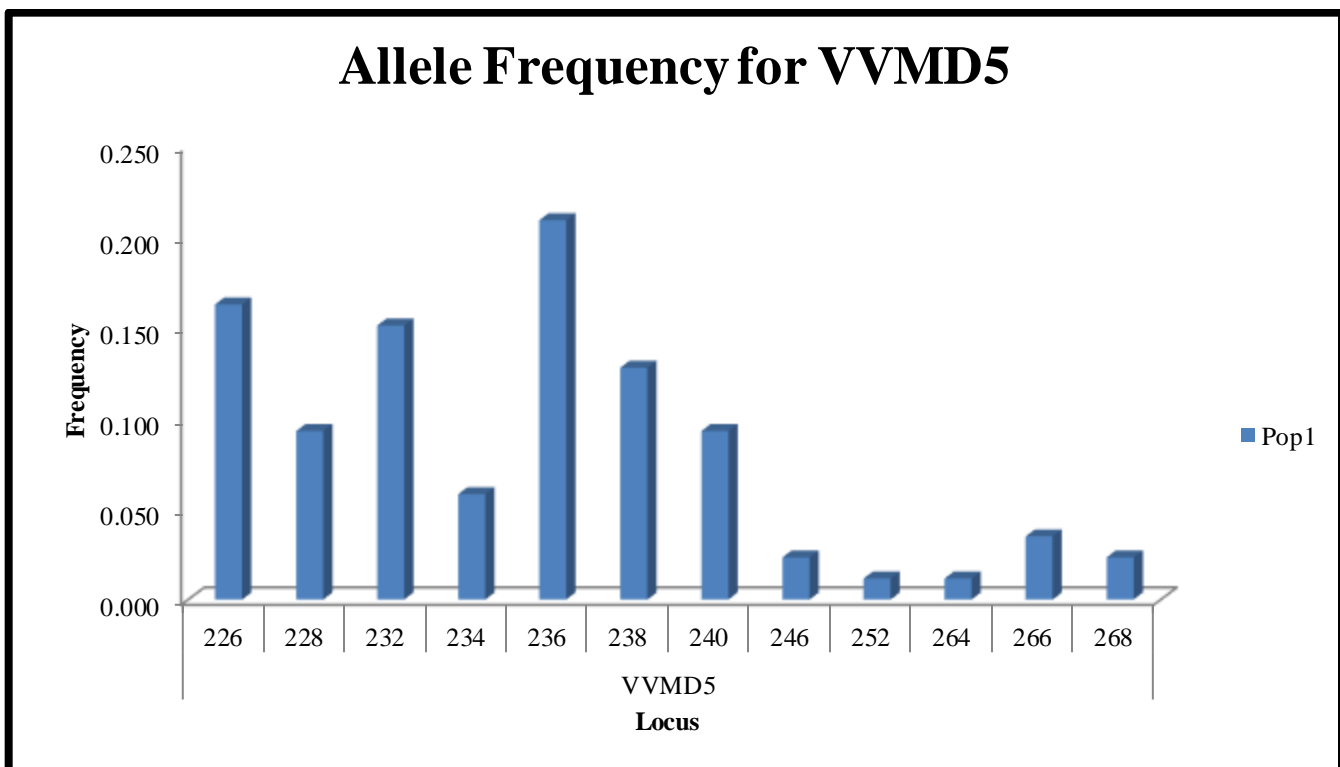


Figure 14. Fréquence allélique pour VVMD5

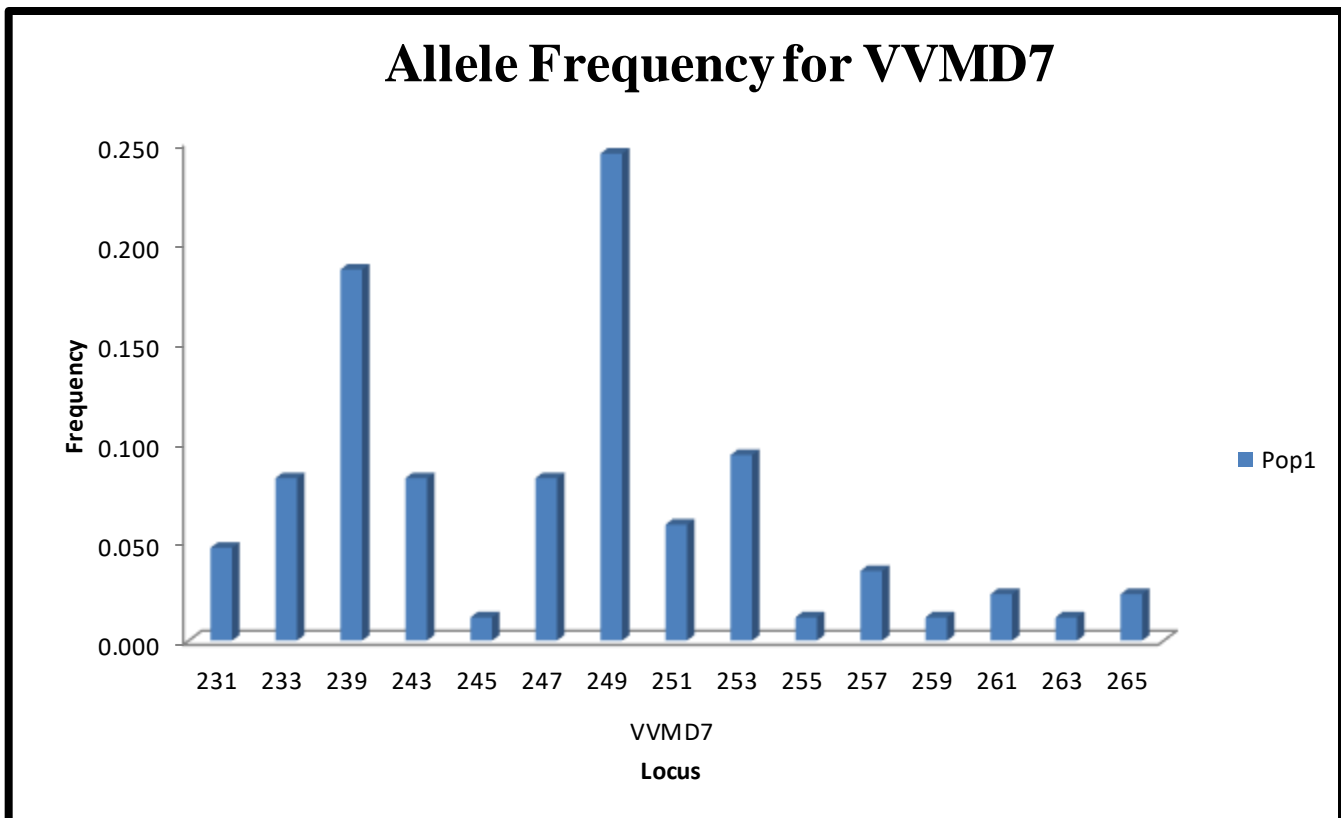


Figure 15. Fréquence allélique pour VVMD7

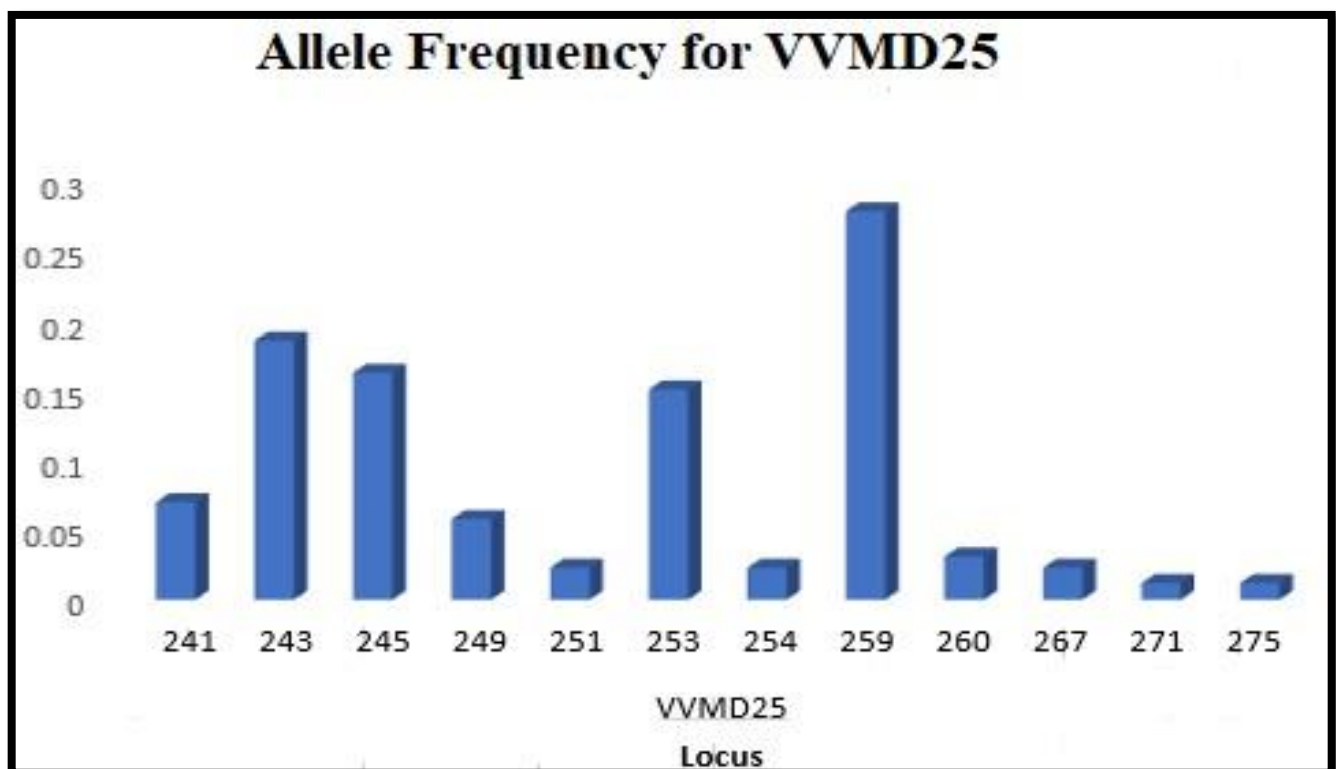


Figure 16. Fréquence allélique pour VVMD25

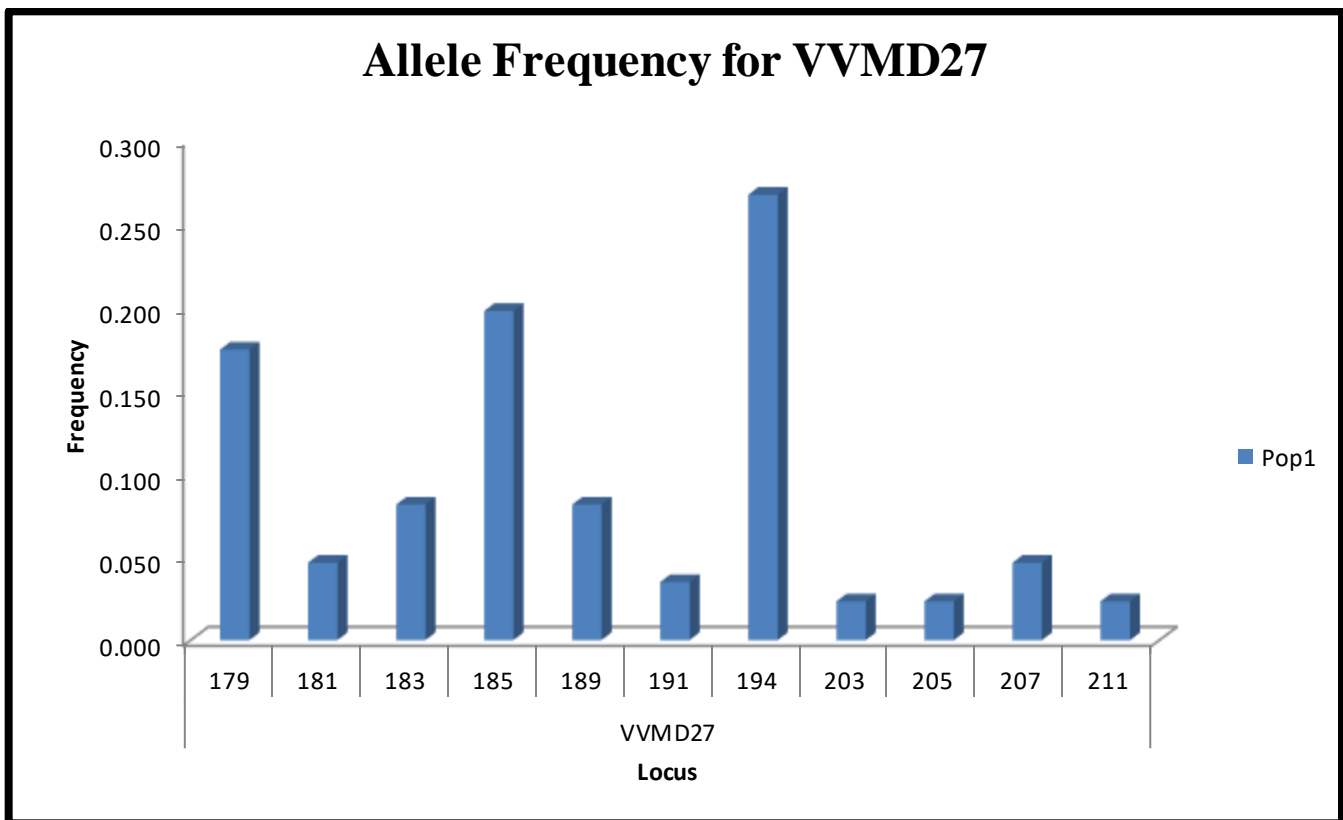


Figure 17. Fréquence allélique pour VVMD27

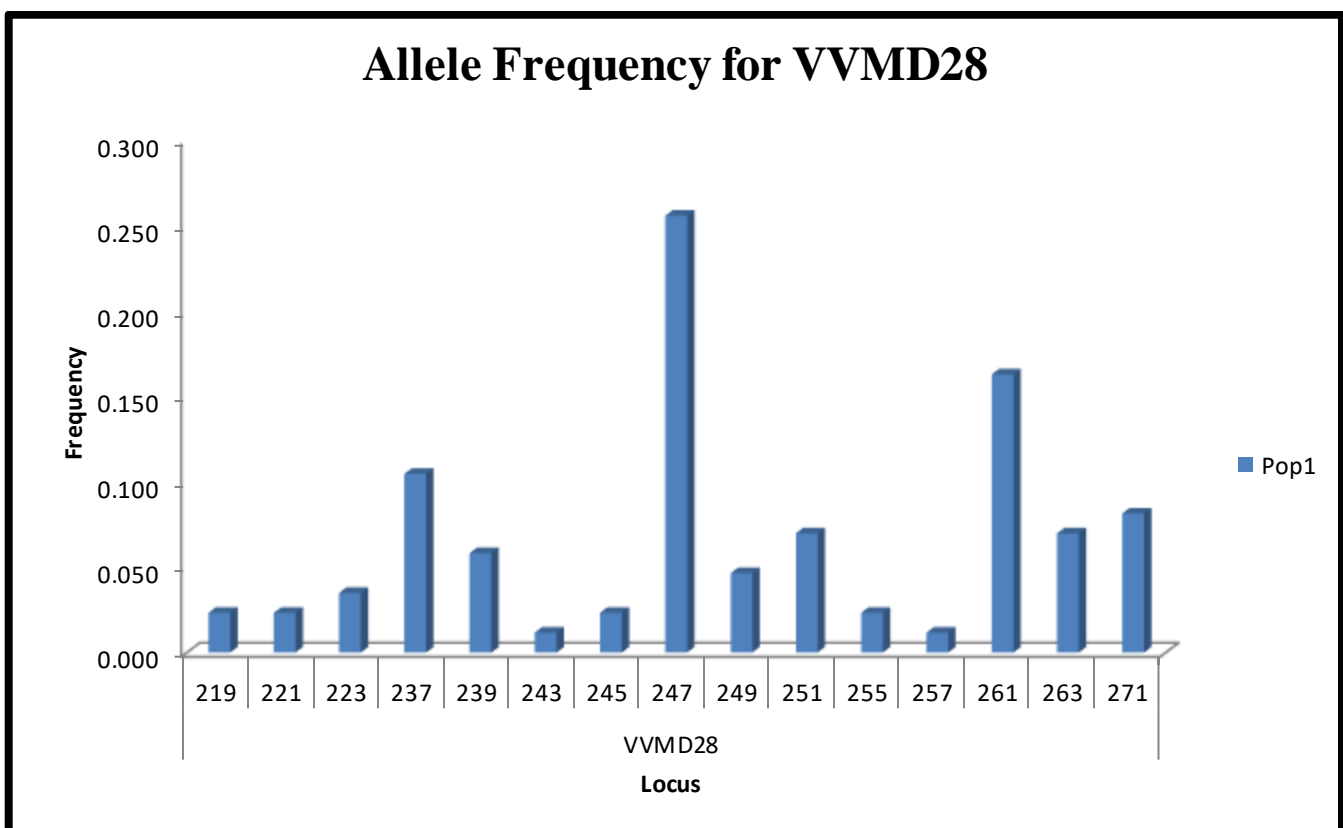


Figure 18. Fréquence allélique pour VVMD28

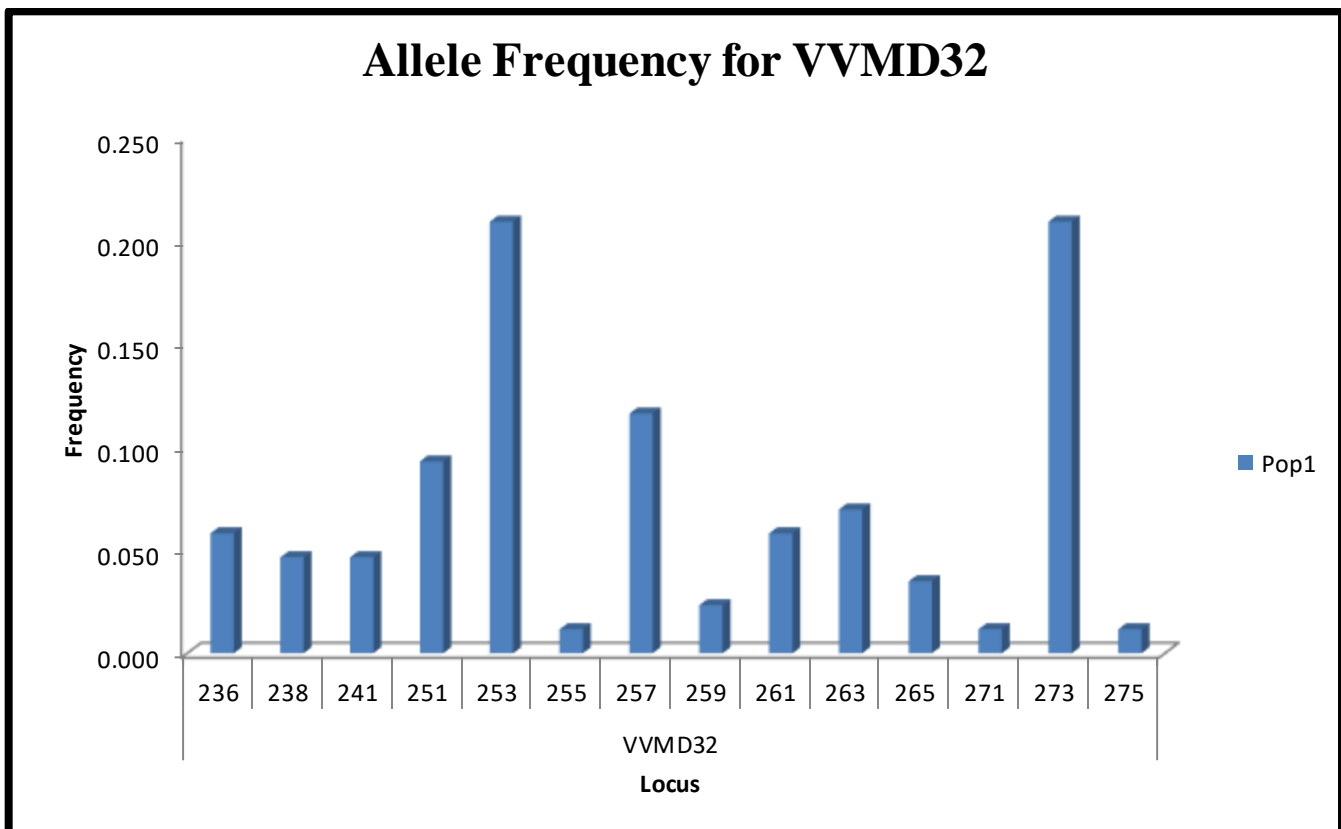


Figure 19. Fréquence allélique pour VVMD32

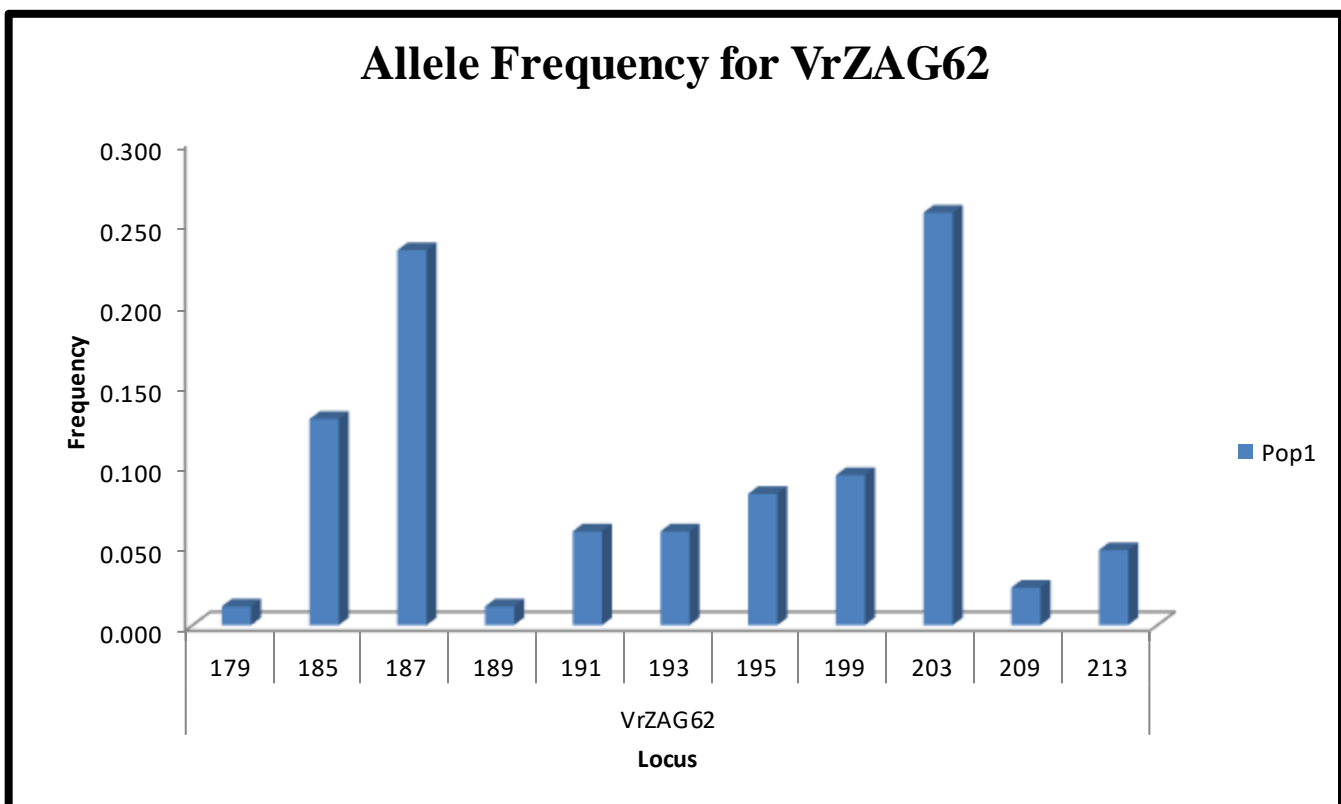


Figure 20. Fréquence allélique pour VrZAG62

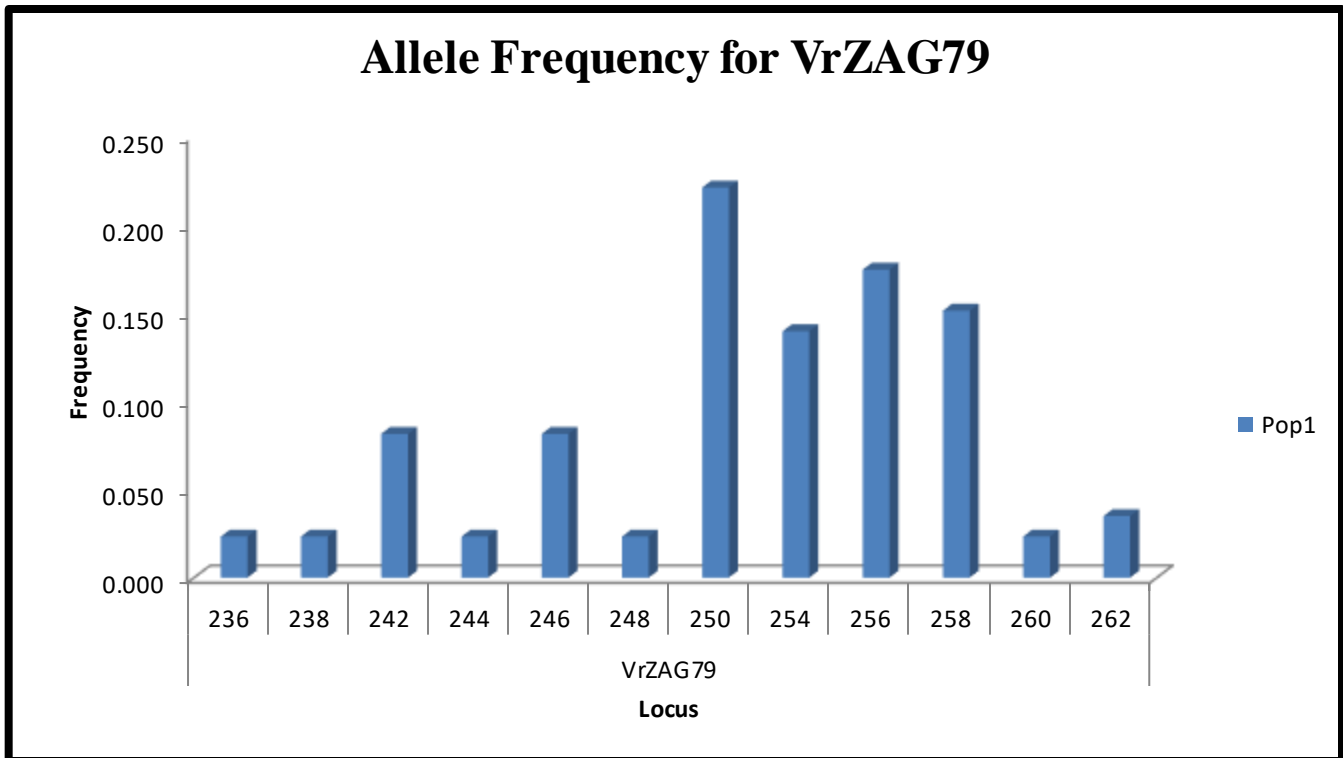


Figure 21. Fréquence allélique pour VrZAG79

Pour les trois marqueurs SSR supplémentaires, les allèles les plus fréquents ont été déterminés : VMC6E1 (ISV2) (141, 165 bp), VMC6G1 (ISV4) (177, 187 bp), VMCNG4b9 (EVA2) (150,160, 158 bp) (Figure 22, 23, et 24).

