



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

Département : Botanique

القسم : علم النبات

Spécialité : Interaction plantes-pathogènes et protection des plantes التخصص : تفاعل النباتات ممرضات النباتات وحماية النبات

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme Master

THEME

Développement d'anticorps polyclonaux chez le lapin et la souris pour la caractérisation sérologique du Virus PVY-N, agent étiologique de la nécrose annulaire de la pomme de terre.

Présenté par : ANSEL Soulef

Soutenu Publiquement le : 03/07/2025

Devant le jury composé de :

Mémoire dirigé par :

MME ALLALA-MESSAOUDI LINDA

Maitre de conférences à l'ENSA

Présidé par :

MR Bouznad Zouaoui

Professeur à l'ENSA

Examiné par :

MME BENNACEF NOUARA

Maitre de conférences à l'USTHB

Promotion 2020-2025

Table des matières

<i>Introduction générale</i>	1
<i>Chapitre I : Synthèse bibliographique</i>	3
I.1. Origine et historique de la pomme de terre	4
I.2. Importance agronomique des Solanacées	4
I.3. Situation économique à l'échelle mondiale	5
I.4. Situation économique en Algérie	7
I.4.1. Répartition des principales régions productrices de pomme de terre en Algérie ..	7
I.4.2. Évolution des superficies cultivées dans la production de la pomme de terre	8
I.4.3. Situation phytosanitaire de la pomme de terre en Algérie	9
I.6.1 Classification taxonomique	13
I.6.2 Transmission	14
I.6.3. Symptômes liés à l'infection par le PVY	14
I.7. Méthodes de détection et de caractérisation du PVY	18
I.7.1. Méthodes biologiques	18
I.7.2. Méthodes sérologiques	19
I.7.3. Méthodes moléculaires	21
I.7.4. Méthodes biochimiques	21
I.9. Stratégies de lutte contre le PVY	26
I.9.1 Lutte préventive	26
I.9.2 Lutte chimique	28
I.9.3 Lutte intégrée	29
I.9.4 Lutte biologique contre le PVY	30
<i>Chapitre II : Matériel et Méthodes</i>	31
II.1. Matériel utilisé :	31
II.1. Source d'inoculum viral (PVYN).....	31
II.1.2 Gamme de plantes hôtes pour indexage et multiplication du PVYN.....	31
II.1.3 Animaux pour l'immunisation.....	31
II.1.4 Solutions tampons et réactifs.....	32
II.1.5 Matériel de laboratoire	32

II.2. Méthodes utilisées	33
Première partie : Recherche, isolement et caractérisation du virus Y de la pomme de terre.....	33
II.2.1 Prospections sur terrain et inspection visuelle des symptômes associés aux virus de pomme de terre.....	33
II.2.2 Screening sérologique des principaux virus prévalent sur pomme de terre par la technique DAS-ELISA.....	34
II.2.3. Caractérisation de la souche nécrotique PVYN	36
Deuxième partie : Optimisation de la production d’anticorps polyclonal anti- PVYN.....	41
II.3. Purification de l’antigène et la production de l’anticorps par immunisation du lapin et la souris	41
<i>Chapitre III : Résultats et discussion</i>	46
III.1 Inspection visuelle des symptômes en plein champs de pomme de terre	46
III.2 Identification sérologique des principaux virus de la pomme de terre par DAS-ELISA..	49
III. 3 Indexage biologique du PVYN sur une gamme de plantes hôtes	54
III.4 Caractérisation biochimique du PVY par électrophorèse	57
III.5 Identification de la protéine capsidiale du PVY par analyse électrophorétique en conditions natives (NATIVE -PAGE)	58
Deuxième partie : Optimisation de la production d’anticorps polyclonal anti- PVYN.....	59
III.6. Contrôle la présence des protéines virales PVYN par la méthode de Bradford (1976)...	59
III.7 Résultats de la production et de la purification du sérum anti –PVYN	60
<i>Conclusion générale.....</i>	63
Références bibliographiques	66
Annexes	83
Résumé.....	92