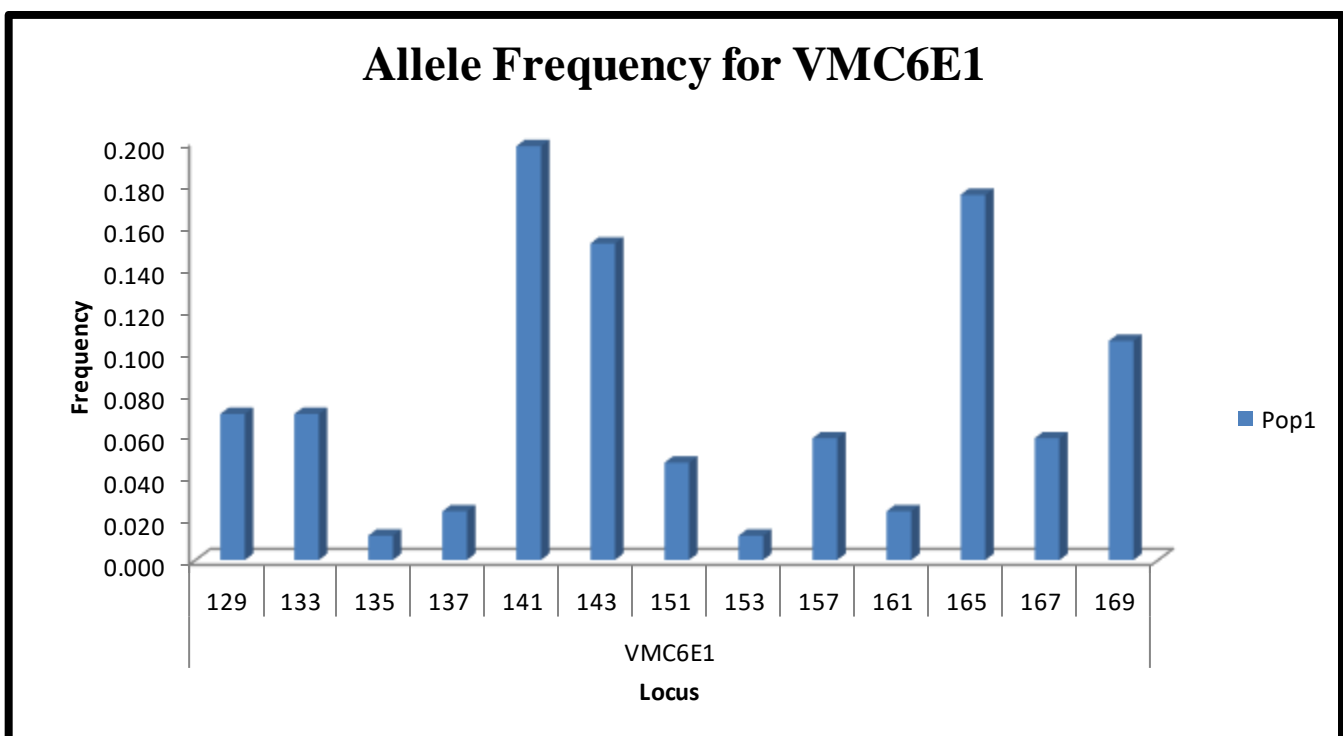


Figure 22. Fréquence allélique pour VMC6E1

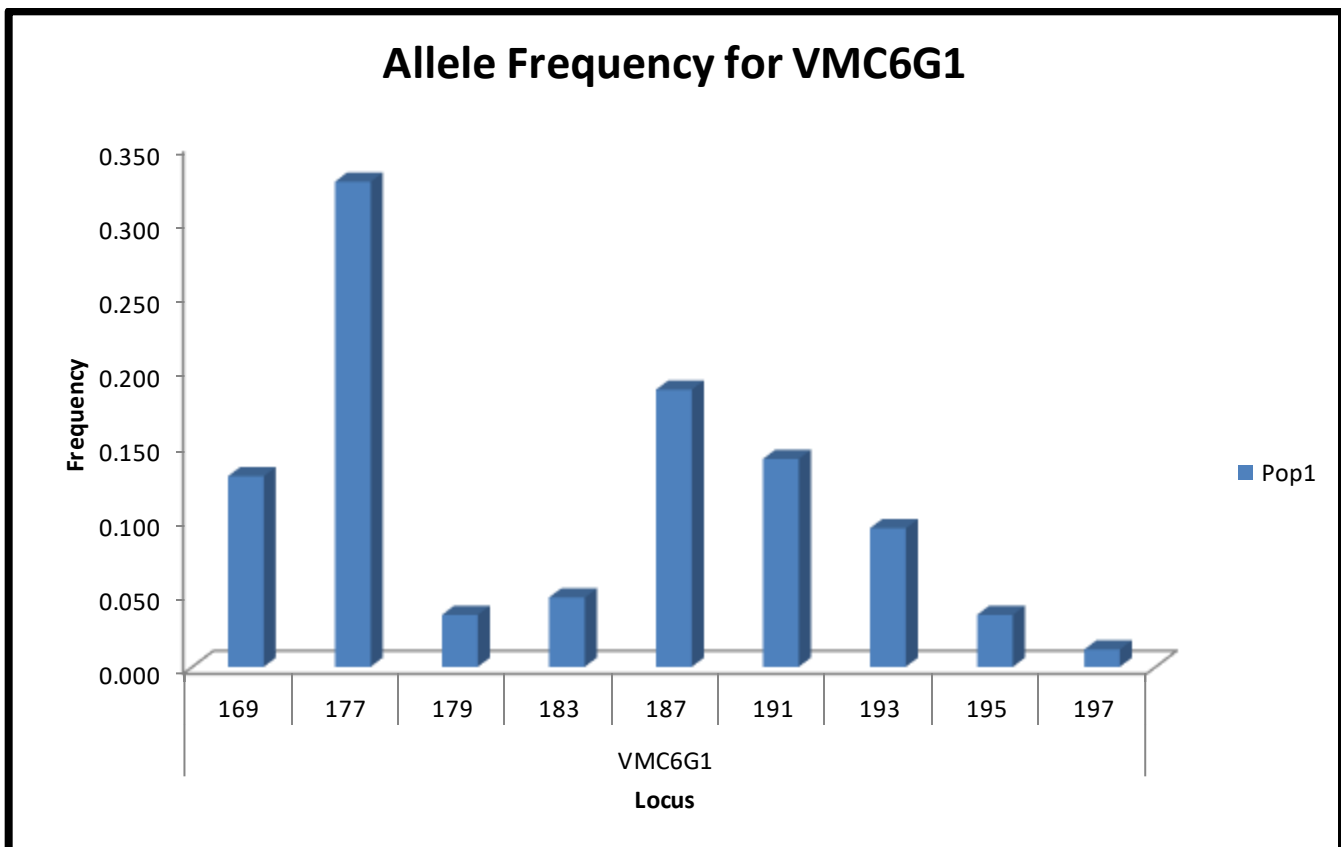


Figure 23. Fréquence allélique pour VMC6G1

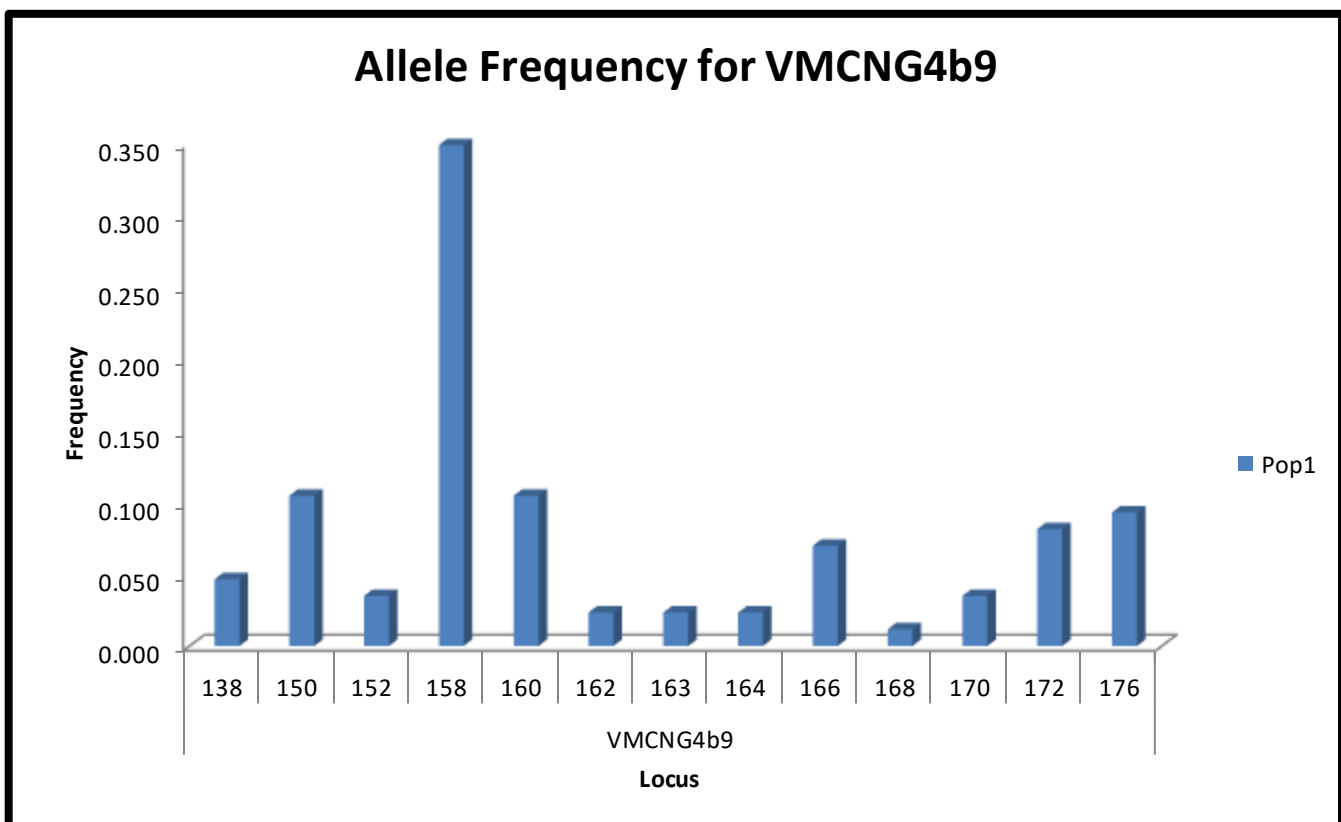


Figure 24. Fréquence allélique pour VMCNG4b9

La taille des allèles (AS) et les fréquences alléliques (AF) pour chacun des microsatellites sont présentées dans le Tableau 13. Treize allèles fréquents ont montré des fréquences supérieures à 20 %, ont été considérés comme les plus fréquents : VVS2-133, VVMD5-236, VVMD7-249, VVMD25-259, VVMD27-194, VVMD28-247, VVMD32-253 et 273, VrZAG62-187 et 203, VrZAG79-250, VMC6G1-177 et VMCNG4b9-158. D'autre part, 64 allèles (42,95%) étaient relativement fréquents (fréquence supérieure à 5% et inférieure à 20%), Ce pourcentage de fréquence était inférieur aux études précédentes sur les cultivars de *V. vinifera* (Laiadi et al., 2009). 72 allèles (48,32%) étaient peu fréquents (fréquence inférieure à 5%). Chaque locus montrant un ou plus d'allèles avec fréquence = 0,012 dans le Tableau 13, à l'exception de VVMD27 et VrZAG79.

Tableau 13. Taille des allèles (AS, pb) et fréquence des allèles (AF) pour les 12 nSSR marqueurs.

VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		VMC6E1		VMC6G1		VMCNG4b9	
AS	AF	AS	AF	AS	AF	AS	AF	AS	AF	AS	AF	AS	AF	AS	AF	AS	AF	AS	AF	AS	AF	AS	AF
123	0.012	226	0.163	231	0.047	241	0.070	179	0.174	219	0.023	236	0.058	179	0.012	236	0.023	129	0.070	169	0.128	138	0.047
133	0.267	228	0.093	233	0.081	243	0.186	181	0.047	221	0.023	238	0.047	185	0.128	238	0.023	133	0.070	177	0.326	150	0.105
135	0.116	232	0.151	239	0.186	245	0.163	183	0.081	223	0.035	241	0.047	187	0.233	242	0.081	135	0.012	179	0.035	152	0.035
137	0.174	234	0.058	243	0.081	249	0.058	185	0.198	237	0.105	251	0.093	189	0.012	244	0.023	137	0.023	183	0.047	158	0.349
143	0.140	236	0.209	245	0.012	251	0.023	189	0.081	239	0.058	253	0.209	191	0.058	246	0.081	141	0.198	187	0.186	160	0.105
145	0.105	238	0.128	247	0.081	253	0.151	191	0.035	243	0.012	255	0.012	193	0.058	248	0.023	143	0.151	191	0.140	162	0.023
147	0.035	240	0.093	249	0.244	254	0.023	194	0.267	245	0.023	257	0.116	195	0.081	250	0.221	151	0.047	193	0.093	163	0.023
149	0.093	246	0.023	251	0.058	259	0.279	203	0.023	247	0.256	259	0.023	199	0.093	254	0.140	153	0.012	195	0.035	164	0.023
151	0.035	252	0.012	253	0.093	260	0.031	205	0.023	249	0.047	261	0.058	203	0.256	256	0.174	157	0.058	197	0.012	166	0.070
155	0.012	264	0.012	255	0.012	267	0.023	207	0.047	251	0.070	263	0.070	209	0.023	258	0.151	161	0.023			168	0.012
161	0.012	266	0.035	257	0.035	271	0.012	211	0.023	255	0.023	265	0.035	213	0.047	260	0.023	165	0.174			170	0.035
		268	0.023	259	0.012	275	0.012			257	0.012	271	0.012	219	0.031	262	0.035	167	0.058			172	0.081
				261	0.023					261	0.163	273	0.209					169	0.105			176	0.093
				263	0.012					263	0.070	275	0.012										
				265	0.023					271	0.081												

2.3.1.5. L'hétérozygotie attendue et l'hétérozygotie observée

L'hétérozygotie attendue allait de 0,817 pour VMC6G1 à 0,873 pour VMC6E1 avec une hétérozygotie moyenne attendue (85%) qui s'est avérée plus élevée que celle rapportée pour d'autres collections de matériel génétique de vigne, comme l'Anatolienne avec 71,2% (Yilmaz et al., 2020), Arménienne avec 78,9 % (Margaryan et al., 2021), Géorgienne avec 80,7 % (Maghradze et al., 2010), et similaire au Brésil avec 85 % (Schuck et al., 2009). Des valeurs d'hétérozygotie aussi élevées peuvent indiquer que la plupart des variétés ont été obtenues à l'origine par hybridation, puis stabilisées par multiplication clonale. L'hétérozygotie observée la plus faible (0,767) a été détectée au loci VVMD25 et VMC6G1 et la plus élevée (0,953) au locus VMC6E1, suivi par VVMD7 et VVMD28 avec 0,930, où l'hétérozygotie observée moyenne (86,4 %). La valeur H_o globale est plus élevée qu'attendue pour 7 loci contre 5 loci. Par conséquent, les valeurs H_o plus élevées à la plupart des loci observés dans cette étude dans les conditions de Hardy-Weinberg indiquent une variabilité génétique élevée dans cette population. La moyenne globale de l'hétérozygotie observée et attendue était proche.

Les valeurs de l'hétérozygotie observée sont plus élevées que celles trouvées par certaines études antérieures sur la vigne, telles que 69,3 % au milieu du bassin Méditerranéen pour 295 génotypes (De Michele et al., 2019), 71,96 % en Afrique du Nord (région du Maghreb) pour 181 génotypes (Riahi et al. 2012), plus que 74,2 % en Asie centrale pour 1378 génotypes (Riaz et al., 2018), 75 % au Brésil pour 410 génotypes (de Oliveira et al., 2020) et 83,1 % en Ombrie du Sud (Italie centrale) pour trente neuf profils de génotypes obtenus à 13 loci SSR (Zombardo et al., 2021).

La capacité des microsatellites à identifier les cépages est liée à la probabilité d'identité (PI) (Paetkau et al., 1995). La correspondance entre ces paramètres est la suivante : un SSR efficace pour discriminer les génotypes a des niveaux élevés de H_o , H_e , et des valeurs faibles de PI (Salayeva et al., 2010, Popescu et al., 2018). Parmi les trois marqueurs SSR supplémentaires testés dans la présente étude, ont été notés le marqueur VMC6E1 qui a affiché des niveaux de diversité élevés concernant l'hétérozygotie attendue ($H_e = 0.873$; supérieure à la valeur moyenne de 0,85) avec faibles valeurs de $PI = 0,027$ (par rapport aux autres marqueurs).

2.3.1.6. La fréquence de l'allèle nul F

La fréquence de l'allèle nul F a été particulièrement intéressante, car elle était négative pour 7 loci sur 12 SSR. Ce paramètre est important pour détecter certains problèmes d'amplification des allèles lors du génotypage ou de la suppression d'une séquence cible.

Dans la présente recherche, des valeurs positives ont été trouvées pour la présence d'allèles nul F avec les SSR VVMD5, VVMD25, VVMD32, VMC6G1 et VMCNG4b9, qui ont été enregistrés à des niveaux d'hétérozygotie observée plus faibles que ceux d'hétérozygotie attendus.

2.3.1.7. L'indice d'information de Shannon (I)

L'indice d'information de Shannon (I) le plus élevé a été observé dans le locus VVMD28 (2,335) et le plus bas dans VMC6G1 (1,866). L'indice d'information de Shannon est un paramètre important qui reflète le niveau de polymorphisme.

2.3.2. Phylogénétiques et relations entre les cultivars Méditerranéens

L'algorithme Neighbor Joining a été utilisée par le logiciel populations-1.2.32 pour tracer les relations phylogénétiques entre les 43 génotypes, et le logiciel MEGA-X a ensuite été utilisé pour visualiser le dendrogramme phylogénétique. Le dendrogramme obtenu se compose de quatre groupes A, B, C et D, comme le montre la figure 25.

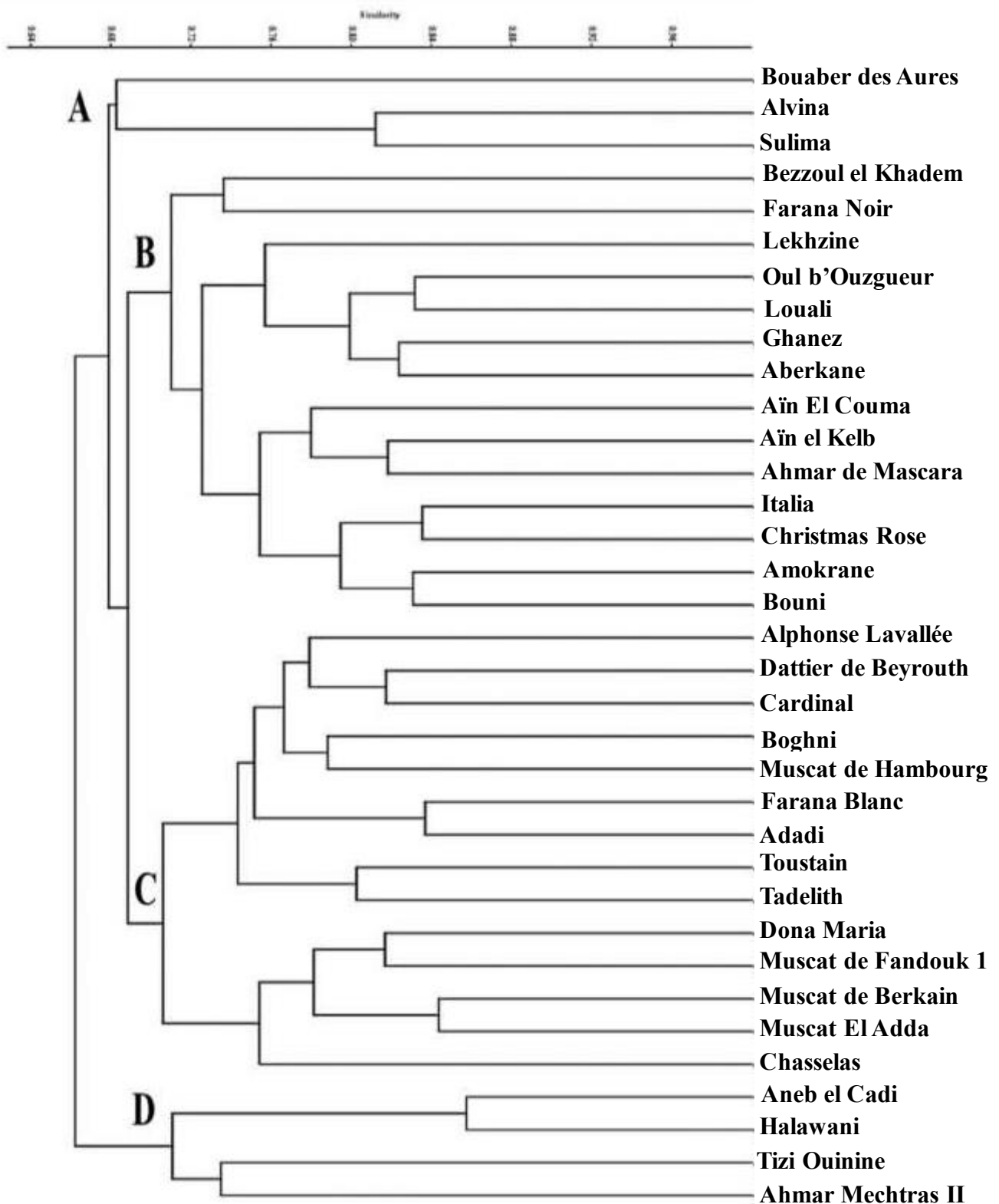


Figure 25. Dendrogramme illustrant les similarités génétiques de 35 génotypes utilisant 12 marqueurs SSR.

Les dendrogrammes ont été obtenus consistant en quatre groupes. Trois cultivars ont été regroupés en groupe (A), Bouaber des Aures et deux autres variétés : Alvina et Sulima. Ces deux dernières sont toutes deux dérivées de Sultanina, ce qui explique la relation génétique étroite entre elles ; elles sont probablement d'origine Française.

Le deuxième groupe (B), composé de 14 génotypes, comprend des variétés cultivées autour de la Méditerranée, principalement des variétés Algériennes telles que Ahmar de Mascara, Aïn El Couma, Aberkane, Louali, Oul b'Ouzgueur, Louali résultant d'un croisement entre Oul b'Ouzgueur qui correspond à Lakhdari et Chikki et qui explique leur étroite relation génétique (Riahi et *al.*, 2010), Lekhzine, Farana Noir qui correspond à Taferielt, une variété Marocaine. Par ailleurs, ce génotype est largement cultivé sous le nom de Akhal Meguergueb une variété Tunisienne, Bezzoul el Khadem, et Amokrane.

Les accessions Algériennes ont été trouvées dans de nombreux cas en commun avec d'autres pays de la région tels que le Maroc et la Tunisie, où la proximité culturelle et géographique récente a été intense et les relations génétiques étroites observées entre certains des cépages suggèrent qu'il existe des groupes de cultivars qui pourraient résulter d'une hybridation spontanée entre les plantes cultivées suivie par la propagation des graines, où Ghanez correspond très probablement à Ohanes, Bouni qui correspond à Dominga , Cette variété est un cultivar trouvé dans la région sud de l' Espagne, plus précisément à Murcia, et est également cultivée au Portugal (Galet, 2000) et Aïn el Kelb, qui a été décrit par Galet (2000) comme étant d'origine Tunisienne, mais le VIVC le classe dans la liste des cultivars Algériens, ceci était basé sur la seule référence dans l'ampélographie Algérienne Levadoux et *al.*, (1971).

En fait, nous avons trouvé ce génotype identique à un autre génotype d'origine Tunisienne sous le nom de Tebourbi (Snoussi et *al.*, 2004), ce dernier qui correspond probablement à Beba. Cela suggère qu'il s'agit de l'origine des cultivars Espagnols sous divers noms: Beba, Calop Blanco (couleur blanche) et Calop Rojo (couleur rouge) (Laiadi et *al.*, 2009), qui s'est produit comme une mutation somatique précédemment étudiée par Martin et *al.*, (2003), une autre correspondance de profil génétique a été trouvée avec cette variété du Maroc sous le nom de Muscat Sefrou (Zinelabidine et *al.*, 2010), ainsi que des cultivars introduits reconnus, tels que Italia d'Italie et Christmas Rose d'Amérique.

Le troisième grand groupe clair (C) comprenant des cultivars étroitement apparentés était celui des muscats. Le Muscat el Adda, le Muscat de Berkain, le Muscat de Fandouk 1 et le Muscat Hamburg correspondent très probablement au Moscato Nero, au Muscat fleur d'oranger, au Muscat d'Alexandrie et au Muscat Hamburg respectivement.

Le Muscat El Adda à baie noire serait un synonyme de l'une des accessions de Muscat Nero analysées précédemment (Crespan et Milani, 2001), « Nero » cela signifie la couleur noire, le Muscat de Hambourg, est dérivé du Muscat d'Alexandrie (Muscat de Fandouk 1). Des relations génétiques étroites entre ces trois cultivars de muscat ont été signalées précédemment (Crespan et Milani, 2001 ; Crespan, 2003).

Le Muscat Fleur D'oranger (Muscat de Berkain) est probablement issu d'un croisement entre le Muscat à petits grains blancs (Muscat blanc) et le Chasselas, comme l'ont précédemment analysé (Schneider et *al.*, 2008). Tous ces cépages présentent des liens génétiques très proches suggérant ainsi une relation étroite, ainsi que des cultivars introduits reconnus, comme Alphonse Lavallée de France, Cardinal d'Amérique, Dattier de Beyrouth du Liban et Dona Maria d'une variété portugaise et des cultivars Algériens comme Adadi, Tadelith, Toustain, Boghni qui pourrait être apparenté au cultivar Italien Bogni et Farana Blanc qui correspond à Planta Fina d'Espagne, parmi ces cultivars cultivés dans les zones orientales et occidentales du bassin Méditerranéen.

Le quatrième groupe (D) comprenait quatre accessions dont: Aneb el Cadi, Tizi Ouinine, Halawani de Turquie et Ahmar Mechtras II, Ceux qui ont un profil génétique existant sous différents noms avec des couleurs différentes également selon les données VIVC, correspond à Fraoula Aspris (blanc), selon Laiadi et *al.*, (2009), elle est rose, que l'on trouve aussi en rouge (Bounab et *al.*, 2019) et , ainsi que noir (Henab Turki), que l'on trouve en Grèce, à Chypre et en Egypte sous le nom de Roumi Ahmar , pour expliquer ces différentes couleurs, malgré le même profil génétique, une étude approfondie de ce cépage est nécessaire, et la possibilité de mutations somatiques affectant la couleur caractéristique des baies, comme révélé précédemment à partir de la famille des cépages Pinot. L'association des cultivars est probablement due à l'échange historique de germoplasme avec ces pays.

2.4. Analyse de statut sanitaire

Au cours de l'enquête sur le terrain pour détecter les maladies virales, les symptômes les plus courants observés sur les vignes des collections incluaient la décoloration et déformations des feuilles, aplatissement et fasciation des rameaux, entre-nœuds courts et rabougrissement de la souche, coulure et millerandage, jaunissement sur cépages blancs ou rougissement des feuilles sur cépages rouges et enroulement des feuilles. Les résultats des tests montrent un niveau assez élevé d'infection par le virus de la vigne dans la collection, comme le montre le Tableau 14, l'état sanitaire de la vigne cultivée à collection est généralement n'est pas bonne, et nous pouvons estimer la charge virale de nos échantillons.

Tableau 14. Statut sanitaire des échantillons évalué à l'aide de la technique ELISA pour neuf virus.

Nom d'accession	GFkV	ArMV	GFLV	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GLRaV-6	GVA	GVB
Richter 110	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41 b	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41 b	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Paulsen 1103	-	-	-	-	-	-	-	-	-
So4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
So4	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Richter 99	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Castel 196-17	-	-	-	-	-	+	-	+++	-
Ruggeri 140	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ruggeri 140	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ghanez	-	-	+++	-	-	++	-	+++	-
Muscat de Fandoull	-	-	+++	-	-	++	-	+++	-
Adadi	-	-	+++	-	-	++	-	+++	-
Muscat de Berkain	-	-	+++	-	-	-	-	-	-
Ahchichene	-	-	-	-	-	++	-	+++	-
Adari des Bibans	-	-	+++	-	-	+	-	+++	-
Tadelith	-	-	+++	-	-	+++	-	+++	-
Boghni	-	-	-	-	-	+++	-	+++	-
Farana Noir	-	-	+++	-	-	+++	-	+++	-
Aïn el Couma	-	-	-	-	-	+++	-	-	-

Farana blanc	-	-	+++	-	-	+++	-	+++	-
Alphonse Lavallée	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alvina	-	-	-	-	-	++	-	+++	-
Aneb el Cadi	-	-	++	+++	++	+++	-	+++	-
Sbaa Tolba	-	-	-	-	-	-	-	+++	-
Tizi Ouinine	-	-	-	-	-	+++	-	+++	-
Kabyle Aldebert	-	-	+++	-	-	+	-	-	-
Ahmed Draa el Mizen	-	-	-	-	-	++	-	+++	-
Muscat El Adda	-	-	+++	-	++	+++	-	-	-
Aïn el Kelb	-	-	-	-	-	+++	-	+++	-
Aberkane	-	-	+++	-	-	+	-	-	-
Bouni	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Christmas Rose	-	-	-	-	-	++	-	+++	-
Dattier de Beyrouth	-	-	-	-	-	+	-	+++	-
Halawani	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Dona Maria	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lakhdari	-	-	-	-	++	+++	-	-	-
Cardinal	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chasselas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bouaber des Aures	-	-	+++	-	-	+	-	+++	-
Sulima	-	-	-	-	-	+++	-	+++	-
Toustein	-	-	-	-	-	+++	-	+++	-

+ : Infection faible

++ : Infection moyenne

+++ : Infection forte

Dans la recherche actuelle, treize plantes sur 42 (30,95 %) étaient indemnes de tous les virus explorés, alors que sur 42 plants de vigne testés, 29 (69,05%) étaient infectés par un virus (Figure 26).

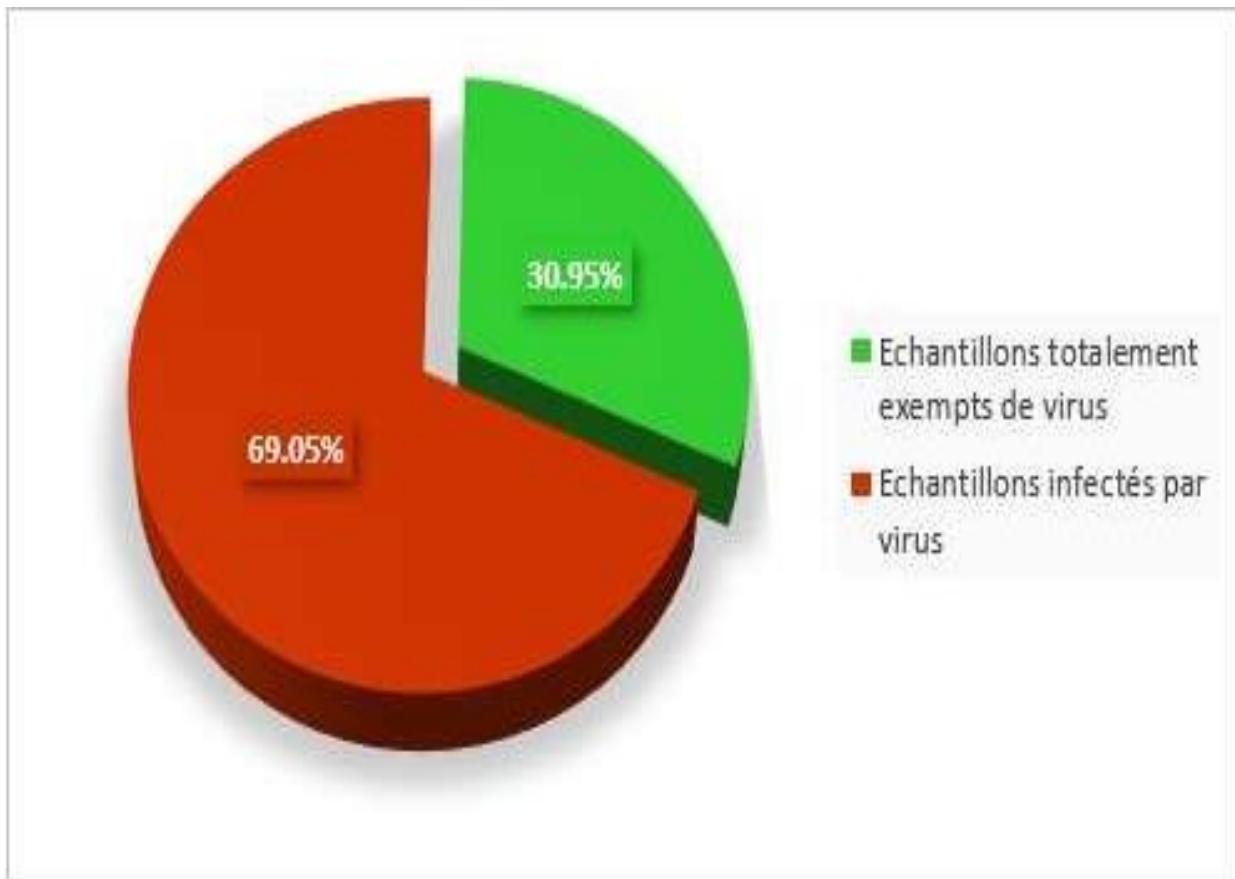


Figure 26. Un diagramme circulaire présentant en pourcentages le statut sanitaire de la vigne cultivée à la collection.

Le plus haut de degré de maladie infectieuse était avec des virus de la maladie de l'enroulement, 61,9 % (26/42) des vignes testées étaient positives à la présence du virus GLRaV-3. Ces résultats appuient la confirmation de la notion selon laquelle GLRaV-3 est plus répandu dans le Méditerranée (Ahmed et *al.*, 2004 ; Cabaleiro et Segura, 2006 ; Mahfoudhi et *al.*, 2009), alors que GVA, parmi les virus liés à la structure complexe du bois rugueux, comme on le voit chez le Kober Stem Grooving qui induisent une diminution de vigueur, a été mis en évidence dans 21 des 42 (50 %) vignes testées. GLRaV-2 a été trouvé dans seulement trois vignes sur 42 (7,14 %) et l'incidence de l'*Ampelovirus* GLRaV-1 était significativement plus faible puisque sur 42 vignes testées, deux (4,76%) étaient positives.

Cependant, l'infection avec GFLV a également été trouvée dans 13 cas importants (30,95%). Fait intéressant, l'analyse ELISA n'a révélé aucune infection par le GFkV, les *népovirus* ArMV, le GLRaV-6 et le *Vitivirus* GVB en nos échantillons. La Figure 27 montre le pourcentage d'infection de chaque virus.

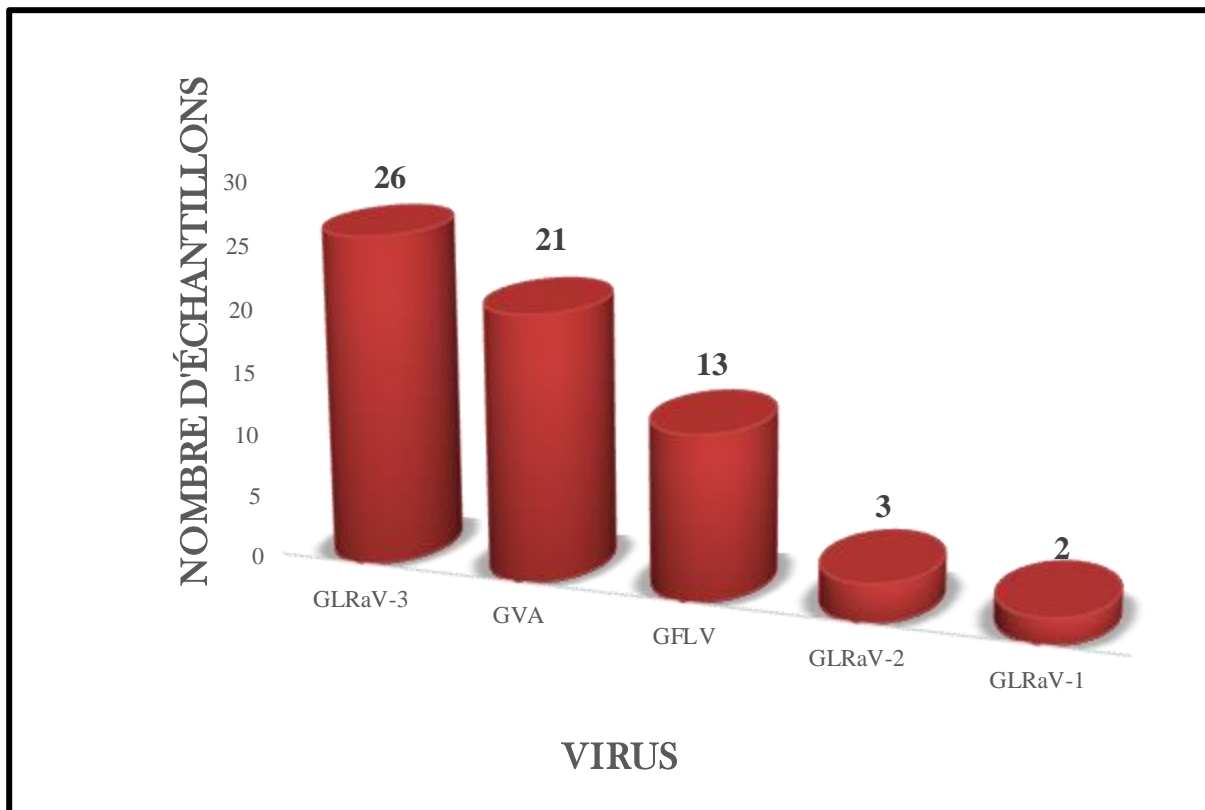


Figure 27. Le nombre d'accessions infectées par le virus de la vigne

L'absence de *Népotivirus* est remarquable car on sait que des nématodes vecteurs de ces virus, comme (*Xiphinema* spp.), sont abondants dans les régions semi-arides de l'Atlas saharien, (Louadi et Robaux, 1992) et caractérisés comme virus Européens et Américains (Maliogka et al., 2014).

Principal moyen de diffusion du GLRaV-3 dans divers pays Méditerranéens est par le biais de plantes végétales contaminées. Matériel végétal avec plusieurs insectes vecteurs de la famille de *Pseudococcidae* et *Coccidia* assez répandues (Cabaleiro et Segura, 1997 ; Kruger et al., 2006 ; Douglas et Kruger, 2008 ; Almeida et al., 2013 ; Delić et al., 2016) et un des agents responsables les plus courants de la maladie de l'enroulement des feuilles. En revanche, la faible prévalence des plantes infectées par GLRaV-2 pourrait s'expliquer par l'absence d'insecte vecteur pour ce virus, qui se propage uniquement par le matériel végétal (Meng et al., 2005), certaines données indiquant à l'origine de ce virus aux États-Unis (Angelini et al., 2017). Par conséquent, le trouver dans des vignes enracinées, comme Muscat el Adda, Aneb el Cadi et Lakhdari notamment d'origine locale, était intéressant. Lehad (2012), pour sa part, a démontré que le GLRaV-2 est le virus le plus répandu en Algérie, confirme l'existence de ce virus dans les pays africains. Infections virales multiples impliquant deux virus ou plus étaient également fréquents, GLRaV-3 et GVA étaient les plus combinés fréquemment dans 47,6% de tous les

vignobles évalués, bien qu'ils appartiennent à des genres distincts, les deux virus sont connus pour être propagés par diverses espèces de cochenilles farineuses. La co-infection de plusieurs échantillons par les deux virus pour la majorité des infections végétales peut être attribuées à la transmission vectorielle sur le terrain.

De plus, 23,8 % des plantes étaient infectées par trois virus, voire cinq virus, comme ce fut le cas avec Aneb el Cadi. Etant donné que les échantillons à analyser ont été prélevés dans des vignobles âgés de plus de 31 ans (1990), les raisons possibles de la forte incidence du virus sont le mode traditionnel d'implantation de la vigne, par greffage *in situ*, sans contrôle environnemental hygiénique/stérile des vignes mères, présence de virus vecteurs et l'absence de surveillance systématique des virus et maladies apparentées (Khouni et *al.*, 2023).

L'enquête a également inclus certaines variétés rares et menacées. Le patrimoine génétique Algérien est relativement inexploré, et les problèmes d'identification erronés sont fréquents. Les variétés locales menacent en voie d'extinction identifiées dans notre étude étaient représentés avec seulement quelques vignes restantes, parmi 42 échantillons testés, 29 étaient infectés. En raison d'un nombre limité de vignes accessibles, il est impossible pour conclure sur leur état sanitaire général. Cependant, ils doivent être transférés dans de la collection pour la conservation de la biodiversité et éventuellement pour l'élevage. (Poljuha et *al.*, 2010).

Selon Selmi et *al.*, (2017), les cultivars locaux en Tunisie avaient une prévalence de 35% infectés vignes, par rapport à une incidence significativement plus faible (16,6 %) en Égypte. (Fattouh et *al.*, 2014 et Rahali et *al.*, 2019). Les populations de vignes autochtones propagées depuis longtemps dans un petit cercle fermé ont montré une incidence élevée de certains virus et ont demandé un programme national spécifique de contrôle sanitaire prenant en compte la préservation de la biodiversité.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La vigne (*Vitis vinifera* L.), profondément ancrée dans les coutumes Algériennes, a un impact culturel important sur les traditions locales, grâce à l'influence de nombreuses civilisations au fil du temps. L'Algérie est une source importante de ressources génétiques, notamment pour les espèces autochtones, du fait de sa situation géographique et à la diversité de ses conditions pédoclimatiques (steppe, plaine, saharien, vallonné et côtier).

En raison des limites sociales, économiques de l'Algérie, la viticulture a connu des changements importants. Depuis une vingtaine d'années, de nombreux pays se préoccupent de la question de l'érosion des ressources génétiques, en particulier notre pays où certaines espèces autochtones ont déjà disparu ou sont en grand danger.

Reconnaître la profondeur de notre héritage phylogénétique local est crucial étant donné l'ignorance presque totale de notre passé viticole et l'absence d'un catalogue descriptif du comportement de ces variétés.

Dans les programmes de conservation, de gestion des bioressources génétiques, nous avons franchi deux étapes clés grâce au travail que nous avons effectué. Ces programmes commencent par la réalisation d'analyses moléculaire de vigne autochtones, introduites, porte greffes et phylogénétiques de 81 accessions de vigne de la collection afin d'identifier précisément leurs génotypes et le patrimoine viticole existant. En outre, d'établir la situation sanitaire des cépages par la technique ELISA.

Nos résultats montrent que les vignes de la collection ont une grande variabilité génétique d'un point de vue statistique si bien que le nombre élevé 149 allèles détectés, avec une moyenne de 12,41 allèles par locus. Les valeurs de l'hétérozygotie moyenne attendue (H_e) et l'hétérozygotie observée (H_o) ont été déterminées comme étant respectivement de 0,850 et 0,864. Il est notable que l'hétérozygotie observée était supérieure à celle attendue pour 7 loci contre 5 loci, ce qui indique une forte variabilité génétique dans cette population avec un taux de polymorphisme élevée.

De plus, les analyses virales ont généralement révélé un mauvais état sanitaire des vignes de la collection : 69,05% de nos échantillons étaient infectés par les virus recherchés, le virus GLRaV-3 de la maladie de l'enroulement et GVA ont été détectés respectivement dans 61,9 % et 50 % des échantillons. D'autre part, GLRaV-1, GLRaV-2 et GFLV ont été identifiés dans 4,76%, 7,14% et 30,95% des cas. En revanche, le GFkV, le *Nepovirus* ArMv, le GLRaV-6 et le *Vitivirus* GVB étaient totalement absents.

L'analyse phylogénétique a été utilisée pour identifier la structuration génétique des variétés de vigne en fonction de leur lieu d'origine. Grâce à ces découvertes, une autre preuve de l'importance de l'Algérie en tant que carrefour d'interactions humaines est davantage attestée par la diversité continue de la richesse variétale de la vigne qui ont facilité la dispersion de la vigne domestiquée depuis l'Antiquité.

Les relations génétiques étroites observées entre certaines des cépages suggèrent qu'il existe des groupes de cultivars qui pourraient résulter d'une hybridation spontanée entre les plantes cultivées suivie d'une propagation par graines, parmi les cultivars cultivés dans les zones orientales et occidentales du bassin Méditerranéen, où l'unité culturelle et géographique récente a été intense. Dans de nombreux cas, on a constaté que les accessions Algériennes partagent des caractéristiques avec d'autres pays.

D'après les résultats de cette recherche ont révélé qu'il y a quelques synonymies ainsi que quelques différences avec la base de données de la collection publiée ; ces erreurs devraient être corrigées dans le futur.

Cette recherche a également révélé des profils moléculaires différents des variétés portant le même nom dans la collection, indiquant des cas de mauvais étiquetage.

Ces résultats peuvent être utilisés pour planifier efficacement les activités de sélection modernes, que ce soit par l'hybridation traditionnelle ou d'autres innovations technologiques.

Les données et les informations fournies aideront à améliorer la gestion des germoplasmes de la vigne en réduisant le nombre d'accessions et en garantissant l'authenticité du matériel végétal pour la duplication, en fournissant des données moléculaires dérivées d'une grande variété de matériel génétique qui peuvent aider à enrichir les informations actuelles dans les bases de données et la conservation dans la collection ainsi qu'en aidant à réduire les dépenses de maintenance du germoplasme sans le potentiel de perte de ressources génétiques importantes.

Cette enquête a révélé un nombre élevé de vignes infectées, soulignant la nécessité d'un contrôle à grande échelle de la propreté de l'environnement et de la lutte contre les maladies. En ce qui concerne la nécessité de créer une stratégie efficace de lutte contre les virus, il est nécessaire de mener des enquêtes plus approfondies, y compris la surveillance des vecteurs de virus.

De même, l'impact d'un virus sur la santé de la vigne, le rendement et la qualité dans nos conditions reste à déterminer. L'incidence élevée des maladies virales observées souligne la nécessité d'un programme national de contrôle phytosanitaire qui tienne compte de la préservation de la biodiversité.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- Abdel-Mawgood, A. L. (2012).** DNA Based Techniques for Studying Genetic Diversity, *Microorganisms* (94-122). Egypt: InTech.
- Agrios, G. (1997).** Plant Pathology. Fourth edition. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Ahmed, H. M. H., Digiario, M., Martelli, G. P. (2004).** Viruses and virus diseases of grapevine in Egypt. *EPPO Bulletin*, 34(3), 395-398.
- Akkaya, M.S., Bhagwat, A.A., Cregan, P.B. (1992).** Length polymorphism of simple sequence repeat DNA in soybean. *Genetics*, 132, 1131–1139.
- Almeida, R. P., Daane, K. M., Bell, V. A., Blaisdell, G. K., Cooper, M. L., Herrbach, E., Pietersen, G. (2013).** Ecology and management of grapevine leafroll disease. *Frontiers in Microbiology*, 4, 94.
- Angelini, E., Aboughanem-Sabanadzovic, N., Dolja, V.V., Meng, B., Martelli, G., Golino, D., Fuchs, M. (2017).** Grapevine leafroll-associated virus 2. Grapevine Viruses: *Molecular Biology, Diagnostics and Management*. Springer, Cham, pp. 141–165.
- Arnaud, D., Ilbert, H., Mongruel, R. (1994).** Biodiversité: le fruit convoité (Vol. 28). ECLM.
- Benjak, A., Ercisli, S., Vokurka, A., Maletić, E., Pejic, I. (2005).** Genetic relationships among grapevine cultivars native to Croatia, Greece and Turkey. *Vitis*, 44(2), 73-77.
- Birebent P. (2007).** Hommes, Vignes et Vins de l'Algérie Française 1830-1962.
- Blanc, S. (2012).** Cartographie génétique et analyse de la résistance au mildiou et à l'oïdium de la vigne chez *Muscadinia rotundifolia*. (Thèse de doctorat). Université de Strasbourg.
- Bolaric, S., Müller, I. D., Vokurka, A., Cepo, D. V., Ruscic, M., Srecec, S., Kremer, D. (2021).** Morphological and molecular characterization of Croatian carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) germplasm. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 45(6), 807-818.
- Bounab, O. (2020).** Etude ampelographique et agronomique des cepages autochtones (*Vitis vinifera* L.) (Thèse de doctorat). Université Mohamed Khider de Biskra, algérie.
- Bounab, O., Laiadi, Z. (2019).** A multivariate approach for the ampelographic characterizations of Algerian grapevine genotypes (*Vitis vinifera* L.): Insights into conservation and commercialization. *South African Journal of Botany*, 124, 71-79.

- Bowers, J.E., Dangl, G.S., Meredith, C.P. (1999).** Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. *American Journal of Enology and Viticulture*, 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.
- Bozhuyuk, M. R., Ercisli, S., Orhan, E., Koc, A. (2020).** Determination of the genetic diversity of walnut (*Juglans regia* L.) cultivar candidates from North eastern Turkey using SSR markers. *Mitt. Klosterneubg*, 70 (4), 269-277.
- Brault, C. (2021).** Grapevine breeding optimization with genomic and phenomic predictions (Thèse de doctorat). Montpellier SupAgro.
- Burger, P., Bouquet, A., Striem, M.J. (2009).** Grape breeding. Dand S.M. Jain., P.M. Priyadarshan (Eds). *Breeding Plantation TreeCrops: Tropical Species* (161-189). Germany: Springer.
- Cabaleiro, C., Segura, A. (1997).** Field transmission of grapevine leafroll associated virus 3 (GLRaV-3) by the mealybug *Planococcus citri*. *Plant disease*, 81(3), 283-287.
- Cabaleiro, C., Segura, A. (2006).** Temporal analysis of grapevine leafroll associated virus 3 epidemics. *European Journal of Plant Pathology*, 114(4), 441-446.
- Caïd, N, N. (2021).** Les causes de la regression de la vigne dans la wilaya de Mostaganem (Thèse de doctorat). Université d'Oran 2, Algérie.
- Celestino Pérez, S., Blánquez Pérez, J., Campos Carrasco, J. M., Sánchez Hernando, L. J. (2013).** Patrimonio cultural de la vid y el vino. Communication présentée au *Vine and wine cultural heritage*. Espagne.
- Chen, M. (2019).** Analyse du risque de mildiou de la vigne dans le Bordelais à partir de données régionales et d'informations locales collectées en cours de saison (Thèse de doctorat). Université Paris-Saclay (ComUE).
- Constable, F et Rodoni, B. (2011).** Grapevine fleck and associated viruses. *Wine Australia Factsheet*.
- Costantini, L. A. U. R. A., Monaco, A., Vouillamoz, J., Forlani, M., Grando, M. S. (2005).** Genetic relationship among local *Vitis vinifera* cultivars from Campania (Italy). *Vitis*, 44(1), 25-34.