Résumé

Le virus Y de la pomme de terre (PVY) constitue une menace phytosanitaire majeure affectant les cultures de Solanacées, avec des pertes de rendement pouvant atteindre 80 %. La souche nécrotique PVY-N, responsable de la nécrose annulaire des tubercules (PTNRD), est particulièrement virulente et présente en Algérie une prévalence croissante. Ce travail vise à développer un sérum polyclonal dirigé contre le PVY-N à partir de la protéine capsidiale purifiée, en utilisant deux modèles animaux : le lapin et la souris.

L'approche expérimentale comprend l'extraction et la purification du virus à partir de feuilles infectées, son inoculation sur plantes indicatrices, puis l'immunisation des animaux suivie de l'évaluation de la réponse sérologique par les tests ELISA et de micro précipitation.

Les résultats révèlent une forte efficacité de la réponse immunitaire chez le lapin, avec un titre d'anticorps supérieur, et confirment la prévalence de la souche PVY-N.

Ce travail met en évidence l'intérêt d'une production locale de sérums pour le diagnostic sérologique des virus de la pomme de terre, permettant de réduire la dépendance aux kits commerciaux importés et de renforcer les capacités nationales en matière de surveillance phytosanitaire.

Mots-clés : PVY, PVY-N, anticorps polyclonaux, protéine capsidiale, DAS-ELISA, PTNRD, diagnostic sérologique.

Abstract

Potato virus Y (PVY) is a major viral threat to Solanaceae crops, causing yield losses of up to 80%. The necrotic strain PVY-N is particularly aggressive and responsible for Potato Tuber Necrotic Ringspot Disease (PTNRD). This study aimed to develop polyclonal antibodies against PVY-N, using purified capsid protein as an antigen in two animal models: rabbit and mouse.

The methodology involved virus extraction from infected leaves, propagation on indicator plants, animal immunization, and serological evaluation using ELISA and microprecipitation tests.

The results demonstrated a strong immune response in rabbits, with higher antibody titers, and confirmed the dominance of PVY-N.

This research highlights the importance of producing local diagnostic sera for plant viruses, offering an alternative to commercial imported kits and strengthening national phytosanitary surveillance capabilities.

Keywords : PVY, PVY-N, polyclonal antibodies, capsid protein, DAS-ELISA, PTNRD, serological diagnosis.

ملخص

يعد فيروس Y للبطاطس (PVY) تهديداً كبيراً لصحة النباتات يؤثر على محاصيل الباذنجانيات، حيث يمكن أن تصل خسائر المحصول إلى 80%. سلالة PVY-N النخرية، المسؤولة عن النخر الحلقي للدرنات (PTNRD)، شديدة العدوى وتنتشر بشكل متزايد في الجزائر. يهدف هذا العمل إلى تطوير مصل متعدد النسائل مضاد لفيروس PVY-N من البروتين القفيصي المنقى، باستخدام نموذجين حيوانيين: الأرنب والفأر.

تتضمن الطريقة التجريبية استخراج الفيروس وتنقيته من الأوراق المصابة، وتلقيحه على نباتات مؤشرة، ثم تحصين الحيوانات، يلي ذلك تقييم الاستجابة المصلية عن طريق اختبارات ELISA والميكروترسيب.

تكشف النتائج عن فعالية عالية للاستجابة المناعية لدى الأرانب، مع عيار أعلى من الأجسام المضادة، وتؤكد انتشار سلالة PVY-N.

يبرز هذا العمل أهمية الإنتاج المحلي للأصصال للتشخيص المصلية لفيروسات البطاطس، مما يقلل من الاعتماد على المجموعات التجارية المستوردة ويعزز القدرات الوطنية في مجال مراقبة الصحة النباتية.

الكلمات المفتاحية: PVY ، PVY-N ، الأجسام المضادة متعددة النسائل، البروتين الكابسيدي، ELISA ، PTNRD، التشخيص المصلي.