- Crespan, M., Milani, N. (2001).** The Muscats: A molecular analysis of synonyms, homonyms and genetic relationships within a large family of grapevine cultivars. *VITIS-GEILWEILERHOF*-, 40(1), 23-30.
- Crespan, M. (2003).** The parentage of Muscat of Hamburg. *VITIS-GEILWEILERHOF*-,42(4), 193-198.
- Delbac, L. (2020).** Effet de la succession temporelle des ressources végétales à l'échelle des paysages sur les communautés de drosophiles: Cas d'étude en agrosystème viticole suite à l'invasion par *Drosophila suzukii* (Thèse de doctorat). Université de Bordeaux.
- Delić, D., Lolić, B., Đurić, G., Jovanović-Cvetković, T. (2016).** Sanitary Status of the Grapevine Germplasm Collection in Republic of Srpska. *AGRO-KNOWLEDGE JOURNAL*, 17(2), 143-152.
- De Michele, R., La Bella, F., Gristina, A. S., Fontana, I., Pacifico, D., Garfi, G., Carimi, F. (2019).** Phylogenetic relationship among wild and cultivated grapevine in Sicily: A hotspot in the middle of the Mediterranean Basin. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1506.
- de Oliveira, G. L., de Souza, A. P., de Oliveira, F. A., Zucchi, M. I., de Souza, L. M., Moura, M. F. (2020).** Genetic structure and molecular diversity of Brazilian grapevine germplasm: Management and use in breeding programs. *PLoS One*, 15(10), e0240665.
- 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: Wood head Publishing.
- Dokupilová, I., Sák, M., Šturdík, E., Mihálik, D. (2013).** Microsatellite characterization of genetic diversity (*Vitis vinifera* L.) and polyphenol content analysis in slovak cultivars. *Current Opinion in Biotechnology*, (24), 126-127.
- Dong, Z., Liu, W., Li, X., Tan, W., Zhao, Q., Wang, M., Tang, X. (2018).** Genetic relationships of 34 grapevine varieties and construction of molecular fingerprints by SSR markers. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 32(4), 942-950.
- Douglas, N., Krüger, K. (2008).** Transmission efficiency of Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3) by the mealybugs *Planococcus ficus* and *Pseudococcus longispinus* (Hemiptera : Pseudococcidae). *European Journal of Plant Pathology*, 122 (2), 207-212.

- El Oualkadi, A., Ater, M., Messaoudi, Z., Laucou, V., Boursiquot, J. M., Lacombe, T., This, P. (2009).** Molecular characterization of Moroccan grapevine germplasm using SSR markers for the establishment of a reference collection. *OENO One*, 43(3), 135-148.
- El Oualkadi, A., Ater, M., Messaoudi, Z., El Heit, K., Laucou, V., Boursiquot, J. M., This, P. (2011).** Genetic diversity of Moroccan grape accessions conserved *ex situ* compared to Maghreb and European gene pools. *Tree genetics and genomes*, 7(6), 1287-1298.
- Emanuelli, F., Lorenzi, S., Grzeskowiak, L., Catalano, V., Stefanini, M., Troggio, M., Grandi, M. S. (2013).** Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grape. *BMC plant biology*, 13(1), 1-17.
- Eyduran, S. P., Ercisli, S., Akin, M., Eyduran, E. (2016).** Genetic characterization of autochthonous grapevine cultivars from Eastern Turkey by simple sequence repeats (SSRs). *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 30(1), 26-31.
- Faggioli, F., La Starza, S. (2006).** One-step multiplex RT-PCR for simultaneous detection of eight grapevine viruses and its application in a sanitary selection program. Extended abstracts of the 15th ICVG Meeting, 2006-04-03/07, Stellenbosch, South Africa.
- Fattouh, F., Ratti, C., El-Ahwany, A. M., Aleem, E. A., Babini, A. R., Autonell, C. R. (2014).** Detection and molecular characterization of Egyptian isolates of grapevine viruses. *Acta virologica*, 58(2), 137-145.
- Ferreira, V., Pinto-Carnide, O., Mota, T., Martín, J. P., Ortiz, J. M., Castro, I. (2015).** Identification of minority grapevine cultivars from Vinhos Verdes Portuguese DOC Region. *Vitis-Journal of Grapevine Research (Special Issue)*, 54, 53-58.
- Firas, R. A. S. and Abdulkareem, A. A. K. (2015).** Molecular markers: An introduction and applications. *European J. Molecular Biotechnology*, 9, 118-30.
- Gambino, G., Gribaudo, I. (2006).** Simultaneous detection of nine grapevine viruses by multiplex RT-PCR with coamplification of a plant RNA as internal control. *Phytopathology*, 96(11), 1223-1229.
- Gago, P., Boso, S., Santiago, J. L., Soler, J. X., Peiró, R., García, J., Martínez, M. D. C. (2022).** Characterization of Grapevine Genetic Resources in the Comunitat Valenciana (Spain). *International Journal of Fruit Science*, 22(1), 287-302.
- Galet, P. (1977).** Les maladies et les parasites de la vigne. In Tome 1. Les maladies dûes à des végétaux. Le Paysan du Midi, Montpellier.

- Galet, P. (1988).** Cépages et vignobles de France, vol. I, Les vignes Américaines, Déhan, Montpellier.
- Galet, P. (1998).** Précis d'Ampélographie Pratique (7^{eme} Ed.). Imp. Saint-Jean de Védas, JF Impression, France.
- Galet, P. (2000).** Dictionnaire encyclopédique des cépages (Hachette: Paris, France). Hachette, Paris. Isnard, H., 1969. L'Algérie ou la décolonisation difficile. *Méditerranée*, 3, 325 –340.
- Goryslavets, S., Bacilieri, R., Risovannaya, V., Memetova, E., Laucou, V. (2015).** Genetic diversity of ancient grape cultivars of the Crimea region. *Vitis-Journal of Grapevine Research*, 54 (Special Issue), 37-41.
- Gramaje, D., Urbez-Torres, J. R., Sosnowski, M. R. (2018).** Managing grapevine trunk diseases with respect to etiology and epidemiology: current strategies and future prospects. *Plant disease*, 102(1), 12-39.
- Greif, C. (2003).** Les virus de la vigne et les schémas de sélection et certification phytosanitaire. Avis du pathologiste. *Progrès Agricole et Viticole*, 120, 14-15.
- Hârta, M., Pamfil, D. (2013).** Molecular Characterisation of Romanian Grapevine Cultivars Using Nuclear Microsatellite Markers. *Bulletin UASVM Horticulture*, 70(1), 131-136.
- Hasanbegovic, J., Hadziabulic, S., Kurtovic, M., Gasi, F., Lazovic, B., Dorbic, B., Skender, A. (2021).** Genetic characterization of almond (*Prunus amygdalus* L.) using microsatellite markers in the area of Adriatic Sea. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 45(6), 797-806.
- 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.
- Hvarleva, T., Rusanov, K., Lefort, F., Tsvetkov, I., Atanassov, A., Atanassov, I. (2004).** Genotyping of Bulgarian *Vitis vinifera* L. cultivars by microsatellite analysis. *VITIS-GEILWEILERHOF*-, 43(1), 27-34.
- Ibañez, J., de Andrés, M. T., Molino, A., Borrego, J. (2003).** Genetic study of key Spanish grapevine varieties using microsatellite analysis. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(1), 22-30.

- Idir, Idriss. (2016).** Connaissances sur les viroses de la vigne (étude du court-noué de la vigne dans trois régions viticoles) Alger, Blida et Medea. (Thèse de doctorat). Département de Biotechnologie, Algérie/Blida.
- Idrees, M., Irshad, M. (2014).** Molecular Markers in Plants for Analysis of Genetic Diversity: A Review. *European Academic Research*, 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.
- INRAA, 2006.** Rapport National sur l'état des ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture.
- Isnard, H. (1951).** La Vigne en Algérie. Etude géographique. France : Ophrys- Gap.
- 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.
- Jarvis, D. I., Padoch, C., Cooper, H. D. (2012).** Gestion de la biodiversité dans les écosystèmes agricoles.
- Jarvis, D. I., Hodgkin, T., Brown, A. H., Tuxill, J. D., Noriega, I. L., Smale, M., and Sthapit, B. (2016).** Crop genetic diversity in the field and on the farm: Principles and applications in research practices. *Agriculture and Human Values, Springer; The Agriculture, Food, and Human Values Society (AFHVS)*, vol. 35(2), 545-546.
- Jiménez, C., Peiró Barber, R. M., Yuste Del Carmen, A., García, J., Martínez-Gil, F., Gisbert Domenech, M. C. (2019).** Looking for old grapevine varieties. *Vitis*, 58(2), 59-60.
- Jones, N., Ougham, H., Thomas, H. and Pasˆakinskiene, 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(5), 1099-1106.

- Khouni, S., Laiadi, Z., Bertazon, N., Angelini, E., Migliaro, D. (2023).** Preservation and sanitary status of Algerian grapevine germplasm: Management and improvement. *South African Journal of Botany*, 153, 346-356.
- Koegel, S., Schieler, M., Hoffmann, C. (2013).** The ladybirdbeetle *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) as a possible predator of grape phylloxera *Daktulosphaira vitifoliae* (Hemiptera: Phylloxeridae). *European Journal of Entomology*, 110(1)
- Krüger, K., Saccaggi, D., Douglas, N. (2006).** Grapevine leafroll-associated virus 3-vector interactions: Transmission by the mealybugs *Planococcus ficus* and *Pseudococcus longispinus* (Hemiptera: Pseudococcidae). In *Extended abstracts 15th Meeting ICVG, Stellenbosch, South Africa*, 130-131.
- Laassami, A., Yekkour, A., Meklat, A., Djemouai, N., Zitouni, A., Mokrane, S., Berraf-Tebbal, A. (2020).** Actinobacteria associated with vineyards oils of Algeria: Classification, antifungal potential against grapevine trunk pathogens and plant growth-promoting features. *Current Microbiology*, 77(10), 2831-2840.
- Lacombe, T., Boursiquot, J. M., Laucou, V., Di Vecchi-Staraz, M., Péros, J. P., This, P. (2013).** Large-scale parentage analysis in an extended set of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 126(2), 401-414.
- Laiadi, Z. (2009).** توصيف مظهري (Ampélographie) وجزئي (SSR) لتعريف وتثمين أصناف من العنب المحلي (*Vitis vinifera* L.) (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.
- Laiadi, Z., Rahali, M., Achour, H. (2019).** Molecular Clarifications of Grapevine Identities in Algerian Germplasm Collections using Microsatellite Markers. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 12(3). 319–322.
- Larnaude, M. (1948).** La vigne en Algérie d'après H. Isnard. In *Annales de Géographie*, 308 (57), 356-359.
- 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.

- Lakhrif, Z. (2011).** Contribution à la caractérisation de la diversité variétale des vignes locales par la mise au point d'un modèle bioinformatique et statistique à base de donnée ampélographique (Data OIV) (Thèse de doctorat). Université mohamed khider-Biskra.
- 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.
- Levadoux L. (1956).** Les populations sauvages et cultivées de *Vitis Vinifera L.*, *Amélioration des plantes*, 59-118. Institut national de la recherche agronomique.
- Levadoux, L., Benabderrabou, A., Douaouri, B. (1971).** Ampelographie Algérienne; cepages de cuve et de table cultivés en Algérie, SNED.
- Liu, Z.J. (2011).** Next Generation Sequencing and Whole Genome Selection in Aquaculture. New York: Wiley-Blackwell.
- Lodhi, M. A., Weeden, N.F., Reisch, B.I. (1995).** Nuclear DNA contents of *Vitis* species, cultivars and other genera of Vitaceae. *Theoretical and Applied Genetics*, 19,11-16.
- Louadi, K., Robaux, P. (1992).** Etudes des populations d'acariens pulvicoles dans l'Est Algérien selon les Gradients climatiques propres a cette région, *Acarologia*,33 (2), 177-191.
- Maghradze, D., Failla, O., Bacilieri, R., Imazio, S., Vashkidze, L., Chipashvili, R., Scienza, A. (2010).** Georgian *Vitis* germplasm: usage, conservation and investigation. *Bulletin de l'OIV-Organisation Internationale de la Vigne et du Vin*, 83(956), 485.
- Maghradze, D., Maletić, E., Maul, E., Faltus, M., Failla, O. (2015).** Field gene bank standards for grapevines (*Vitis vinifera L.*). *Vitis*, 54 (Special issue), 273-279.
- Mahfoudhi, N., Digiario, M., Dhouibi, M. H. (2009).** Transmission of grapevine leafroll viruses by *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) and *Ceroplastes rusci* (Hemiptera: Coccidae). *Plant Disease*, 93(10), 999-1002.
- Maletić, E., Pejić, I., Kontić, J. K., Zdunić, D., Preiner, D., Šimon, S., Mucalo, A. (2015).** Ampelographic and genetic characterization of Croatian grapevine varieties. *Vitis-Journal of Grapevine Research*, 54 (Special Issue), 93-98.
- 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.

- Margaryan, K., Melyan, G., Röckel, F., Töpfer, R., Maul, E. (2021).** Genetic diversity of Armenian grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm: Molecular characterization and parentage analysis. *Biology*, 10(12), 1279 (Basel).
- Marshall, D. R., Brown, A. H. D. (1975).** Optimum sampling strategies in genetic conservation. In Frankel OH and Hawkes JG, eds., *Crop genetic resources for today and tomorrow* (53-80). Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- 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.
- Martín, J. P., Borrego, J., Cabello, F., Ortiz, J. M. (2003).** Characterization of Spanish grapevine cultivar diversity using sequence-tagged microsatellite site markers. *Genome*, 46(1), 10-18.
- Martinson, T. E., Fuchs, M., Loeb, G., Hoch, H. C. (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. *Finger Lakes Vineyard Notes*, 6, 6-11.
- Maul, E., Sudharma, K.N., Kecke, S., Marx, G., Muller, G., Audeguin, L., Boselli, M., Boursiquot, J.M., Bucchetti, B., Cabello, F., Carraro, F., Crespan, M., De Andres, M.T., Dias, J.E., Ekhvaia, 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., Maletić, E., Moreira, F., Mario Munoz-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 (2), 79–85.
- McGovern, P.E. (2003).** *Ancient Wine: The Search for the Origins of Viniculture* P.U. Press, ed (Princeton University Press).
- 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. MATE 67p.

- 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(1), 3-33.
- Meng, B., Martelli, G. P., Golino, D. A., and Fuchs, M. (Eds.). (2017).** Grapevine viruses: molecular biology, diagnostics and management. 257-288. Cham: Springer International Publishing.
- Meng, B., Li, C., Goszczynski, D.E., Gonsalves, D. (2005).** Genome sequences and structures of two biologically distinct strains of Grapevine leafroll-associated virus 2 and sequence analysis. *Virus genes*, 31 (1), 31-41.
- Migliaro, D., Morreale, G., Gardiman, M., Landolfo, S., Crespan, M. (2013).** Direct multiplex PCR for grapevine genotyping and varietal identification. *Plant Genetic Resources*, 11(2), 182-185.
- Mohammadi, S.A., Prasanna, B.M. (2003).** Analysis of genetic diversity in crop plants salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43,1235-1248.
- Morrell, P. L., Buckler, E. S., Ross-Ibarra, J. (2012).** Crop genomics: 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.
- Nebish, A., Ochssner, I., Maul, E., Topfer, R., Hausmann, L., Hovhannisyan, A., Devejyan, H., Melyan, G., Aroutiounian, R. (2017).** Genetic identification and characterization of Armenian grapevine cultivars. In: Proceedings of the 40th World Congress of Vine and Wine, *BIO Web of Conferences*, Sofia, Bulgaria 9, 01020.
- OEPP/EPPO. (1992).** Recommandations du Conseil de l'OEPP en 1981: certification virologique des arbres fruitiers, greffons et porte greffe. Documents techniques de l'OEPP n° 1013, 42-43.
- OEPP/EPPO. (2008).** 4/8 Pathogen-Tested Material of Grapevine Varieties and Rootstocks. *EPPO Bull*, 2008, vol. 38, p. 422-429.
- OIV. (2009).** OIV descriptor list for grape varieties and Vitis species O.I.V (2ended). Paris: Édit. *International Organisation of Vine and Wine*. Paris, France.
- Ollat, N., Touzard, J. M., and van Leeuwen, C. (2016).** Climate change impacts and adaptations: new challenges for the wine industry. *Journal of Wine Economics*, 11(1), 139- 149.

- 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.
- Ozturk, L., Avci.G.A., Elekcioğlu, İ. H. (2017).** Incidence of viruses and vector nematodes in thrace vineyards, turkey. *International Journal of Agriculture and Environmental Research*. 06 (3), 4078- 4089.
- Paetkau D, Calvert W, Stirling I, Strobeck C. (1995).** Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology*,4:347-354.
- Peakall, R. O. D., Smouse, P. E. (2006).** GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 6(1), 288-295.
- Perold, A. I. (1916).** Some Viticultural and Oenological Experiments Conducted at the Paarl Viticultural Experiment Station During 1915-1916. Government Print. And Stationery Office.
- 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.
- Pertot, I., Caffi, T., Rossi, V., Mugnai, L., Hoffmann, C., Grando, M. S., Anfora, G. (2017).** A critical review of plant protection tools for reducing pesticide use on grapevine and new perspectives for the implementation of IPM in viticulture. *Crop Protection*, 97, 70-84.
- 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 Candolle (ed., vol 5). *Monographiae phanerogamarum* (306-356). France : Editions Masson, Paris.
- Planchon, J. (1887).** Monographie des Ampelidées vrais. In A. F. P. P. De Candolle and C. De Cadolle [eds.], *Monographiae Phanaerogamarum* 5(2). G. Masson, Paris, France,305-654.
- Poljuha, D., Sladonja, B., Bubola, M. (2010).** Incidence of viruses infecting grapevine varieties in Istria (Croatia). *J. Food Agric. Environ*, 8 (1), 166-169.
- Popescu, C. F., Bădulescu, A., Ștefănescu, D., Călin, G. (2018).** The management of *ex situ* grapevine germplasm collections. *Current Trends in Natural Sciences* Vol, 7(13), 252-260.

- Popescu, C. F., Crespan, M. (2018).** Combining microsatellite markers and ampelography for better management of Romanian grapevine germplasm collections. *Notulae Scientia Biologicae*, 10(2), 193-198.
- Popescu, C. F., Maul, E., Dejeu, L. C., Dinu, D., Gheorge, R. N., Laucou, V., Crespan, M. (2017).** Identification and characterization of Romanian grapevine genetic resources. *Vitis*, 56(4), 173-180.
- Pouget, R. (1990).** Histoire de la lutte contre le Phylloxéra de la vigne en France. Paris, France: INRA, OIV (eds), Editions Quae.
- Rahali, M. (2020).** Contribution à l'analyse génétique et virale de quelques variétés de vignes cultivées à Babar, Khenchela (Thèse de doctorat). Sciences de la nature et de la vie, Université Biskra, Algérie.
- Rahali, M., Migliaro, D., Laiadi, Z., Bertazzon, N., Angelini, E., Crespan, M. (2019).** Genetic identification, origin and sanitary status of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) grown in Babar, Algeria. *Vitis*, 58(4), 153-158.
- Regner, F., Hack, R., Santiago Blanco, J. L. (2006).** Highly variable *Vitis* microsatellite loci for the identification of Pinot Noir clones. *Vitis* 45 (2), 85–91.
- Reynier, A. (2007).** Manuel de viticulture. Paris : Edit, Tec. Doc.
- Reynier, A. (2011).** Manuel de viticulture : Guide technique du viticulteur (11e édition). Paris: Lavoisier.
- Riahi, L., Zoghalmi, N., El-Heit, K., Laucou, V., Le Cunff, L., Boursiquot, J. M., This, P. (2010).** Genetic structure and differentiation among grapevines (*Vitis vinifera*) accessions from Maghreb region. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57 (2), 255-272.
- Riahi, L., Laucou, V., Le Cunff, L., Zoghalmi, N., Boursiquot, J. M., Lacombe, T., This, P. (2012).** Highly polymorphic Nsr markers: a useful tool to assess origin of North African cultivars and to provide additional proofs of secondary grapevine domestication events. *Scientia horticulturae*, 141, 53-60
- Riaz, S., De Lorenzis, G., Velasco, D., Koehmstedt, A., Maghradze, D., Bobokashvili, Z., Arroyo-Garcia, R. (2018).** Genetic diversity analysis of cultivated and wild grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions around the Mediterranean basin and Central Asia. *BMC plant biology*, 18(1), 1-14.

- Rustioni, L., Maghradze, D., Popescu, C.F., Cola, G., Abashidze, E., Aroutiounian, R., Brazão, J., Coletti, S., Cornea, V., Dejeu, L., Dinu, D., Eiras Dias, J.E., Fiori, S., Goryslavets, S., Ibañez, J., Kocsis, L., Lorenzini, F., Maletić, E., Mamasakhlishashvili, L., Margaryan, K., Mdinardze, I., Memetova, E., Montemayor, M.I., Muñoz-Organero, G., Nemeth, G., Nikolaou, N., Raimondi, S., Risovanna, V., Sakaveli, F., Savin, G., Savvides, S., Schneider, A., Schwander, F., Spring, J.L., Pastore, G., Preiner, D., Ujmajuridze, L., Zioziou, E., Maul, E., Bacilieri, R., Failla, O. (2014).** First results of the European grapevine collections' collaborative network: validation of a standard eno-carpo logical phenotyping method. *Vitis*, 53 (4), 219-226.
- Santana, J. C., Hidalgo, E., De Lucas, A. I., Recio, P., Ortiz, J. M., Martín, J. P., Rubio, J. A. (2008).** Identification and relationships of accessions grown in the grapevine (*Vitis vinifera* L.) Germplasm Bank of Castilla y León (Spain) and the varieties authorized in the VQPRD areas of the region by SSR-marker analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55, 573-583.
- Salayeva S, Decroocq S, Mariette S, Akhundova E. (2010).** Comparison of genetic diversity between cultivated and wild grape varieties originating from the near-Caspian zone of Azerbaijan. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 44 (4), 191-200.
- Schneider, A., Carra, A., Akkak, A., This, P., Laucou, V. A. L. E. R. I. E., Botta, R. (2001).** Verifying synonymies between grape cultivars from France and North western Italy using molecular markers. *VITIS-GEILWEILERHOF*-, 40(4), 197-204.
- Schneider, A., Marinoni, D. T., Crespan, M. (2008).** Genetics and ampelography trace the origin of Muscat fleur d'oranger. *American journal of enology and viticulture*, 59(2), 200-204.
- Schuck, M. R., Moreira, F. M., Guerra, M. P., Voltolini, J. A., Grando, M. S., Silva, A. L. D. (2009).** Molecular characterization of grapevine from Santa Catarina, Brazil, using microsatellite markers. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44, 487-495.
- Schuck, M. R., Biasi, L. A., Mariano, A. M., Lipski, B., Riaz, S., Walker, M. A. (2011).** Obtaining interspecific hybrids, and molecular analysis by microsatellite markers in grapevine. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46, 1480-1488.
- 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 and Biotechnology of the Grapevine* (433-466). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

- Sefc, K. M., Lopes, M. S., Lefort, F., Botta, R., Roubelakis-Angelakis, K. A., Ibanez, J., Steinkellner, H. (2000).** Microsatellite variability in grapevine cultivars from different European regions and evaluation of assignment testing to assess the geographic origin of cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 498-505.
- Sefc, K.M., Pejic, I., Maletić, 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.
- Selmi, I., Pacifico, D., Carimi, F., Mahfoudhi, N. (2017).** Prevalence of viruses associated with grapevine rugose wood disease in Tunisia. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 12(2), 149-158.
- Snoussi, H., M.H. Ben Slimane, L. Ruiz-Garcia, J.M. Martinez-Zapater, and R. Arroyo-Garcia. (2004).** Genetic relationship among cultivated and wild grapevine accessions from Tunisia. *Genome*, 47:1211-1219.
- 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.
- Sripholtaen, A., Charoenchai, C., Urairong, H. (2016).** Application of microsatellite markers for identification of wine grape varieties in Thailand. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*, 21(1), 97-110.
- Staraz, M. D. V., Bandinelli, R., Boselli, M., This, P., Boursiquot, J. M., Laucou, V., Vares, D. (2007).** Genetic structuring and parentage analysis for evolutionary studies in grapevine: kin group and origin of the cultivar Sangiovese revealed. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132(4), 514-524.

- 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.
- Tahirine, M., Louanchi, M., Aitouada, M. (2020).** Actualisation à la révélation de deux virus responsables à la maladie du court noué de la vigne du genre *Vitis* dans la région Centre et Ouest de l'Algérie par voie sérologique et biochimique *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)*. *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)*, 14(1), 150-158.
- This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R., Costantini, L., Crespan, M., Dangl, G.S., Eisenheld, C., Ferreira-Monteiro, F., Grando, M.S., Ibañez, J., Lacombe, T., Laucou, V., Magalhaes, M., Meredith, C.P., Milani, N., Peterlunger, E., Regner, F., Zulini, L., Maul, E., (2004).** Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 109, 1448-1458.
- This, P., Lacombe, T., Thomas, M. R. (2006).** Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *TRENDS in Genetics*, 22(9), 511-519.
- Thomas, M.R., Matsumoto, S., Cain, P., Scott, N.S. (1993).** Repetitive DNA of grapevine: classes present and sequences suitable for cultivar identification. *Theoretical and Applied Genetics*, 86,173-180.
- Toumi, M. (2006).** Évaluation de l'état nutritionnel du vignoble de table (Thèse de doctorat). Institut National Agronomique El Harrach. Algérie, 158.
- Upadhyaya, H.D., Gowda, C.L.L., Sastry, D.V.S.S.R. (2008).** Management of germplasm and their use by mini core and molecular approaches. *Capacity building for risk management systems On genetic resources*, 35-70.
- Venturini, M. (2003).** Vignobles de l'Algérie coloniale, une histoire du vin français ou Algérien, Edition CFCE, 41-42.
- Vié, J. C., Hilton-Taylor, C., Stuart, S. N. (Eds.). (2009).** *Wild life in a changing world: an analysis of the 2008 IUCN Red List of threatened species*. IUCN.
- Vouillamoz, J. O. S. È., Monaco, A., Costantini, L., Stefanini, M., Scienza, A., Grando, M. S. (2007).** The parentage of 'Sangiovese', the most important Italian wine grape. *Vitis*, 46 (1), 19-22.

- Welter LJ, Gökturk-Baydar N, Akkurt M, Maul E, Eibach R, Topfer R and Zyprian EM. (2007).** Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Molecular Breeding*, 20: 359–374.
- Yılmaz, F., Shidfar, M., Hazrati, N., Kazan, K., YükselÖzmen, C., Uysal, T., Ergül, A. (2020).** Genetic analysis of central Anatolian grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm by simple sequence repeats. *Tree Genetics and Genomes*, 16 (4), 1-11.
- Zah-Bi, I. C. (2014).** Génomique comparative entre *Muscadinia rotundifolia* et *Vitis vinifera* pour faciliter l'identification de gènes de resistance (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. sativa*) 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., Laiadi, Z., Benmehaia, R., Gago, P., Boso, S., Santiago, J. L.,Martínez, M. C. (2014).** Comparative ampelographic and genetic analysis of grapevine cultivars from Algeria and Morocco. *Australian journal of grape and wine research*, 20(2), 324-333.
- Zohary, D. and Hopf, M. (2000).** Domestication of plants in the old world: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley (Oxford University Press)
- Zombardo, A., Storchi, P., Valentini, P., Ciofini, A., Migliaro, D., Crespan, M. (2021).** Recovery, molecular characterization, and ampelographic assessment of marginal grapevine germplasm from southern umbria (Central Italy). *Plants*, 10(8), 1539.

SITES D'INTERNET :

Catalogue italien de la vigne (<http://catalogoviti.politicheagricole.it/>)

Cervus vs 3.0 (<http://www.fieldgenetics.com/pages/download.jsp>)

Food and Agriculture Organization (<http://www.fao.org>)

GenAIEx release 6.51b2.xlam (<http://biologyassets.anu.edu.au/GenAIEx/Welcome.html>)

MEGA-X (<http://www.megasoftware.net/>)

Office national des statistiques (<https://www.ons.dz/>).

Organisation internationale de la vigne et du vin (OIV) (<http://www.oiv.int>, consulté le 15 August 2021).

Populations-1.2.32 (http://bioinformatics.org/populations/#ancre_telechargement)

Réseau Français des conservatoires de vigne

(https://bioweb.supagro.inra.fr/collections_vigne/SearchS.php , 15 août 2021).

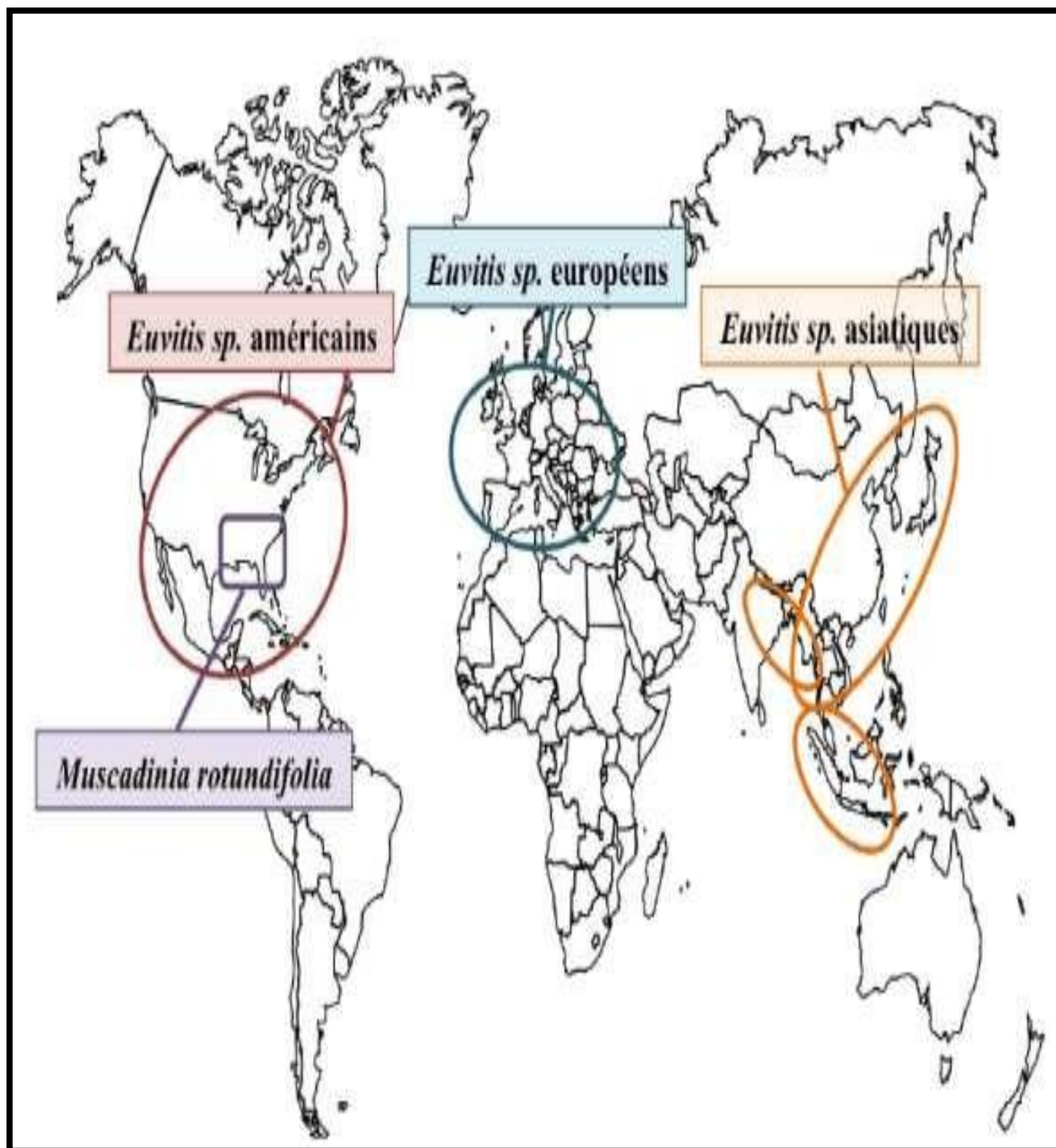
Statista (<https://fr.statista.com/>)

Vitis International Variety Catalogue (VIVC, <http://www.vivc.de>).

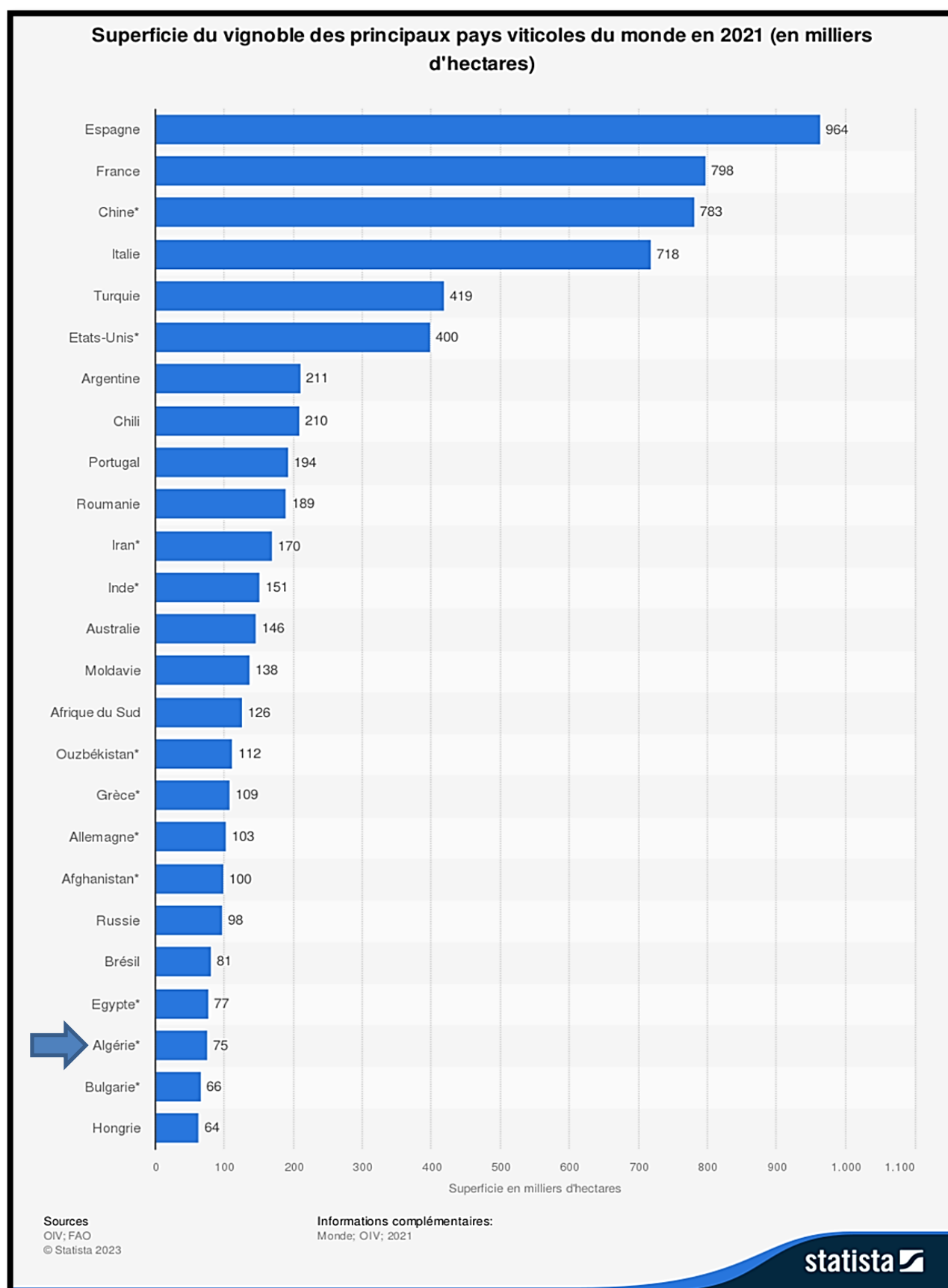
ANNEXES

ANNEXES

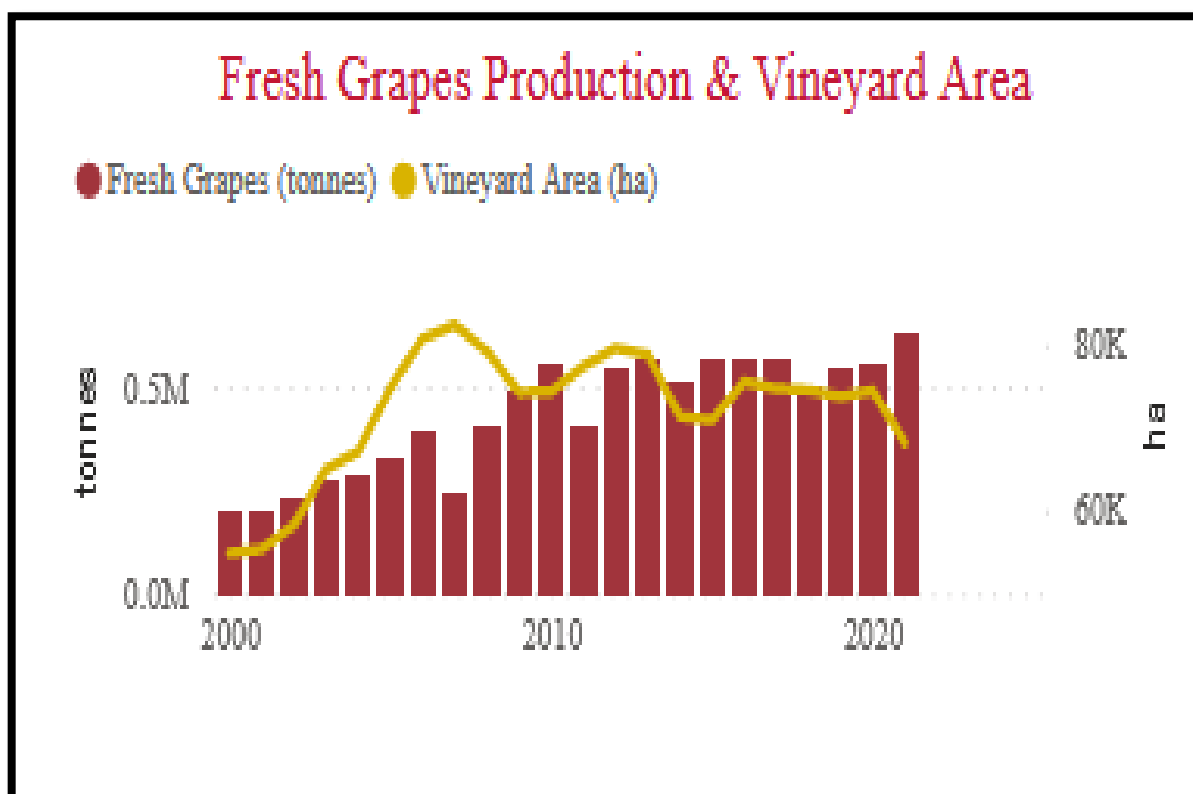
ANNEXE A : Localisation géographique des groupes de Vitis : Européens, Asiatiques et Américains (Zah-Bi, 2014).



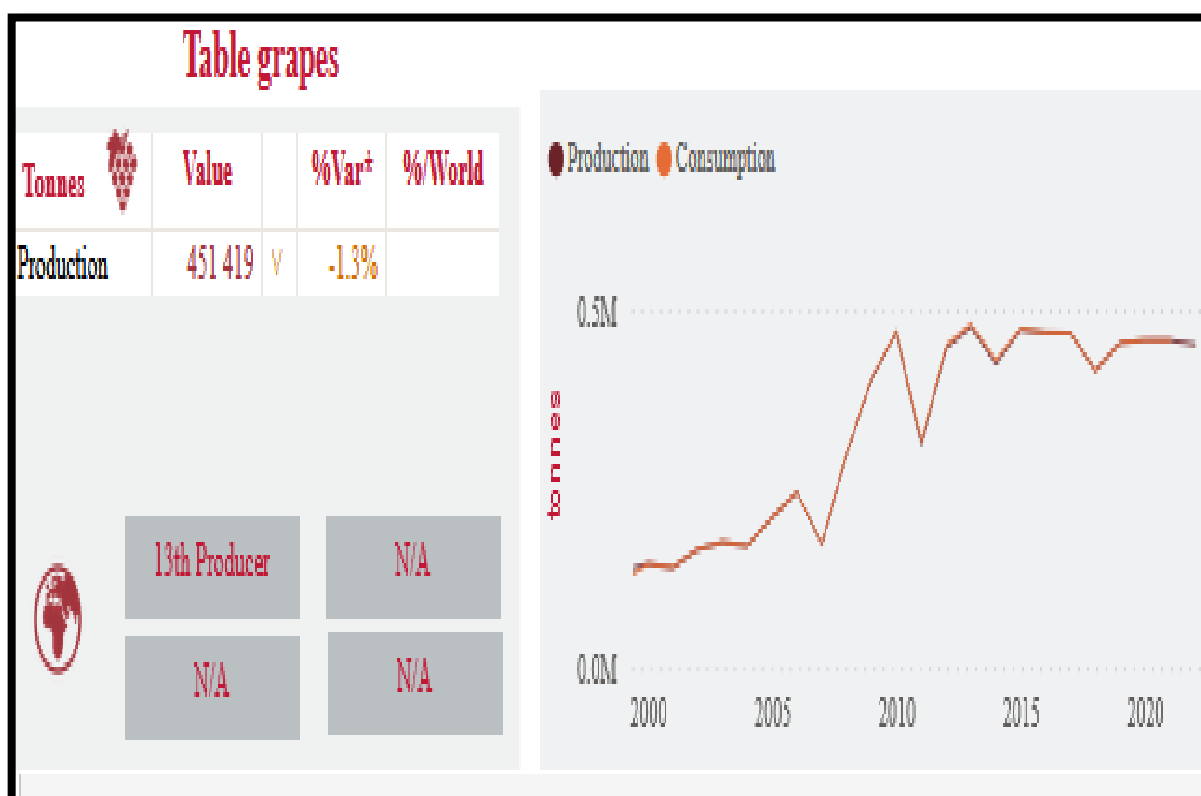
ANNEXE B : Superficie du vignoble des principaux pays viticoles du monde en 2021 (OIV, 2021 ; <https://fr.statista.com/>).



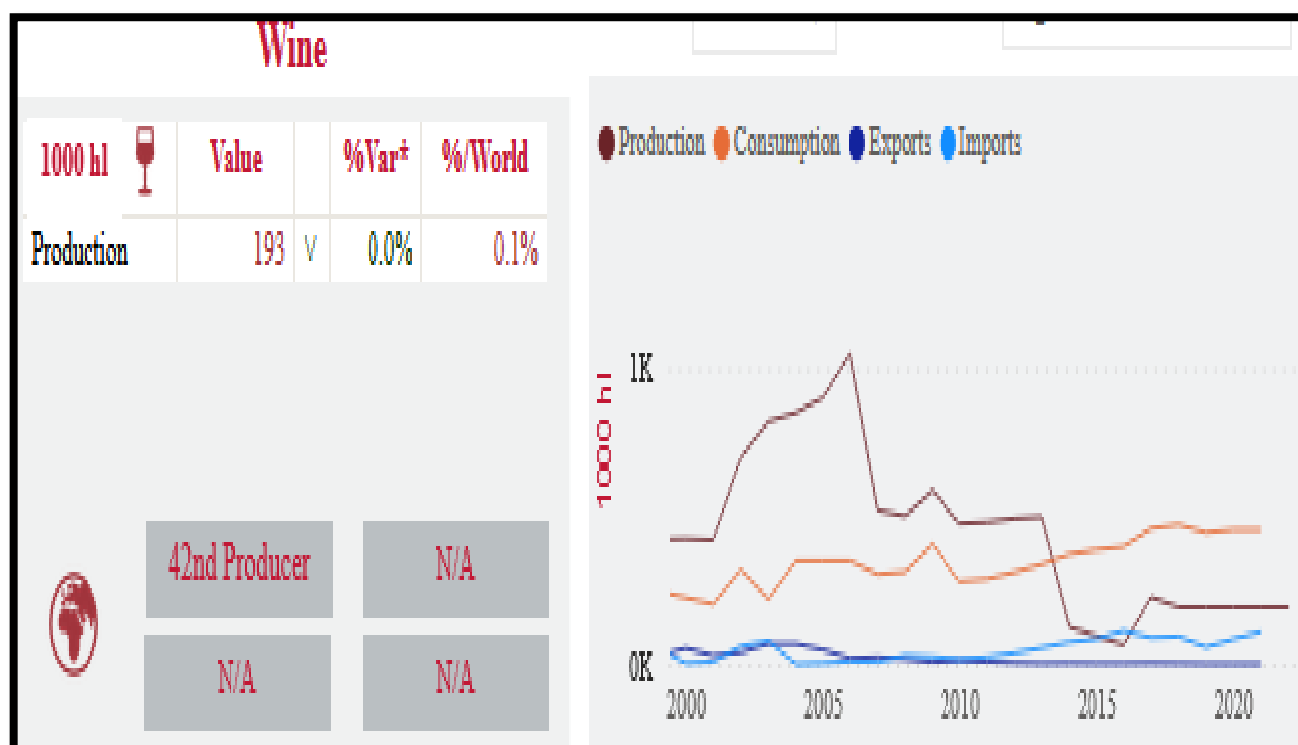
ANNEXE B1 : la production et la superficie du vignoble en Algérie 2022 (OIV, 2022).



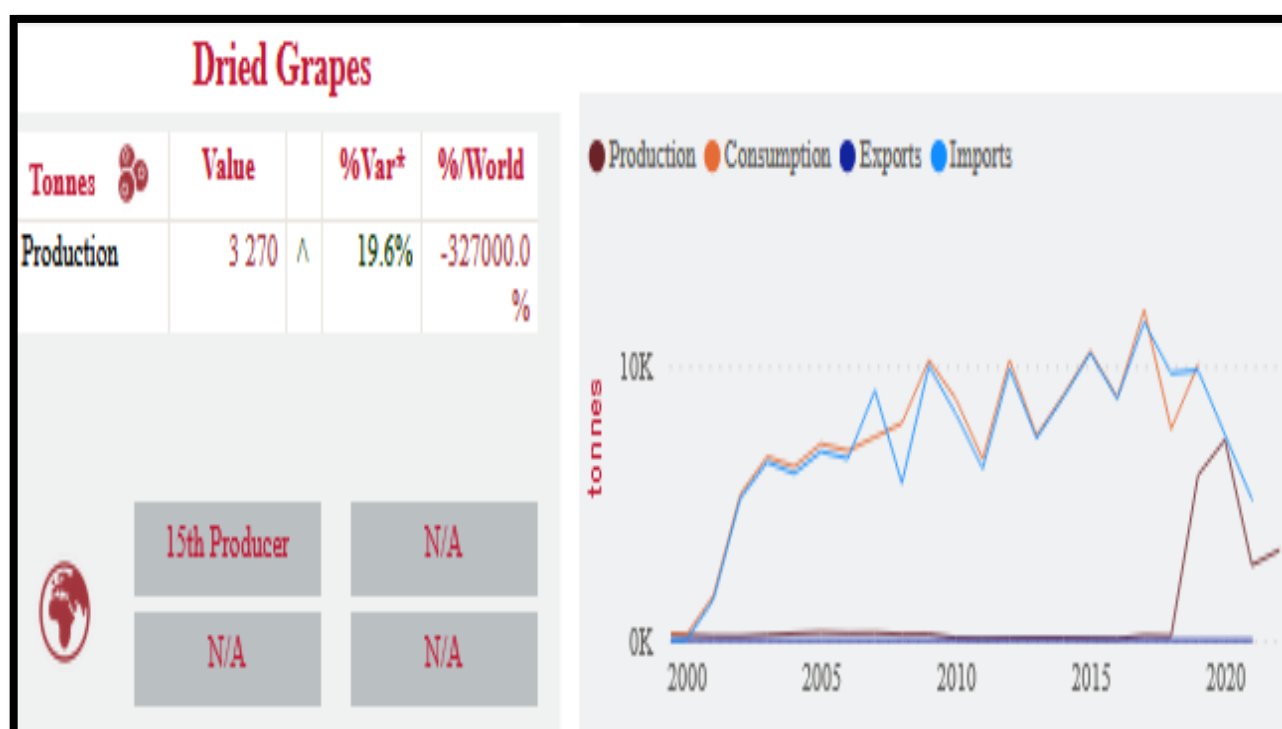
ANNEXE C : La production, consommation de raisins de table en Algérie, 2021 (OIV, 2022 ; <https://www.oiv.int/>).



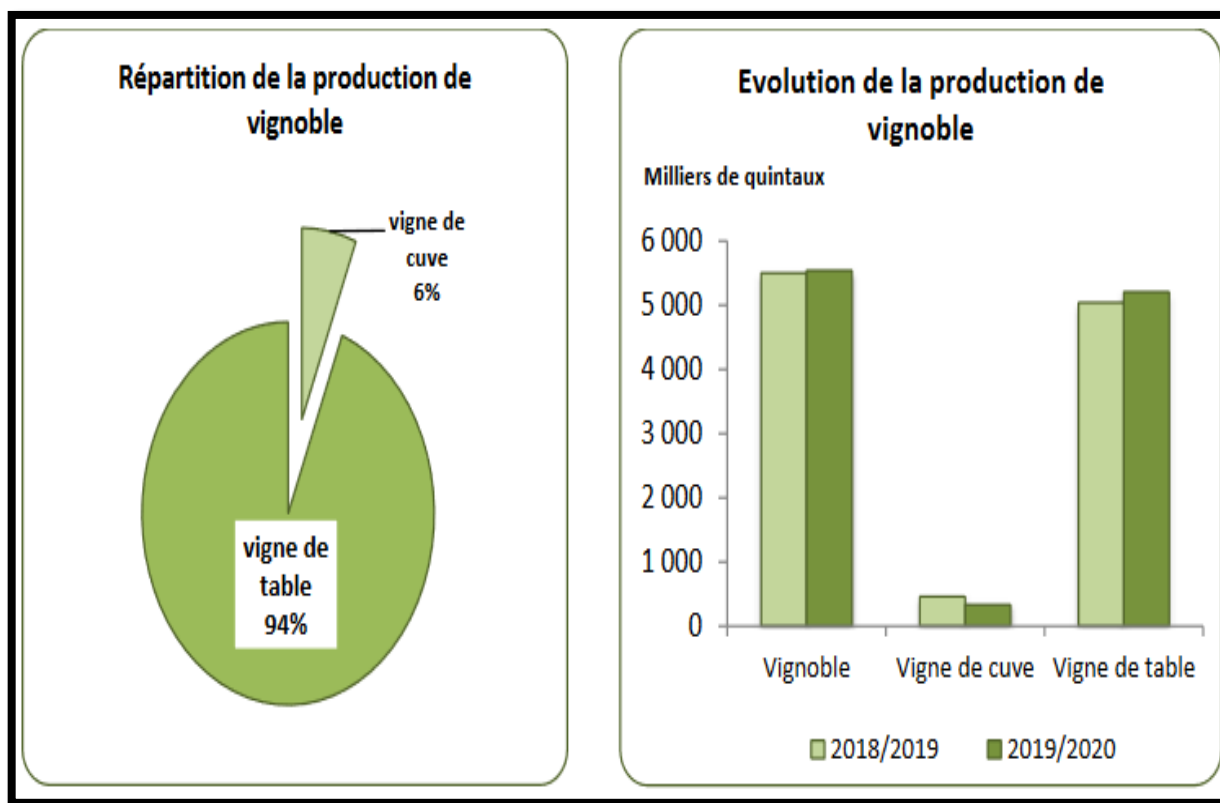
ANNEXE C1 : La production, consommation, exportations et importations de vin en Algérie, 2021 (OIV, 2021 ; <https://www.oiv.int/>).



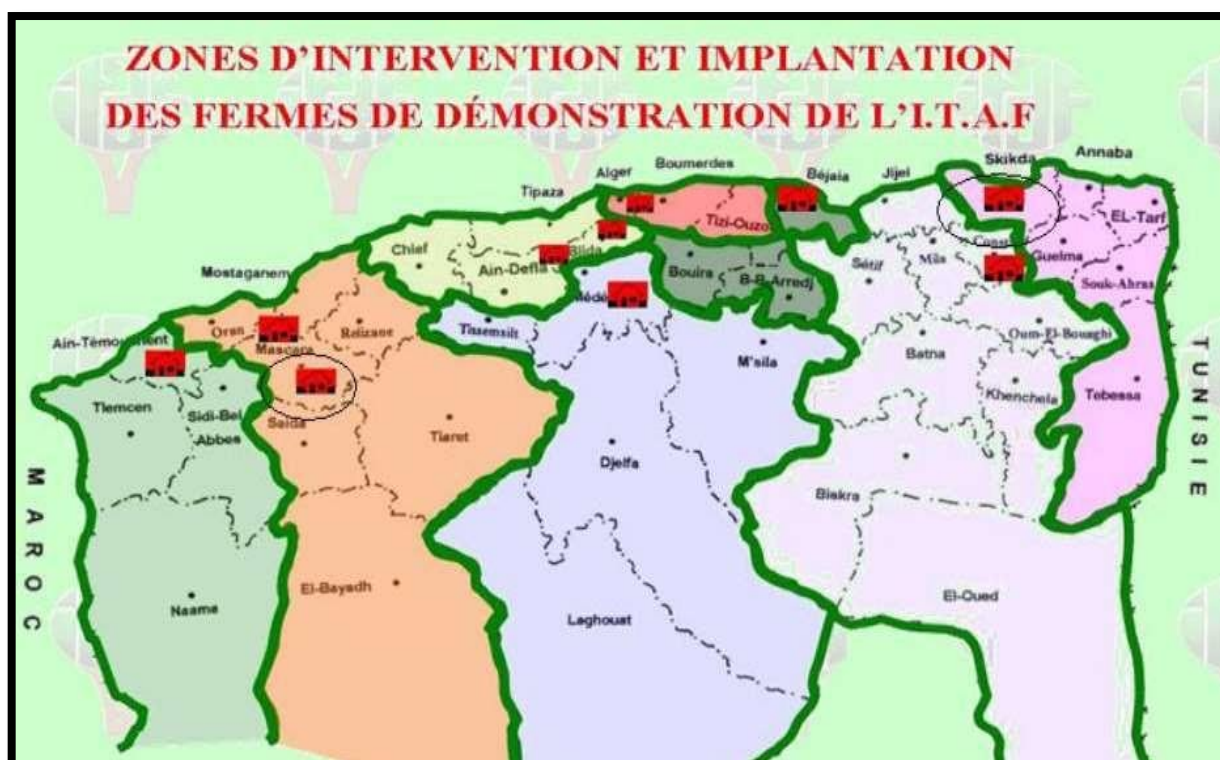
ANNEXE C2 : La production, consommation, exportations et importations de raisinsecs en Algérie, 2021 (OIV, 2021 ; <https://www.oiv.int/>).



ANNEXE C3 : Répartition et évolution de la production de la vigne en Algérie 2020 (Office National des Statistiques (<https://www.ons.dz/>)).



ANNEXE D : Zones d'intervention et implantation des fermes de démonstration de l'ITAF(Lakhrif, 2011).



ANNEXE E : Description de la région d'étude.



ANNEXE E1 : Vue générale de la parcelle d'étude.



ANNEXE E2 : Pépinière en pleine terre pour la production de futurs porte greffes issus de semis.



ANNEXE E3 : Retenue collinaire au niveau de l'ITAFV (Mezez Edchich)



ANNEXE E4 : Serre de multiplication et d'élevage de plantes greffées



ANNEXE E5 : Plantes greffées de diverses espèces destinées à la commercialisation et à l'autoconsommation



ANNEXE E6 : Superficie occupée par les porte greffes dans la collection (champs de pieds-mère, CPM).

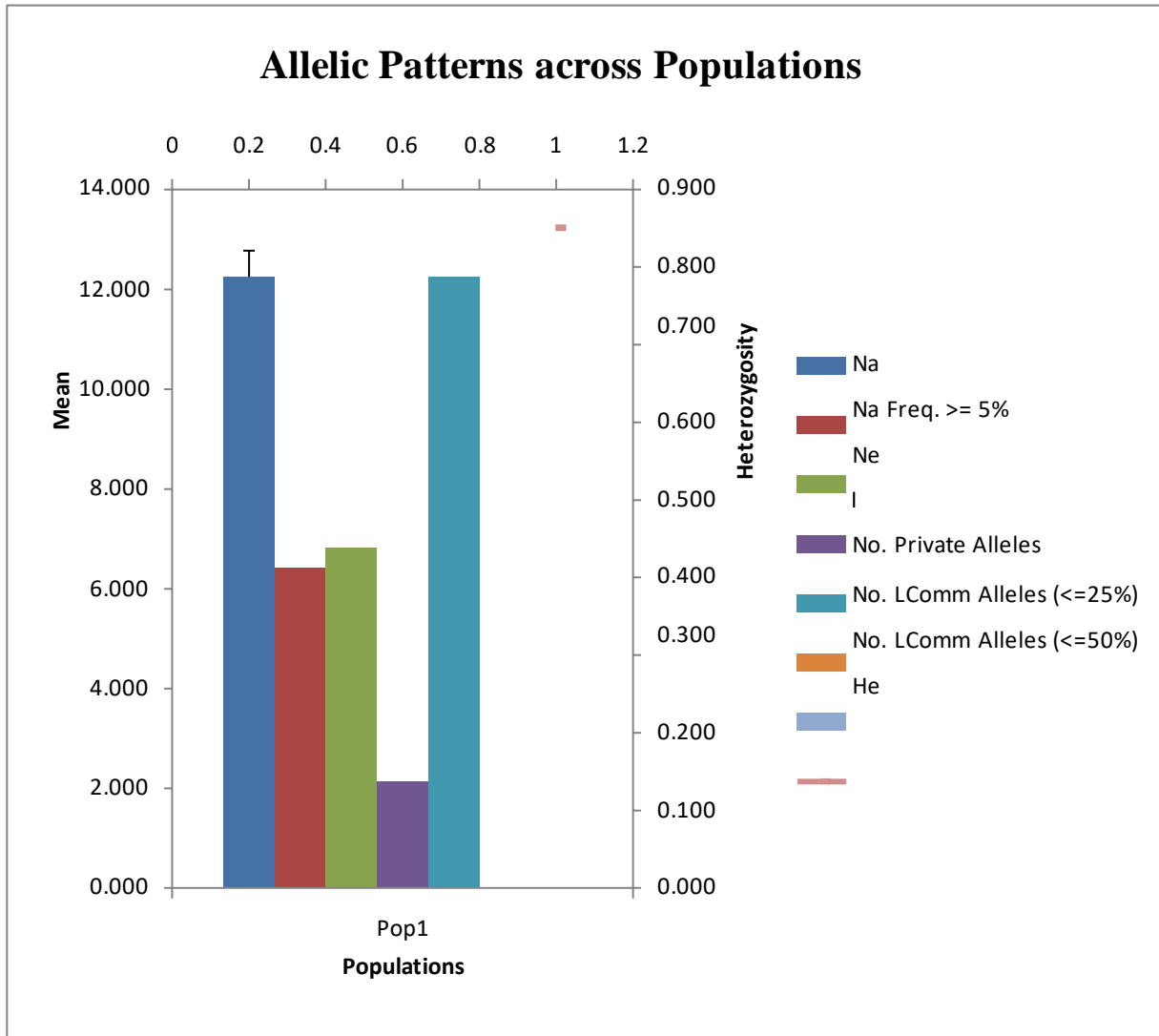
Espèce	Variétés	Catégorie	Densité (écartement)	Année de Plantation	Nombre de plants excitants	Désignation de la parcelle	Superficie	Origine du Matériel Végétal	
Vigne	1) SO4/102	Pré -Bse	1.5X3	1993/1994	186	02/06	04 46 08	M.C.AXI.France	
	2) 41B/194			1993	55				
	3) 1103P/112			1994	34				
	4) 1101P/113			1994	24				
	5) 99R/179			1994	19				
	6) 110R/151			1993	269				
	7) 140RU/101			1993	240				
	8) 41B/195			1994	153				
	9) 140RU/200			1994	54				
	10) 140RU/265			1994	35				
	11) 110R/140			1994	50				
	12) 110R/139			1994	54				
	1. 99R/96	Base	1.5X3	1990	52	46	04 46 08	Gikibert.France	
	2. 110R/06			-	68				
	3. 140RU/101			-	88				
	4. 1103P/113			-	61				
	5. 3309C/111			-	126				
	6. SO4/05			-	94				
	7. 41B/153			-	30				
	1/ 140RU/265	Base	1.5X3	2000	613	46	04 46 08	Itaf	
	2/ 110R/151			-	582				
	3/ 1103P/768			-	802				
	1) 1103P/113	Base	1.5X3	2001	389	46	04 46 08	Itaf	
	2) 99.R/179			-	332				
	3) 1103P/112			-	741				
	Total					5151			

ANNEXE E7 : Superficie occupée par les variétés de la vigne dans la collection.

Espèce	Variétés	Catégorie	Densité (écartement)	Année de Plantation	Nombre de plants excitants	Désignation de la parcelle	Superficie	Origine du Matériel Végétal
Vigne	Ahmar Mechtras II	Standard	3X1.3	31/01/1990	5	02	00 35 10	Manque d'information
	Ahmar Mechtras III		-	-	8			
	Valenci Noir		-	-	10			
	Amokrane		-	-	7			
	Ahmar De Mascara		-	-	12			
	Aberkane		-	-	4			
	Kabyl Aldebert		-	-	12			
	Muscat El Adda		-	-	12			
	Lakhzine		-	-	12			
	Bouabar Des Aures		-	-	13			
	Farina Noir		-	-	7			
	Farana De Mascara		-	-	9			
	Tadlith		-	-	11			
	Muscat De Fandouk		-	-	11			
	Adadi		-	-	5			
	Ahchichene		-	-	12			
	Adari des Bibans		-	-	13			
	Muscat de Fandouk		-	-	12			
	Ghanez		-	-	14			
	Ain El Bouma		-	-	11			
	Tinesirine		-	-	11			
	Sultanine De Fandouk		-	-	3			
	Valenci Blanc		-	-	5			
	Bouni		-	-	13			
	Toustain		-	-	5			
	Bezoul El Khadem		-	-	10			
	Aïn El Kelb		-	-	9			
	Tizi ouiouine		-	-	8			
	Aneb El cadì		-	-	11			
	Sbaa Tolba		-	-	10			
Lakhdari	-	-	7					
Ahmed Draa Mizene	-	-	6					
Farina Blanc	-	-	9					

	Boghni		-	-	10			
	Louali		-	-	4			
	Muscat De Berkaim		-	-	7			
	El Wali		-	-	6			
	Amellal		-	-	9			
	Cherchali		-	-	7			
	Italia		-	-	13			
	Aneb El cadì		-	-	1			
	Ahmar Bouameur		-	-	3			
	Torki		-	-	2			
	Muscat Noir		-	-	2			
	Muscat basp		-	-	6			
	Sultanine		-	-	4			
	Corrin Seedless		-	-	2			
	Centennial		-	-	1			
	Valenci Noir		-	-	4			
	Alvina		-	-	8			
	Aneb kabyl		-	-	8			
	Sidi Ahmed Draa Mizene		-	-	12			
	Sulima		-	-	7			
	Dona Maria		-	-	7			
	Ahmar De Mascara		-	-	11			
	Christmas Rose		-	-	6			
	Halawani		-	-	8			
	Baladi		-	-	4			
	Dattier De Beirouth		-	-	9			
	Alphonse Lavalée		-	-	7			
Total					475			

ANNEXE F : Moyenne des paramètres de diversité génétique.





Preservation and sanitary status of Algerian grapevine germplasm: management and improvement



Samia Khouni^a, Ziane Laiadi^{a,*}, Nadia Bertazzon^b, Elisa Angelini^b, Daniele Migliaro^b

^a Laboratory of Genetic, Biotechnology and Valorization of Bioresources (LGBVB), University of Biskra, BP 145 RP, Biskra 07000, Algeria

^b Council for Agricultural Research and Economics, Research Centre for Viticulture and Enology, Conegliano, TV, Italy

ARTICLE INFO

Article History:

Received 18 August 2022

Revised 15 December 2022

Accepted 5 January 2023

Available online 11 January 2023

Edited by: A. Ndhkala

Keywords:

Germplasm recovery
Nuclear microsatellites
Genetic identification
Duplication
Misnaming
Virus occurrence
Genetic relationships

ABSTRACT

The conservation of genetic variability and the preservation of vine biodiversity are critical, current objectives of viticultural research. Germplasm assessment is extremely difficult, particularly when many accessions are included. Microsatellite markers have become an essential tool for germplasm collection management and an approach to genetic diversity. This research reviews the molecular characterization of eighty-one accessions stored at the Skikda germplasm collection in Algeria, as well as ELISA analysis to detect viruses and estimate sanitary status. Accessions were genotyped with 12 highly polymorphic microsatellite markers, including the nine 'international' loci used for grapevine identity. Genetic diversity is affirmed by the high number (149) of different alleles (mean of 12.42 alleles per locus), the average expected heterozygosity and observed heterozygosity were determined to be 0.850 and 0.864, respectively and to uncover instances of synonymy, misnaming, and duplication. A total of 43 distinct genotypes were found and the genotypes of 30 accessions were validated according to the reference literature and *Vitis* public and private databases; most of autochthonous varieties that have been propagated for a long time in a small, closed and circle area have displayed a high incidence of GLRaV-3 and GVA, with 61.9% and 50%, respectively. A close relationship was demonstrated with certain grape varieties from the eastern and western areas of the Mediterranean basin, resulting from previous vine cultivar exchanges. Together, our results can improve grapevine germplasm management and emphasizes the need to recover the endangered genetic diversity that characterizes negligible and ignored vines or germplasm biotypes, and the need to reappraise and support the effective exploitation of variability resources to assist in the development of new grapes varieties and rootstocks which will then enhance the regional food and agriculture industry.

© 2023 SAAB. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

In Algeria, the grapevine is the third-most abundant (75,000 hectares) fruit crop after olive and date (Laassami et al., 2020), and has a very long historic evolution, being strongly linked with a changing civilization and society in general. Algeria is the largest country in North Africa, and it has a great diversity of grape cultivars as well as a wide range of climatic conditions (Laiadi et al., 2009; Riahi et al., 2010). The grapevine is one of the most intensively cultivated plants worldwide (Pertot et al., 2017; Gramaje et al., 2018) and has a very substantial economic importance. According to the International Organization of Vine and Wine (OIV), the worldwide vineyards total area covers approximately 7.4 million cultivated hectares, and this produces 77.8 million tonnes of fruit annually (<http://www.oiv.int>, accessed on 15 August 2021).

The north of Algeria is the distribution area of the native wild *Vitis sylvestris*, from which varieties of *Vitis vinifera* ssp. *sativa* were cultivated (This et al., 2006). The indigenous people of Algeria have cultivated grapevine for a very long time in North Africa, e.g., the Berbers or Numidians during the first century B.C. (Rahali et al., 2019). Huge quantities of grapevines were exported by the Phoenicians across the Mediterranean Sea, and subsequently, the Romans developed viticulture until the arrival of the Christians (Levadoux et al., 1971) and utilized Algeria as just a storehouse for grain for their kingdom (Meloni and Swinnen, 2014). Then, table grapes were brought by Muslim Arabs also known as desert grapes, again from the Middle East to North Africa, and in the early nineteenth century, the French occupation expanded the richness and heterogeneity of viticulture. Several cultivars were directed to Spain and France after the phylloxera crisis in Europe (Levadoux et al., 1971). By 1960, Algeria had become the fourth-largest wine producer in the world, but after it gained its independence in 1962, wine production fell and it lost much of its market share (Meloni and Swinnen, 2014).

* Corresponding author.

E-mail address: ziane.laiadi@univ-biskra.dz (Z. Laiadi).

To limit the genetic erosion of plants, germplasm collections have been created all over the world to preserve the existence of autochthonous diversity which may subsequently be available for scientific and economic activities. International cooperation for the protection and re-evaluation of genetic resources is necessary for the following reasons:

(a) Not all countries have sufficient and large enough capacity to maintain all genetic resources that can be collected; (b) regional and international cooperation is necessary to ensure the conservation and use of genetic resources and the maintenance of this material in optimal conditions for the expression of its (biochemical, morphological, phenological, physiological and anatomical characteristics of crops or their organs); (c) ensuring international knowledge of genetic resources (Popescu et al., 2017).

Collections require complex management when several accessions are included, redundancy must be minimized, true-to-type variety determination should be used, and the incorporation of new samples should be optimized (Hárta and Pamfil, 2013; De Oliveira et al., 2020). Consequently, it is crucial to identify and rectify errors that may have arisen at the time of transfer, e.g., mix-ups in the wood harvesting, grafting, installation, etc. (El Oualkadi et al., 2009). As the grape industry expands, the number of authorized varieties of grapevines is also rapidly increasing. Consequently, many unrelated grape varieties have identical names (homologues), or cultivars share different names (synonyms) (Sefc et al., 2000; Crespan and Milani, 2001; Schneider et al., 2001; Regner et al., 2006; Ferreira et al., 2015; Goryslavets et al., 2015; Nebish et al., 2017; Dong et al., 2018). The traditional field assessment method is a major approach to determining the variety of grapes. However, because of environmental variables, it takes a lot of time, and labor, being prone to mistakes and poses major challenges and may change the characteristics of the measured attribute (Sripholtaen et al., 2016). Simple sequence repeat markers (SSR), often referred to as short tandem repeats, are now commonly utilized, and have shown to be a successful tool in the creation of genetic maps, showing a description of individual genetics, and related gene evaluation, for their reproducibility and polymorphism (Eyduran et al., 2016; Bozhuyuk et al., 2020; Bolaric et al., 2021; Hasanbegovic et al., 2021).

DNA sequencing data analysis and PCR have provided results from the use of techniques that can be employed to characterize and

evaluate germplasm and genetic resources and to identify markers for use in breeding programs (Ibañez et al., 2003; Martin et al., 2003; This et al., 2004; Costantini et al., 2005; Benjak et al., 2005; Santana et al., 2008; Laiadi et al., 2009; Dokupilová et al., 2013; Zinelabidine et al., 2014; Maletić et al., 2015).

Our goal in this study was multidisciplinary and consist of: (i) Evaluation of Algerian grapevine germplasm, including autochthonous varieties, international reference cultivars (introduced cultivars), rootstocks, and clones using a set of 12 simple sequence repeat SSR markers which included nine SSR markers recommended for common use by the European project grape Gen 06 (Maul et al., 2012); (ii) Detection of synonymies, homonymies, and misnaming; the results were compared with the previous investigations and published SSR marker profiles and ampelographic data and different outcomes were obtained to solve the problem of their existence, which is one of the major problems for viticulture worldwide (Veloso et al., 2010); (iii) Evaluation of the level of genetic diversity; (iv) Assessment of their sanitary status using virus detection through ELISA analysis for conserving neglected local varieties at risk of extinction. We then discuss the possibility of using this information for the management and preservation of germplasm.

2. Material and methods

2.1. Plant material

Plant material utilized in this work was obtained from M'zej Edchiche's germplasm collection at the "Institut Technique d'Arboriculture Fruitière, ITAF" of the Ministère de l'Agriculture in Skikda, in North-eastern Algeria (Fig. 1).

The total number of grapevine accessions (*Vitis vinifera* L.) was 81 including, 38 autochthonous accessions classified as endangered or minor varieties, 18 introduced cultivars, and 25 rootstock accessions, some of which are unidentified and supplied from Blida (the list is reported in Table 1). Each accession consisted of fifteen propagated plants, many of which died from the climatic and sanitary problems.

For sampling, cambium tissue from wood was collected of a single plant from each accession with repetition in case of inconsistency with previous studies.



Fig. 1. Skikda sampling area, Algeria and samples location map.

Table 1

A list of 81 accessions, organized based on genotype. Origin, berry color, prime name, ID number (SSR profile), as well as the *Vitis* International Variety Catalogue code.

Sample Name	Origin	Berry Color	Prime Name	ID number (SSR profile)	VIVC Code
Richter 110 Clone (06,139, 140, 151) Unknown 01	France	–	Richter 110	1	10,065
Paulsen 1103 Clone (112, 113, 768) Unknown 02 Unknown 03	Italy	–	Paulsen 1103	2	9023
Richter 99 Clone (96, 179) Unknown 04	France	–	Richter 99	3	10,064
Riparia Gloire de Montpellier	France	–	Castel 196- 17	4	2170
Ruggeri 140 Clone (101 200, 265) Unknown 05 Unknown 06	Italy	–	Ruggeri 140	5	10,351
Couderc 3309 Clone (111)	France	–	Couderc 3309	6	3160
SO4 Clone (05,102)	Germany	–	SO4	7	11,473
Millardet et Grasset 41B Clone (153, 194, 195)	France	–	Millardet et Grasset 41B	8	7736
Adadi	Algeria	White	Abadi	9	24,154
Muscat de Berkain	Algeria	White	Muscat fleur d'orange	10	8221
Ghanez	Algeria	White	Ohanes	11	8716
Boghni	Algeria	White	Bogni 15	12	1514
Italia	Italy	White	Italia	13	5582
Aïn el Couma	Algeria	White	Aïn el Bouma	14	17,384
Lekhazine Ahchichene Adari des Bibans	Algeria	White	Agourane	15	110
Alphonse Lavallée	France	Black	Alphonse Lavallée	16	349
Alvina	France	Black	Alvina	17	16,384
Bezzoul el Khadem	Algeria	Black	Bezzoul el Khadem D'Algerie	18	24,150
Aneb el Cadi	Algeria	White	Ahmed	19	135
Farana Blanc Farana de Mascara Cherchelli Sbaa Tolba	Algeria	White	Planta Fina	20	9542
Tizi Ouinine	Algeria	White	Tizi Ouinine	21	24,558
Muscat el Adda	Algeria	Black	Moscato d'adda	22	8050
Aïn el Kelb Valenci Blanc	Algeria Spain	White	Beba	23	22,710
Aberkane Corrin Seedless	Algeria America	Black	Aberkane	24	13
Farana Noir Valenci Noir Sultanine	Algeria Spain Turkey	Black	Taferielt	25	12,196
Amokrane Amellal Ahmed draa el Mizen Muscat Noir	Algeria Algeria Algeria France	White	Amokrane	26	431
Ahmar de Mascara Ahmeur Bou Ahmeur	Algeria Algeria	Red	Ahmeur Bou Ahmeur	27	140

(continued)

Table 1 (Continued)

Sample Name	Origin	Berry Color	Prime Name	ID number (SSR profile)	VIVC Code
Bouni	Algeria	White	Dominga	28	4985
Dattier de Beyrouth	Lebanon	White	Afus Ali	29	122
Halawani	Turkey	Red	Verigo	30	4752
Dona Maria	Portugal	White	Dona Maria	31	3641
Lakhdari	Algeria	White	Oul b'Ouzgueur	32	8844
Cardinal	America (USA)	Red	Cardinal	33	2091
Louali Torki Tinesrine	Algeria	White	Louali	34	24,613
Chasselas	France	White	Chasselas Blanc	35	2473
Bouaber des Aures Kabyle Aldebert	Algeria	Black	Kabyle Aldebert	36	22,896
Muscat de Hambourg	United Kingdom (UK)	Black	Muscat Hamburg	37	8226
Sulima	France	White	Sulima	38	13,723
Muscat de Fandouk 1 Centennial	Algeria America (USA)	White	Muscat of Alexandria	39	8241
Muscat de Fandouk 2 El wali	Algeria				
Muscat d'Alexandrie	Greece				
Toustain	Algeria	Black	Sangiovese	40	10,680
Christmas Rose	America (USA)	Red	Christmas Rose	41	2624
Tadelith	Algeria	Black	Cherchell Noir	42	14,827
Ahmar MechtrasII Ahmar Mechtras III	Algeria	White	Fraoula Aspri	43	17,275

2.2. DNA extraction and genotyping

For each sample, DNA was extracted from lyophilized tissues by grinding the green plant material into a fine powder using a Tissue-Lyser II instrument (Qiagen, Hilden, Germany) and extracting the DNA using a Plant DNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany), according to the manufacturer's protocol. DNA concentration and quality (e.g., 260/280 and 260/230 ratios) were measured by a Nanodrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) and by gel electrophoresis (1% agarose).

The varieties were genotyped by twelve SSR markers: the nine proposed as common grapevine markers for international use within the framework of the GrapeGen06 European project (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79), plus VMC6E1, VMC6G1, and VMCNG4b9 (*Vitis* Microsatellite Consortium). The SSR analyzes were performed following the protocol detailed in Migliaro et al. (2013) for ten SSRs, while VVMD25 and VVMD32 were separately amplified with the same PCR conditions. PCR products (0.5 μ l) were mixed with 9.35 μ l of formamide and 0.15 μ l of the GeneScan™ 500 LIZ Size Standard (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Capillary electrophoresis was conducted in an ABI 3130xl Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Allele calling was performed with GeneMapper 4.0 software (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Allele sizes were recorded in bp and genotypes showing a single peak at a given locus were considered as homozygous.

Identifications were performed by comparing the obtained SSR profiles with the CREA Viticulture and Enology molecular database which currently contains about 5000 unique profiles and is constantly updated (partially published in the Italian Grapevine Catalogue, <http://catalogoviti.politicheagricole.it/>), literature information, and the *Vitis* International Variety Catalogue (VIVC, <http://www.vivc.de>).

2.3. Statistics on SSR markers

Cervus 3.0 software (Kalinowski et al., 2007) and GenAEx 6.5 software (Peakall and Smouse, 2006) were used to determine the number of different alleles (No alleles), the effective number of alleles (Ne alleles), observed (H_o), expected heterozygosity (H_e), polymorphic information content (PIC), Hardy–Weinberg equilibrium (HW), probability of null alleles (F (null)).

2.4. Sanitary tests

Detection of the most important grapevine viruses (grapevine leafroll-associated virus 1, 2, 3, and 6, grapevine virus A and B, grapevine fanleaf virus, Arabis mosaic virus, grapevine fleck virus) was carried out with ELISA test, using commercial kits (Bioreba AG – Switzerland, and Agritest - Italy).

3. Results and discussion

Molecular analysis of 81 samples preserved in the collection of M'zej Edchiche was performed (Table 2). Twelve SSR markers, encompassing the nine simple sequence repeat markers recommended by the European GrapeGen06 project, were used to examine the genetic diversity of accessions. By comparing each SSR profile, an initial indication of genetic identity was obtained based on, the *Vitis* International Variety Catalogue (VIVC) (<http://www.vivc.de/>, 15 August 2021), the CREA-Viticulture and Enology molecular database. Moreover, it has been necessary to use information from the literature, historical records for accurate cultivar identification and the support of the “Réseau Français des Conservatoires de Vigne” (https://bioweb.supagro.inra.fr/collections_vigne/SearchS.php, 15 August 2021). To assist with determining the identities of accessions, unique profiles, additional synonyms, duplication, and misnaming

Table 2

List of 43 unique genetic profiles obtained at 12 SSR loci.

SSR Profile ID	Grapevine Variety	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VrZAG2	VrZAG79	VMC6E1	VMC6G1	VMCNG4b9												
1	RICHTER 110	137	143	234	268	231	257	241	267	189	205	223	237	238	255	195	213	242	258	129	133	177	183	160	172
2	PAULSEN 1103	137	147	236	236	233	257	241	254	203	207	245	255	236	261	195	213	250	262	129	133	177	179	160	163
3	RICHTER 99	137	149	236	236	231	261	241	251	191	207	223	239	236	261	195	209	250	262	129	133	177	177	160	166
4	CASTEL 196- 17	133	145	266	266	249	265	243	245	189	207	219	247	238	241	187	199	254	260	157	165	177	183	152	172
5	RUGGERI 140	137	143	246	268	231	257	241	267	189	205	237	245	236	253	195	213	242	258	129	133	177	177	160	172
6	COUDERC 3309	123	161	252	264	245	259	241	243	185	211	243	249	238	238	179	189	254	256	133	135	177	183	152	162
7	SO4	145	147	236	266	233	265	243	254	203	211	219	239	236	261	199	213	250	254	129	157	179	183	152	163
8	MILLARDET ET GRASSET 41 B	135	143	226	228	231	239	259	260	189	191	245	271	241	257	193	219	254	258	129	141	177	179	162	164
9	ADADI	133	145	226	236	243	243	243	259	179	194	247	249	257	273	187	187	246	248	137	169	177	187	158	172
10	MUSCAT DE BERKAIN	133	133	228	236	247	249	245	253	179	185	249	271	241	273	185	203	250	254	143	165	169	169	158	158
11	GHANEZ	133	137	234	236	233	251	259	259	183	194	247	251	263	273	199	203	250	256	143	151	187	191	158	166
12	BOGHNI	135	137	228	232	239	249	243	259	179	179	239	247	253	273	185	193	254	260	141	165	177	187	158	158
13	ITALIA	133	149	232	238	243	247	243	253	179	194	237	247	253	273	191	203	254	256	141	165	187	187	150	158
14	AIN EL COUMA	137	143	232	238	243	249	259	259	183	194	247	251	251	273	187	193	244	256	151	161	187	191	170	176
15	LEKHZINE	133	137	232	238	239	247	259	275	185	189	247	261	253	253	185	203	254	256	141	151	169	191	158	172
16	ALPHONSE LAVALLEE	133	135	226	238	249	255	243	259	185	185	247	247	253	273	185	203	238	250	141	165	187	193	158	176
17	ALVINA	133	145	234	238	249	253	243	243	185	194	247	247	251	253	185	187	250	258	141	143	193	193	138	158
18	BEZZOUL EL KHADEM	133	143	238	238	239	249	243	249	179	181	247	261	257	261	187	203	250	250	167	167	191	195	160	176
19	ANEB EL CADI	143	145	232	234	239	253	245	245	189	194	249	263	251	263	187	199	242	256	165	169	177	177	158	176
20	FARANA BLANC	143	145	228	240	239	243	245	259	179	194	251	261	251	271	185	187	250	256	141	169	177	187	172	176
21	TIZI OUIFINE	145	151	226	228	233	239	245	253	185	194	261	263	253	253	187	187	236	250	151	157	177	177	150	158
22	MUSCAT EL ADDA	133	133	226	228	247	251	245	253	179	185	271	271	263	265	191	203	250	254	141	143	169	177	150	158
23	AIN EL KELB	135	143	236	240	243	249	259	259	181	189	247	261	257	273	187	203	242	246	165	169	177	191	150	164
24	ABERKANE	137	137	236	240	233	253	259	259	183	194	239	263	253	263	195	199	256	258	143	165	177	191	166	170
25	FARANA NOIR	133	135	238	240	249	249	243	245	194	194	237	263	253	273	193	203	256	256	141	165	191	191	176	176
26	AMOKRANE	137	155	226	240	239	249	249	259	179	194	247	261	257	263	187	203	242	256	143	165	187	187	150	158
27	AHMAR DE MASCARA	135	147	232	238	239	249	259	271	183	194	251	257	253	257	191	203	246	256	165	169	179	193	150	150
28	BOUNI	137	149	226	246	239	249	253	259	185	194	237	247	273	273	187	203	250	256	141	169	187	195	138	160
29	DATTIER DE BEYROUTH	133	135	226	232	239	249	253	259	185	185	237	261	259	273	185	187	242	250	143	167	177	191	150	158
30	HALAWANI	145	151	232	240	239	251	243	253	194	194	251	261	251	257	191	203	250	256	167	169	169	177	158	166
31	DONA MARIA	135	149	226	228	239	251	253	259	185	194	237	271	259	265	187	203	246	250	143	167	169	177	158	158
32	OUL B'OUZGUEUR	137	143	238	240	249	253	245	259	183	194	261	263	253	263	199	203	256	258	141	165	187	191	158	166
33	CARDINAL	135	135	226	236	249	249	259	259	179	185	247	271	253	273	185	185	250	254	143	165	177	193	158	176
34	LOUALI	133	137	236	240	233	253	245	259	183	185	261	263	253	253	199	203	236	258	141	157	187	191	158	170
35	CHASSELAS	133	143	228	236	239	247	245	259	185	189	221	271	241	241	193	203	250	258	141	165	169	177	158	162
36	BOUABER DES AURES	133	143	232	232	233	249	243	249	191	194	247	261	251	273	203	203	246	246	141	143	169	193	150	160
37	MUSCAT DE HAMBOURG	135	149	232	238	247	249	253	259	179	185	239	247	273	273	185	191	238	254	141	161	169	187	158	158
38	SULIMA	133	145	226	234	247	253	243	253	179	194	221	255	251	257	187	203	254	258	137	143	193	193	158	158
39	MUSCAT DE FANDOUK 1	133	149	228	232	249	251	253	253	179	194	247	271	265	273	185	203	246	254	141	143	169	195	158	158
40	TOUSTAIN	133	133	226	236	239	263	245	245	179	185	237	247	253	257	193	195	242	258	143	165	177	197	158	168
41	CHRISTMAS ROSE	133	151	236	236	239	249	243	253	181	194	247	261	251	273	187	203	258	258	169	169	187	191	138	160
42	TADELITH	133	143	226	226	239	253	243	245	179	183	251	261	253	257	187	199	244	248	141	157	177	187	158	172
43	AHMAR MECHTRAS II	143	149	226	232	243	253	249	249	181	194	247	261	257	275	187	187	258	258	141	153	169	177	138	164

were also identified. Forty-three unique genotypes were found (Table 2).

3.1. Identification analysis: synonyms, duplications, misnamed, and unique genotypes

The SSR fingerprinting analysis allowed the validation of synonyms described in previous references such as Ahmar Mechtras II and Ahmar Mechtras III (Bounab and Laiadi, 2019), that is one of the endangered grape varieties today maintained in two germplasm collections, M'zej Edchiche from Skikda and Teghennif from Mascara in north-western Algeria; Bouaber des Aures and Kabyle Aldebert; Farana Blanc and Farana de Mascara; Ahmar de Mascara and Ahmeur Bou Ahmeur; Lekhzine, Ahchichene and Adari des Bibans (Laiadi et al., 2009 and Zinelabidine et al., 2014). These last three genotypes combined with the same profile SSR as Agourane, which is found in the germplasm collection of the Mouloud Mammeri University, Tizi Ouzou, stored at INRA germplasm collection of Vassal, France, and considered to be of Algerian origin. Additional synonyms were demonstrated for cultivars Ahmed draa el Mizen and Amellal that shared the same genotype of Amokrane from the germplasm collection of Mouloud Mammeri University.

The genetic profile of Aïn el Couma showed a slightly different SSR profile of Aïn el Couma as previously stated by Laiadi et al. (2009). Aïn el Couma showed identical microsatellite profiles with Aïn el Bouma as previously mentioned by Riahi et al. (2010), proving to be synonyms. In the current study, the findings of SSR analysis confirmed the results that were described by Zinelabidine et al. (2014) utilizing genotypic analysis (SNP); single-nucleotide polymorphism markers in the same germplasm collection.

Using 20 SSRs, Lacombe et al. (2013), found that Aïn el Bouma resulted from a cross among 'Olivette Blanche' (France) and 'Trebiano Toscano'. The cultivated variety is not directly from wild populations in the same region but is more likely to correspond to imported vines introduced many centuries ago or developed from crossbreeding among them (Riahi et al., 2012) as there was two-way trading between Europe and North Africa at that time (El Oualkadi et al., 2011).

In the present study, Lakhdari correspond with Oul b'Ouzgueur analyzed by the previous authors (Riahi et al., 2010; El Oualkadi et al., 2011), while Laiadi et al. (2009) found that the SSR profile of Lakhdari showed identical microsatellite profiles to the traditional Italian variety Sangiovese (Crespan and Milani, 2001; Vouillamoz et al., 2007). In this work, Toustain was found to have the same genotype as Sangiovese and confirms the results previously reported by Staraz et al. (2007). This suggests that the propagation of trading activities between Algeria and other countries, involved Italy.

The synonymies provided in old references were not validated, as well as ones or exclusives from the preceding declarations were discovered that after studying all the samples of the white variety Adadi, they did not share the same SSR profile as Aberkane (black variety), therefore they are not synonymous. However, during the investigation, we found an individual profile of Aberkane (inter-row) and this may explain one of the causes of the different color of Adadi and Aberkane berries previously proposed as somatic variants (Laiadi et al., 2009). This dissimilarity is also found in the study described by (Bounab and Laiadi, 2019) on the same cultivar utilizing Jaccard's similarity coefficient for every descriptor (108). Adadi showed identical microsatellite profiles to Abadi, a classical Algerian cultivar (Riahi et al., 2010). Aberkane was found in the grapevine collection located at the Experimental Station of Teghennif (Mascara) in north-western Algeria with the same SSR profile. Abadi was cultivated in the germplasm collection of the University Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, and conserved at INRA germplasm collection of Vassal, France.

Amokrane is the most appreciated cultivar in Algeria. During the French colonization of Algeria in the 1950s, Amokrane was collected from different regions of Algeria and the Kabyle, the latter being kept

under the accession ID 2030MtpMM and placed at INRA Domaine de Vassal, Montpellier, at the same time. It was collected in France under the name of Aïn Amokrane and its existence is due to the 'exchange of riches' at that time. According to Larnaud (1948), the first vineyards were planted in the French colony of Algeria around 1830.

In 2008, it was saved and included at INRA Domaine de Vassal, Montpellier under the name of Amokrane Draa Mizen from the Tizi Ouzou (additional information is available on the French Network of Grapevine Repositories Database (https://bioweb.supagro.inra.fr/collections_vigne/SearchS.php, 15 August 2021), while Riahi et al. (2010) and El Oualkadi et al. (2011) studied it in INRA Domaine de Vassal. The only difference was the white berry color as mentioned by Riahi et al. (2010), while black for El Oualkadi et al. (2011). After confirming the origin of the source, it turns out that it is white, as explained in the history of the variety. It has been shown that it does not have the same SSR profile of Amokrane variety from the germplasm collection (Laiadi et al., 2009). In this present work, all Amokrane accessions have been identified and all match Louali. This explains the results reported by Laiadi et al. (2009) to be due to a planting error of this variety in the germplasm collection; therefore, it is not a synonym with Louali.

Thirty varieties presented genetic profiles similar to those already registered under their particular names such as; Muscat de Berkain, Muscat d'Alexandrie, Boghni, Italia, Alphonse Lavallée, Alvina, Bez-zoul el Khadem, Valenci Blanc, Aneb el Cadi, Tizi Ouinine, Muscat el Adda, Aïn el Kelb, Bouni, Christmas Rose, Dattier de Beyrouth, Halawani, Dona Maria, Cardinal, Chasselas, Muscat de Hambourg, Sulima, Louali, Toustain, Millardet et Grasset41B, Richter 99, Couderc3309, Richter 110, Paulsen 1103, SO4 and Ruggeri 140.

Mistakes in varietal identification are often the result of errors in cultivation and are common in germplasm collections (Emanuelli et al., 2013), possibly because of introducing a similar variety under different names from different donors. The SSR profile of Farana Noir was the same SSR profile as the Taferielt a Moroccan variety, as previously described by Zinelabidine et al. (2014) and Rahali et al. (2019). Furthermore, this genotype is commonly grown in the Mediterranean area under various names as 'Akhal Meguergueb', a Tunisian variety described to be mostly cultivated in Algeria and categorized as an Algerian variety (Galet, 2000; Laiadi et al., 2009; Zinelabidine et al., 2014; Rahali et al., 2019). However, the genotype of Farana Noir did not match that of Farana Noir described by Laiadi et al. (2009), which corresponds to Oul b'Ouzgueur analyzed by Riahi et al. (2010) and El Oualkadi et al. (2011). Although the previous studies (Laiadi et al., 2009 and Zinelabidine et al., 2014) were carried out on the same plant stored in the same collection, there is some mixing in the cultivation of this variety as well, and this explains the difference in their respective genotypes.

Several varieties preserved in the 'Teghennif Mascara collection in North-western Algeria were replicated and transferred to the germplasm of Skikda, including Tadelith, Ghanez, and Sbaa Tolba, to create another collection in the North-eastern Algerian area.

In the present study, the SSR profile of Ghanez corresponded to Ohanes and was comparable to that obtained by Zinelabidine et al. (2014) using an SNP and confirmed by Laiadi et al. (2019) for the existence of two genotypes for the same name, as homonymous. The last genotype analyzed by Laiadi et al. (2009) was not found in this study except for Ohanes that stayed in this row.

Microsatellite markers analysis of all Tadelith accessions revealed that two different genotypes, the first and the original of this variety, were identical to Laiadi et al. (2009), and had a molecular profile similar to Charchali preserved in the germplasm collection of Vassal (France) obtained by later studies (Riahi et al., 2010) and this last one is not Charchelli with an E and double L, as mentioned by Laiadi et al. (2009). The VIVC classifies both varieties as white and although their genealogies are distinct, which is differentiated by SSR marker analysis because of the distinguished genotype profiles; the second for

Table 3
Statistics for the 12 SSR markers analyzed.

Locus	LG	N. of Obs	N _o Alleles	N _e Alleles	Ho	He	HW	F(Null)
VVS2	11	43	11	6	0,884	0,842	***	-0,049
VVMD5	16	43	12	8	0,837	0,870	***	0,038
VVMD7	7	43	15	8	0,930	0,865	***	-0,076
VVMD25	11	43	12	6	0,767	0,823	*	0,068
VVMD27	5	43	11	6	0,884	0,837	***	-0,055
VVMD28	3	43	15	8	0,930	0,872	*	-0,067
VVMD32	4	43	14	8	0,837	0,870	***	0,038
VrZAG62	7	43	12	6	0,884	0,840	***	-0,052
VrZAG79	5	43	12	7	0,884	0,860	NS	-0,028
VMC6E1	2	43	13	8	0,953	0,873	***	-0,092
VMC6G1	11	43	9	5	0,767	0,817	NS	0,060
VMCNG4b9	6	43	13	6	0,814	0,832	NS	0,022
Mean			12,42	6,82	0,864	0,850		
Sum			149	81,80				

LG = linkage group; No. of obs = number of genotypes analyzed to calculate the statistics.

No alleles = number of different alleles; Ne alleles = effective number of alleles; Ho, He = observed and expected heterozygosity; HW = Hardy–Weinberg equilibrium; NS = not significant; F (Null) = probability of null alleles.

Ohanes, as previously stated by Zinelabidine et al. (2014) under the name Tadelith. Knowing that both have different colored grapes, thus are considered different varieties (Zinelabidine et al., 2014), this confirms the existence of mixtures when planting this cultivar. The accession Farana de Mascara has been revealed to be synonymous with the cultivar Farana Blanc in previous studies by Laiadi et al. (2009) and Zinelabidine et al. (2014). In this work, all SSR markers of the last two profiles matched with Charchelli, as previously stated by Zinelabidine et al. (2014) using SNP analysis and confirmed by significant morphological matching using a total of (108) descriptors (Bounab and Laiadi, 2019), while the SSR profile of Charchelli analyzed by Laiadi et al. (2009) showed a slight difference at two alleles with VVS2 and VVMD5.

The last three profiles have the same molecular profile as Sbaa Tolba, which is confirmed by Zinelabidine et al. (2014) and the convergent morphology (Bounab and Laiadi, 2019). This variety is different respect to Sbaa Tolba which was analyzed by Laiadi et al. (2009), which matches to Sulima: *Vitis* International Variety Catalogue (VIVC) (<http://www.vivc.de/>), the CREA-Viticulture and Enology molecular database and Morsi (Jiménez et al., 2019 and Gago et al., 2022), indicate that as a case of mislabeling. While the original genotype of Sbaa Tolba probably still exists in the original collection in 'Teghennif' (mascara) (Laiadi et al., 2019), the latter has been shown to be unrelated to the genotype maintained in 'Mzej Edchiche' (Skikda), indicating a case of mislabeling of Sbaa Tolba at the time of introduction. Some mistakes occurred while obtaining these samples, and the matching molecular profile was planted under multiple names.

In this study, nine misnamed accessions were identified by analyzing genetic profiles obtained with information from the literature and databases; they were Muscat de Fandouk2, Valenci Noir, Sultanine, Muscat Noir, Torki, Tinesrine, El wali, Centennial and Corrin Seedless.

This present study also included some rootstocks for their importance in the cultivation and protection of grape varieties. Two misnamed accessions cases were identified by verifying the obtained genetic profiles with information accessible in the literature and databases; the SSR profile of Ruggeri 140 (clone 101) corresponded to the accession Millardet et Gasset 41 B and the genotype profile of "Riparia Gloire de Montpellier" corresponded to Castel196-17.

Accurate identification is fundamental to optimizing germplasm conservation and utilization in current breeding programmes. It is important to identify the existence of synonyms and misspellings to avoid current breeding and propagation troubles (Schuck et al., 2011). Environmental influences have a significant impact on morphological characteristics, while SSR markers are very effective at the

plant level because they are possibly used to easily differentiate between distinct varieties and for genetic diversity assessment. However, SSR markers are less effective at discriminating clones (Lauco et al., 2011). Results from molecular analysis must not replace ampelographic observations but really need to include it in these observations primarily to identify somatic mutations (De Oliveira et al., 2020).

3.2. Genetic diversity

Genetic diversity within the collection of 81 grape accessions was assessed using 12 nuclear markers and their results are shown in Table 3. The significant degree of genetic diversity of 81 cultivars is affirmed by the high number (149) of different alleles at the 12 nSSRs loci analyzed. The number of alleles per SSR locus ranged from 0.9 for VMC6G1 to 15 for VVMD7 and VVMD28, with the mean of 12.42 alleles per locus and a mean number of effective alleles of 6.82 (Table 3). Expected heterozygosity ranged from 0.817 for VMC6G1 to 0.873 for VMC6E1 with mean expected heterozygosity (85%) which was greater than that recorded for many other collections, such as Anatolian with 71.2% (Yilmaz et al., 2020), Armenian with 78.9% (Margaryan et al., 2021), Georgian with 80.7% (Maghradze et al., 2010), and like Brazil with 85% (Schuck et al., 2009). The high heterozygosity values may indicate that most varieties were originally obtained through hybridization and then stabilized by clonal multiplication. The lowest observed heterozygosity 0.767 was detected at the VVMD25 and VMC6G1 locus and the highest one was 0.953 at the VMC6E1 locus followed by VVMD7 and VVMD28 with 0.930, where the average observed heterozygosity was (86.4%). Ho value was higher than expected for 7 loci vs 5 loci. Indicating to the high genetic variability in this population.

The values of observed heterozygosity are higher than those found by some previous studies on grapevine germplasm, such as 69.3% in the middle of the Mediterranean Basin for 295 genotypes (De Michele et al., 2019), 71.96% in the North African (Maghreb region) for 181 genotypes (Riahi et al., 2012), higher than 74.2% in Central Asia for 1378 genotypes (Riaz et al., 2018), 75% in Brazilian for 410 genotypes (De Oliveira et al., 2020) and 83.1% in Southern Umbria (Central Italy) for thirty-nine genotype profiles obtained at 13 SSR loci (Zombardo et al., 2021).

The frequency of the null allele F (null) was of particular interest, as it was negative for 7 of the 12 SSRs. This parameter is valuable for detecting some allele amplification problems when genotyping or deleting a target sequence. In the present research, positive values were found for the presence of null alleles F (null) with the VVMD5, VVMD25, VVMD32, VMC6G1, and VMCNG4b9, which were recorded

at lower levels of the observed than the expected heterozygosity ones.

3.3. Sanitary status

During the investigation of the field for the presence of any viruses, the most common symptoms observed on the vines included a visual mosaic virus, chlorosis, vein clearing, leaf bubbling, leaf yellowing, or reddening, leaf deformations, and leaf rolling. ELISA test results show a rather high level of grapevine virus infection in the grapevine germplasm collection and are covered in the supplementary material (Table S1).

In the current research, 13 out of 42 plants (30.95%) were free of all viruses explored, whereas 29 (69.05%) were infected. The highest degree of infectious disease was related to the Grapevine leafroll disease (GLRaV-3 and GVA) with 61.9% (26/42) of tested grapevines resulting positive for the presence of the GLRaV-3 virus. These results support the evidence that GLRaV-3 virus is more prevalent in the Mediterranean (Ahmed et al., 2004; Caba-leiro and Segura, 2006; Mahfoudhi et al., 2009), whereas GVA, among the viruses related to the rugose wood complex structure, as seen in Kober stem grooving, was revealed in 21 out of 42 (50%) of tested grapevines. GLRaV-2 was found in only 3 out of 42 (7.14%) grapevines and the incidence of the Ampelovirus

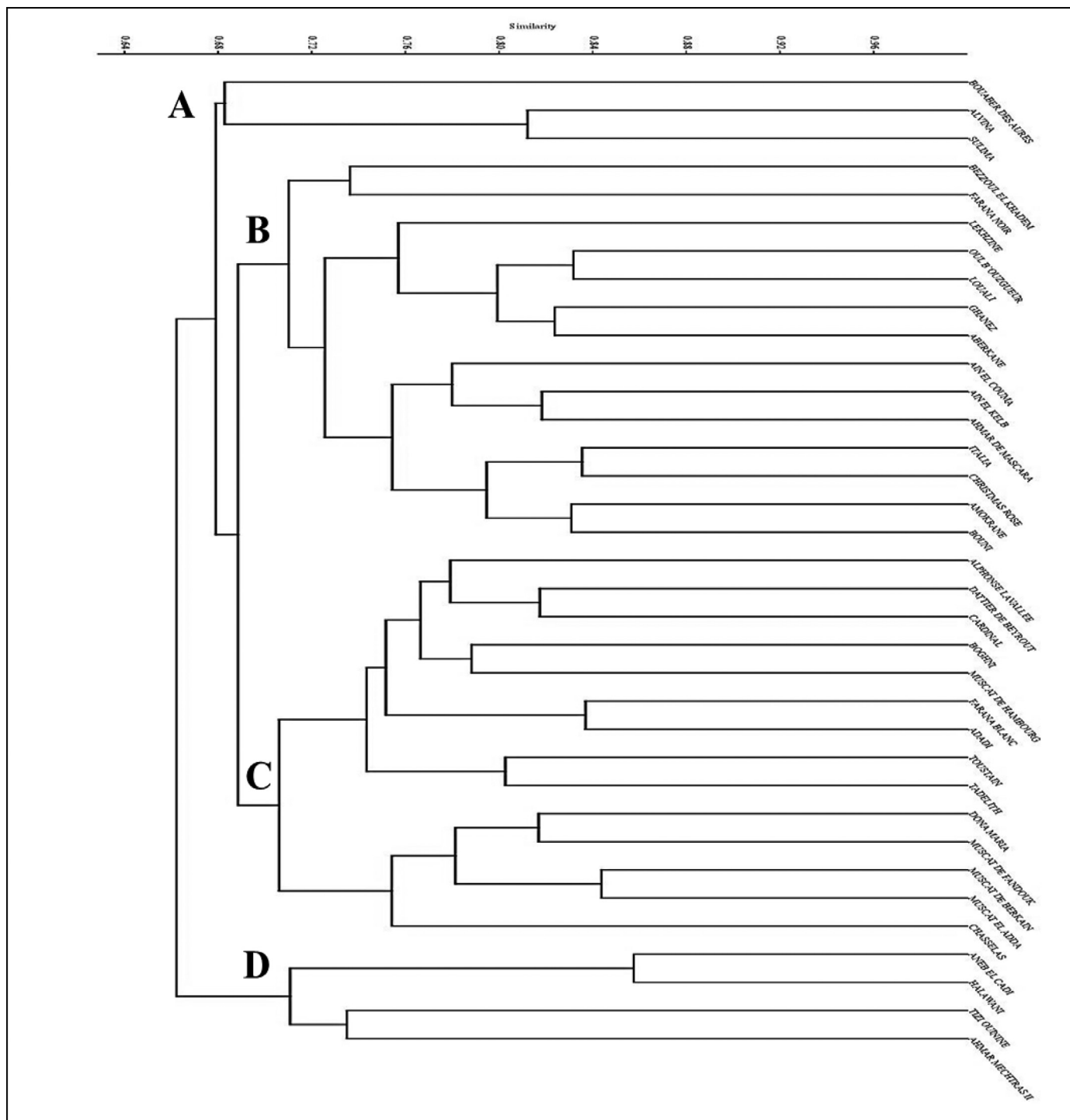


Fig. 2. Dendrogram illustrating genetic similarities of 35 genotypes using 12 SSR markers.

GLRaV-1 was significantly lower as out of 42 tested grapevines, only 2 (4.76%) were positive. However, infection with GFLV was also found on 13 cases (30.95%). Interestingly, the ELISA analysis did not reveal any of the GfKv, Nepoviruses ArMV, GLRaV-6, or the *Vitis* virus GVB infection in non-selected material. Principal means of diffusion of GLRaV-3 in various Mediterranean nations is through contaminated plant material, with multiple vector insects of the Pseudococcidae and Coccidia families which are quite widespread (Cabaleiro and Segura, 1997; Krüger et al., 2006; Douglas and Krüger, 2008; Almeida et al., 2013; Delić et al., 2016) and one of the most common causal agents of leafroll disease. On the other hand, the low prevalence of plants infected with GLRaV-2 might be explained by the absence of an insect vector for this virus, which solely spreads through plant material (Meng et al., 2005) despite some data pointing to the virus's origin in the United States (Angelini et al., 2017). Multiple viral infections involving two or more viruses were also frequent; GLRaV-3 and GVA were combined the most frequently in 47.6% of all the vineyards evaluated. Also, 23.8% of plants were infected with three viruses, or even five viruses, as was the case with Aneb el Cadi. Since the samples for analysis were collected from vineyards over 31 years old (1990), the possible reasons for the high incidence of the virus are the traditional way of vine establishment at that time, by grafting *in situ*, without hygienic/sterile environmental control of mother vines, presence of virus vectors and lack of systematic surveillance for viruses and related diseases.

The investigation also included some rare and endangered varieties. The Algerian gene pool is relatively unexplored, and misidentification problems are common. Local varieties threatened with extinction identified in our study were represented with only a few vines remaining, among 42 samples tested, 29 were infected. Due to a limited number of accessible vines, it is impossible to conclude their overall sanitary status. However, they should be transferred to the germplasm collection vineyard for biodiversity conservation and possibly for breeding (Poljuha et al., 2010). According to Selmi et al. (2017), local cultivars in Tunisia had a prevalence of 35% infected vines, compared to a significantly lower incidence (16.6%) in Egypt (Fattouh et al., 2014 and Rahali et al., 2019). The populations of autochthonous vines that have been propagated for a long time in a small closed circle have shown a high incidence of certain viruses which need a specific national sanitary control program that takes biodiversity preservation into account.

3.4. Genetic similarity and relationships among Mediterranean cultivars

The dendrogram of genetic similarities is shown in Fig. 2. Four groups were obtained. Three cultivars were grouped in cluster A, Bouaber des Aures, Alvina and Sulima; the latter two varieties derived from Sultanina, which explains the close genetic relationship between them. The second group (B) encompassed 14 genotypes including varieties cultivated all over the Mediterranean region, predominantly Algerian varieties such as Aberkane, Ahmar de Mascara, Louali, Aïn el Couma, Oul b'Ouzgueur. Louali due to a cross among Chikki and Oul b'Ouzgueur which corresponds to Lakhdari and which explains their close genetic relationship (Riahi et al., 2010). Lekhzine, Farana Noir which corresponds to Taferielt a Moroccan variety. Furthermore, this genotype is widely cultivated under the name of Akhal Meguergueba, a Tunisian variety, Bezzoul el Khadem, and Amokrane. Algerian cultivars have been reported in many cases to be similar to those found in other countries in the region, such as Tunisia and Morocco. Ghanez correspond to Ohanes, Bouni to Dominga and Aïn el Kelb to Beba; the last match suggests the Spanish origin of this cultivar, together with recognized introduced cultivars, such as Italia from Italy and Christmas Rose from America. The third large clear group (C) that included closely linked cultivars was the muscats.

Muscat el Adda, Muscat de Berkain, Muscat de Fandouk 1, and Muscat Hamburg most probably correspond to Moscato Nero, Muscat fleur d'oranger, Muscat of Alexandria, and Muscat Hamburg, respectively. Black berries of Muscat el Adda will be synonymous with Moscato Nero, (Crespan and Milani, 2001), which, together with Muscat Hamburg, is derived from Muscat of Alexandria. Close genetic relations between these three Muscat cultivars have already been observed (Crespan and Milani, 2001 and Crespan, 2003). Muscat fleur d'oranger (Muscat de Berkain) was likely derived from a cross between Muscat à petits grains blancs and Chasselas, as previously confirmed by Schneider et al. (2008). Boghni might be linked with the Boghi Italian cultivar and Farana Blanc corresponds to Planta Fina from Spain, among those varieties cultivated in both the eastern and western Mediterranean regions.

The fourth group (D) encompassed four accessions Aneb el Cadi, Tizi Ouinine, and Ahmar Mechtras II which correspond to Fraoula Aspri from Greece, and Halawani from Turkey. The association of cultivars is most likely owing to the historical movement of germplasm between these countries.

4. Conclusion

The results of this research have revealed that there are some synonymies as well as some differences with the published collection database; these mistakes should be corrected in the next future. This research has also revealed a different molecular profile of the varieties with the same name in the collection, indicating cases of mislabeling. These findings can be utilized to effectively plan modern breeding activities, whether through traditional hybridization or other technological innovations for breeding. The data and information provided will help to improve the management of grapevine germplasms by reducing the number of accessions and guaranteeing the authenticity of the plant material for duplication, providing molecular data derived from a vast variety of genetic materials that can help to enrich the current information in the databases and conservation in the collection as well as in assisting with lessening germplasm maintenance expenses without the potential for loss of important genetic resources. This investigation revealed a high number of infected vines, highlighting the need for large-scale control of environmental cleanliness/disease control.

Concerning the need to create an effective virus control strategy; it is required to carry out more in-depth investigations, including virus vector monitoring. Also, the impact of a virus on the health of the grape, the yield, and the quality under our conditions remains to be determined. A high incidence of viral diseases observed underlines the need for a national sanitary control program that takes biodiversity preservation into account.

Funding

This research has been supported by DGRSDT, "Direction Générale de la Recherche Scientifique et du Développement Technologique (PRFU project code: D01N01UN070120220001)", the Service for grapevine identification and the Service for grapevine sanitary certification of the Centre of Viticulture Conegliano (TV), Italy.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

CRediT authorship contribution statement

Samia Khouni: Writing – review & editing. **Ziane Laiadi:** Writing – review & editing. **Nadia Bertazzon:** Writing – review & editing.

Elisa Angelini: Writing – review & editing. **Daniele Migliaro:** Writing – review & editing.

Acknowledgments

The authors are grateful to the colleagues of CREA -Research center for Viticulture and Enology, Italy and the Institut “Technique de l’Arboriculture Fruitière et de la Vigne (ITAFV)” of Skikda for the plant materials.

Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.sajb.2023.01.017.

References

- Ahmed, H.M.H., Digiario, M., Martelli, G.P., 2004. Viruses and virus diseases of grapevine in Egypt. *EPPO Bull.* 34 (3), 395–398.
- Almeida, R., Daane, K., Bell, V., Blaisdell, G.K., Cooper, M., Herrbach, E., Pietersen, G., 2013. Ecology and management of grapevine leafroll disease. *Front. Microbiol.* 4, 94.
- Angelini, E., Aboughanem-Sabanadzovic, N., Dolja, V.V., Meng, B., Meng, B., Martelli, G., Golino, D., Fuchs, M., 2017. Grapevine leafroll-associated virus 2. Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management. Springer, Cham, pp. 141–165.
- Benjak, A., Ercisli, S., Vokurka, A., Maletic, E., Pejic, I., 2005. Genetic relationships among grapevine cultivars native to Croatia, Greece and Turkey. *Vitis* 44 (2), 73–77.
- Bolaric, S., Müller, I.D., Vokurka, A., Cepo, D.V., Ruscic, M., Srecec, S., Kremer, D., 2021. Morphological and molecular characterization of Croatian carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) germplasm. *Turk. J. Agric. For.* 45 (6), 807–818.
- Bounab, O., Laiadi, Z., 2019. A multivariate approach for the ampelographic characterizations of Algerian grapevine genotypes (*Vitis vinifera* L.). Insights into conservation and commercialization. *S. Afr. J. Bot.* 124, 71–79.
- Bozhuyuk, M.R., Ercisli, S., Orhan, E., Koc, A., 2020. Determination of the genetic diversity of walnut (*Juglans regia* L.) cultivar candidates from Northeastern Turkey using SSR markers. *Mitt. Klosterneubg.* 70 (4), 269–277.
- Cabaleiro, C., Segura, A., 1997. Field transmission of grapevine leafroll associated virus 3 (GLRaV-3) by the mealybug *Planococcus citri*. *Plant Dis.* 81 (3), 283–287.
- Cabaleiro, C., Segura, A., 2006. Temporal analysis of grapevine leafroll associated virus 3 epidemic. *Eur. J. Plant Pathol.* 114 (4), 441–446.
- Costantini, L., Monaco, A., Vouillamo, J.F., Forlani, M., Grandi, M.S., 2005. Genetic relationship among local *Vitis vinifera* cultivars from Campania (Italy). *Vitis* 44, 25–34.
- Crespan, M., Milani, N., 2001. The Muscats: a molecular analysis of synonyms, homonyms and genetic relationships within a large family of grapevine cultivars. *Vitis* 40 (1), 23–30.
- Crespan, M., 2003. The parentage of Muscat of Hamburg. *Vitis* 42 (4), 193–198.
- Delić, D., Lolić, B., Đurić, G., Jovanović-Cvetković, T., 2016. Sanitary status of the grapevine germplasm collection in Republic of Srpska. *AGROZNAHE* 17 (2), 143–152.
- De Michele, R., La Bella, F., Cristina, A.S., Fontana, I., Pacifico, D., Garfi, G., Carimi, F., 2019. Phylogenetic relationship among wild and cultivated grapevine in Sicily: a hotspot in the middle of the Mediterranean Basin. *Front. Plant Sci.* 10, 1506.
- De Oliveira, G.L., de Souza, A.P., de Oliveira, F.A., Zucchi, M.L., de Souza, L.M., Moura, M.F., 2020. Genetic structure and molecular diversity of Brazilian grapevine germplasm: management and use in breeding programs. *PLoS One* 15 (10), e0240665.
- Dokupilová, I., Sák, M., Šturdík, E., Mihálik, D., 2013. Microsatellite characterization of genetic diversity (*Vitis vinifera* L.) and polyphenol content analysis in slovak cultivars. *Curr. Opin. Biotechnol.* 24, 126–127.
- Dong, Z., Liu, W., Li, X., Tan, W., Zhao, Q., Wang, M., Tang, X., 2018. Genetic relationships of 34 grapevine varieties and construction of molecular fingerprints by SSR markers. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 32 (4), 942–950.
- Douglas, N., Krüger, K., 2008. Transmission efficiency of Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3) by the mealybugs *Planococcus ficus* and *Pseudococcus longispinus* (Hemiptera: pseudococcidae). *Eur. J. Plant Pathol.* 122 (2), 207–212.
- El Oualkadi, A., Ater, M., Messaoudi, Z., Laucou, V., Boursiquot, J.M., Lacombe, T., This, P., 2009. Molecular characterization of Moroccan grapevine germplasm using SSR markers for the establishment of a reference collection. *OENO One* 43 (3), 135–148.
- El Oualkadi, A., Ater, M., Messaoudi, Z., El Heit, K., Laucou, V., Boursiquot, J.M., This, P., 2011. Genetic diversity of Moroccan grape accessions conserved *ex situ* compared to Maghreb and European gene pools. *Tree Genet. Genomes* 7 (6), 1287–1298.
- Emanuelli, F., Lorenzi, S., Grzeskowiak, L., Catalano, V., Stefanini, M., Troggio, M., Grandi, M.S., 2013. Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grape. *BMC Plant Biol.* 13 (1), 1–17.
- Eyduran, S.P., Ercisli, S., Akin, M., Eyduran, E., 2016. Genetic characterization of autochthonous grapevine cultivars from Eastern Turkey by simple sequence repeats (SSRs). *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 30 (1), 26–31.
- 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.
- Ferreira, V., Pinto-Carnide, O., Mota, T., Martín, J.P., Ortiz, J.M., Castro, I., 2015. Identification of minority grapevine cultivars from Vinhos Verdes Portuguese DOC region. *Vitis* 54 (Special Issue), 53–58.
- Gago, P., Boso, S., Santiago, J.L., Soler, J.X., Peiró, R., García, J., Martínez, M.D.C., 2022. Characterization of grapevine genetic resources in the Comunitat Valenciana (Spain). *Int. J. Fruit Sci.* 22 (1), 287–302.
- Galet, P., 2000. Dictionnaire encyclopédique des cépages. Hachette, Paris. Isnard, H., 1969. L’Algérie ou la décolonisation difficile. *Méditerranée* 3, 325–340.
- Goryslavets, S., Bacilieri, R., Risovannaya, V., Memetova, E., Laucou, V., 2015. Genetic diversity of ancient grape cultivars of the Crimea region. *Vitis* 54 (Special Issue), 37–41.
- Gramaje, D., Urbez-Torres, J.R., Sosnowski, M.R., 2018. Managing grapevine trunk diseases with respect to etiology and epidemiology: current strategies and future prospects. *Plant Dis.* 102 (1), 12–39.
- Hărta, M., Pamfil, D., 2013. Molecular characterization of romanian grapevine cultivars using nuclear microsatellite markers. *Bull. UASVM Hort.* 70 (1), 131–136.
- Hasanbegovic, J., Hadziabulic, S., Kurtovic, M., Gasi, F., Lazovic, B., Dorbic, B., Skender, A., 2021. Genetic characterization of almond (*Prunus amygdalus* L.) using microsatellite markers in the area of Adriatic Sea. *Turk. J. Agric. For.* 45 (6), 797–806.
- Ibáñez, J., De Andres, M.T., Molino, A., Borrego, J., 2003. Genetic study of key spanish grapevine varieties using microsatellite analysis. *Am. J. Enol. Vitic.* 54, 22–30.
- Jiménez, C., Peiró Barber, R.M., Yuste Del Carmen, A., García, J., Martínez-Gil, F., Gisbert Domenech, M.C., 2019. Looking for old grapevine varieties. *Vitis* 58 (2), 59–60.
- 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, 1006–1099.
- Krüger, K., Saccaggi, D., Douglas, N., 2006. Grapevine leafroll-associated virus 3-vector interactions: transmission by the mealybugs *Planococcus ficus* and *Pseudococcus longispinus* (Hemiptera: pseudococcidae). In: Proceedings of the Extended Abstracts 15th Meeting of ICGV, Stellenbosch. South Africapp. 130–131.
- Laassami, A., Yekkour, A., Meklat, A., Djemouai, N., Zitouni, A., Mokrane, S., Berraf-Tebbal, A., 2020. Actinobacteria associated with vineyard soils of Algeria: classification, antifungal potential against grapevine trunk pathogens and plant growth-promoting features. *Curr. Microbiol.* 77 (10), 2831–2840.
- Lacombe, T., Boursiquot, J.M., Laucou, V., Di Vecchi-Staraz, M., Pérois, J.P., This, P., 2013. Large-scale parentage analysis in an extended set of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Theor. Appl. Genet.* 126 (2), 401–414.
- Laiadi, Z., Achour, H., Rahali, M., 2019. Molecular clarifications of grapevine identities in Algerian Germplasm collections using microsatellite markers. *Jordan J. Biol. Sci.* 12 (3), 319–322.
- 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.
- Larnaude, M., 1948. La vigne en algérie d’après H. Isnard. In *Ann. Géogr.* 308 (57), 356–359.
- Laucou, V., Lacombe, T., Dechesne, F., Siret, R., Bruno, J.P., Dessup, M., 2011. High throughput analysis of grape genetic diversity as a tool for germplasm collection management. *Theor. Appl. Genet.* 122, 1233–1245.
- Levadoux, L., Benabderrabou, A., Douaoui, B., 1971. Ampélographie algérienne: cépages de cuve et de table cultivés en Algérie. *SNED*.
- Maghradze, D., Failla, O., Bacilieri, R., Imazio, S., Vashkidze, L., Chipashvili, R., Scienza, A., 2010. Georgian *Vitis* germplasm: usage, conservation and investigation. *Bull. OIV* 83 (956), 485.
- Mahfoudhi, N., Digiario, M., Dhoubi, M.H., 2009. Transmission of grapevine leafroll viruses by *Planococcus ficus* (Hemiptera: pseudococcidae) and *Ceroplastesrusci* (Hemiptera: coccidae). *Plant Dis.* 93 (10), 999–1002.
- Maletic, E., Pejic, I., KaroglanKontic, J., Zduinic, Preiner D., Simon, S., Andabaka, Ž., Žuljihaljević, M., Bubola, M., Marković, Z., Stupić, D., Mucalo, A., 2015. Ampelographic and genetic characterization of Croatian grapevine varieties. *Vitis* 54 (Special Issue), 93–98.
- Margaryan, K., Melyan, G., Röckel, F., Töpfer, R., Maul, E., 2021. Genetic diversity of Armenian grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm: molecular characterization and parentage analysis. *Biology* 10, 1279 (Basel).
- Martin, J.P., Borrego, J., Cabello, F., Ortiz, J.M., 2003. Characterization of Spanish grapevine cultivar diversity using sequence-tagged microsatellite site markers. *Genome* 46, 10–18.
- Maul, E., Sudharma, K.N., Kecke, S., Marx, G., Müller, G., Audeguin, L., Boselli, M., Boursiquot, J.M., Bucchetti, B., Cabello, F., Carraro, F., Crespan, M., De Andrés, M.T., Dias, J.E., Ekhvaia, J., Gaforio, L., Gardiman, M., Grandi, 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.
- Meloni, G., Swinnen, J., 2014. The rise and fall of the world’s largest wine exporter—and its institutional legacy. *J. Wine Econ.* 9 (1), 3–33.
- Meng, B., Li, C., Goszczynski, D.E., Gonsalves, D., 2005. Genome sequences and structures of two biologically distinct strains of grapevine leafroll associated virus 2 and sequence analysis. *Virus Genes* 31 (1), 31–41.
- Migliaro, D., Morreale, G., Gardiman, M., Landolfo, S., Crespan, M., 2013. Direct multiplex PCR for grapevine genotyping and varietal identification. *Plant Genet. Resour.* 11 (2), 182–185.

- Nebish, A., Ochssner, I., Maul, E., Topfer, R., Hausmann, L., Hovhannisyann, A., Devejian, H., Melyan, G., Aroutiounian, R., 2017. Genetic identification and characterization of Armenian grapevine cultivars. In: Proceedings of the 40th World Congress of Vine and Wine, BIO Web of Conferences, Sofia, Bulgaria, p. 01020.
- Peakall, R., Smouse, P.E., 2006. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6, 288–295.
- Pertot, I., Caffi, T., Rossi, V., Mugnai, L., Hoffmann, C., Grando, M.S., Anfora, G., 2017. A critical review of plant protection tools for reducing pesticide use on grapevine and new perspectives for the implementation of IPM in viticulture. *Crop Prot.* 97, 70–84.
- Poljuha, D., Sladonja, B., Bubola, M., 2010. Incidence of viruses infecting grapevine varieties in Istria (Croatia). *J. Food Agric. Environ.* 8 (1), 166–169.
- Popescu, C.F., Maul, E., Dejeu, L.C., Dinu, D., Gheorge, R.N., Laucou, V., Crespan, M., 2017. Identification and characterization of Romanian grapevine genetic resources. *Vitis* 56 (4), 173–180.
- Rahali, M., Migliaro, D., Laiadi, Z., Bertazzon, N., Angelini, E., Crespan, M., 2019. Genetic identification, origin and sanitary status of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) grown in Babar, Algeria. *Vitis* 58 (4), 153–158.
- Regner, F., Hack, R., Santiago, J.L., 2006. Highly variable *Vitis* microsatellite loci for the identification of Pinot Noir clones. *Vitis* 45 (2), 85–91.
- Riahi, L., Zoghalmi, N., El-Heit, K., Laucou, V., Le Cunff, L., Boursiquot, J.M., This, P., 2010. Genetic structure and differentiation among grapevines (*Vitis vinifera*) accessions from Maghreb region. *Genet. Resour. Crop Evol.* 57 (2), 255–272.
- Riahi, L., Laucou, V., Le Cunff, L., Zoghalmi, N., Boursiquot, J.M., Lacombe, T., 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., De Lorenzis, G., Velasco, D., Koehmstedt, A., Maghradze, D., Bobokashvili, Z., Arroyo-García, R., 2018. Genetic diversity analysis of cultivated and wild grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions around the Mediterranean basin and Central Asia. *BMC Plant Biol.* 18 (1), 1–14.
- Santana, J.C., Hidalgo, E., De Lucas, A.I., Recio, P., Ortiz, J.M., Yuste, J., Arranz, C., Rubio, J.A., 2008. Identification and relationships of accessions grown in the grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm bank of Castilla y León (Spain) and the varieties authorized in the VQPRD areas of the region by SSR-marker analysis. *Genet. Resour. Crop Evol.* 55, 573–583.
- Schneider, A., Carra, A., Akkak, A., This, P., Laucou, V., Botta, R., 2001. Verifying synonyms between grape cultivars from France and Northwestern Italy using molecular markers. *Vitis* 40, 197–203.
- Schneider, A., Marinoni, D.T., Crespan, M., 2008. Genetics and ampelography trace the origin of Muscat fleur d'orange. *Am. J. Enol. Vitic.* 59 (2), 200–204.
- Schuck, M.R., Moreira, F.M., Guerra, M.P., Voltolini, J.A., Grando, M.S., Silva, A.L.D., 2009. Molecular characterization of grapevine from Santa Catarina, Brazil, using microsatellite markers. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 44, 487–495.
- Schuck, M.R., Biasi, L.A., Mariano, A.M., Lipski, B., Riaz, S., Walker, M.A., 2011. Obtaining interspecific hybrids, and molecular analysis by microsatellite markers in grapevine. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 46, 1480–1488.
- Sefc, K.M., Lopes, M.S., Lefort, F., Botta, R., Roubelakis-Angelakis, K.A., Ibáñez, J., Pejic, I., Wagner, H.W., Glossl, J., Steinkellner, H., 2000. Microsatellite variability in grapevine cultivars from different European regions and evaluation of assignment testing to assess the geographic origin of cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 100, 498–505.
- Selmi, I., Pacifico, D., Carimi, F., Mahfoudhi, N., 2017. Prevalence of viruses associated with grapevine rugose wood disease in Tunisia. *Tunis J. Plant Prot.* 12 (2), 149–158.
- Sripholtaen, A., Charoenchai, C., Uairong, H., 2016. Application of microsatellite markers for identification of wine grape varieties in Thailand. *Asia-Pac. J. Sci. Technol.* 21 (1), 97–110.
- Staraz, M.D.V., Bandinelli, R., Boselli, M., This, P., Boursiquot, J.M., Laucou, V., Vares, D., 2007. Genetic structuring and parentage analysis for evolutionary studies in grapevine: kin group and origin of the cultivar Sangiovese revealed. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 132 (4), 514–524.
- This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R., Costantini, L., Crespan, M., Dangl, G.S., Eisenheld, C., Ferreira-Monteiro, F., Grando, M.S., Ibáñez, J., Lacombe, T., Laucou, V., Magalhães, M., Meredith, C.P., Milani, N., Peterlunger, E., Regner, F., Zulini, L., Maul, E., 2004. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 109, 1448–1458.
- This, P., Lacombe, T., Thomas, M.R., 2006. Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends Genet.* 22 (9), 511–519.
- Veloso, M.M., Almandanim, M.C., Baleiras-Couto, M., Pereira, H.S., Carneiro, L.C., Feveiro, P., Eiras-Dias, J., 2010. Microsatellite database of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars used for wine production in Portugal. *Ciênc. Têc. Vitiviníc.* 25 (2), 53–61.
- Vouillamoz, J.F., Monaco, A., Costantini, L., Stefanini, M., Scienza, A., Grando, M.S., 2007. The parentage of 'Sangiovese', the most important Italian wine grape. *Vitis* 46, 19–22.
- Yılmaz, F., Shidfar, M., Hazrati, N., Kazan, K., Özmen, C.Y., Uysal, T., Ergül, A., 2020. Genetic analysis of central Anatolian grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm by simple sequence repeats. *Tree Genet. Genomes* 16 (4), 1–11.
- Zinelabidine, L.H., Laiadi, Z., Benmehaia, R., Gago, P., Boso, S., Santiago, J.L., Martínez, M.C., 2014. Comparative ampelographic and genetic analysis of grapevine cultivars from Algeria and Morocco. *Aust. J. Grape Wine Res.* 20 (2), 324–333.
- Zombardo, A., Storch, P., Valentini, P., Ciofini, A., Migliaro, D., Crespan, M., 2021. Recovery, molecular characterization, and ampelographic assessment of marginal grapevine germplasm from Southern Umbria (Central Italy). *Plants* 10 (8), 1539.