

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE
El-Harrach (ALGER)

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat d'Etat en Sciences Agronomiques

Par : M^{lle} Hadjira BELKAHLA

LES VIRUS ASSOCIES A LA JAUNISSE NANISANTE DE L'ORGE (BYD), DES
GENRES *BYDV* ET *CYDV*, CHEZ LES CEREALES A PAILLE EN ALGERIE

Soutenue le 17/05/2001

Devant le jury d'examen:

Président:	M. N. Sabaou	Professeur à l'ENS
Rapporteur:	M. S.E. Doumandji	Professeur à l'INA
Co-Rapporteur:	M. H. Lapierre	Directeur de recherches INRA Versailles
Examineur:	M. Z. Bouznad	Professeur à l'INA
Examinatrice:	Mme B. Doumandji	Professeur à l'INA
Examinatrice:	Mme M. Louanchi	Maître de conférences à l'INA

Année universitaire: 2000/2001

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Abréviations

Introduction du sujet

Premier chapitre: Bibliographie introductive

I- Caractères et classification des phytovirus	1
II-Evolution et variabilité des génomes des virus à ARN	2
II-1-Mutations spontanées	2
II-2-Recombinaisons	3
III-Transmission et dissémination des phytovirus	4
III-1-Transmission mécanique	4
III-2-Dissémination par la semence	4
III-3-Dissémination par la multiplication végétative	5
III-4-Transmission par vecteurs biotiques	5
III-4-1-Transmission par les animaux invertébrés	5
III-4-1-1-Nématodes	6
III-4-1-2-Arthropodes	6
III-4-1-2-1-Insectes	6
III-4-1-2-1-1-Homoptères	6
III-4-1-2-1-1-1-Aphides	7
III-4-1-2-1-1-1-1-Virus non persistant	7
III-4-1-2-1-1-1-2-Virus semi persistant	7
III-4-1-2-1-1-1-3-Virus persistant	7
III-4-2-Transmission par les champignons et les plasmodiophorales	8
IV-Luteoviridae responsable du BYD	8
IV-1-Distribution de la maladie du BYD	8
IV-2-incidence économique	9
IV-3-Composantes du pathosystème du BYD	10
IV-3-1-Plante-hôte	10
IV-3-1-1-Symptomatologie	10
IV-3-1-2-Gamme d'hôtes	10
IV-3-2-Virus	11
IV-3-2-1-Généralités sur les <i>Luteoviridae</i>	11
IV-3-2-1-1-Données taxinomiques	11
IV-3-2-1-2-Biologie moléculaire associée aux virus du BYD	12
IV-3-2-1-3-Organisation des génomes des virus du BYD	12
IV-3-2-1-3-1-ORF 0	13
IV-3-2-2-3-2-ORF 1 et 2	13
IV-3-2-2-3-3-ORF 3	14
IV-3-2-2-3-4-ORF 4	14
IV-3-2-2-3-5-ORF 5	14
IV-3-2-2-3-6-ORF 6	15
IV-3-2-2-3-7-Séquences non codantes	15
IV-3-2-2-Eléments de biologie associées aux virus du BYD	16
IV-3-2-1-1-Modifications cytologiques chez les plantes hôtes	16

IV-3-2-2-1-Variabilité sérologique des <i>Luteoviridae</i>	16
IV-3-2-3-Les espèces aphidiennes vectrices	17
IV-3-2-3-1-Aspects biologiques de la transmission des virus du BYD par puce	17
IV-3-2-3-2-Spécificité de la transmission	18
IV-3-2-3-3-Transmission dépendante et encapsidation hétérologue	19
IV-3-2-3-4-Mécanisme moléculaire des interactions virus-vecteur	19
IV-4-Epidémie et prévision des risques du BYD	20
IV-4-1-Epidémie du BYD	20
IV-4-2-Prévision des risques du BYD	21
IV-5-Lutte contre la maladie du BYD	22

Deuxième chapitre: Matériels et méthodes

I-Sources des virus	24
II-Sites prospectés	24
III-Méthodes d'études	24
III-1-Méthodes d'échantillonnage	24
III-2-Collecte des isolats	24
III-3-Identification des pucerons	25
III-4- Transmission par pucerons	25
III-5-Sources des isolats et espèces d'aphides	25
III-3-6-Transmission persistante des <i>Luteovirus</i> et <i>Polerovirus</i>	25
III-7-Persistance des <i>BYDV-PAV</i> et <i>BYDV-MAV</i> dans les pucerons	26
III-8-Obtention des plantes <i>BYDV-MAV A</i> , <i>BYDV-MAV B</i> et <i>BYDV-MAV BA</i>	26
III-9-Conservation des virus	26
III-10-Méthode d'extraction du virus	27
III-11-Tests immunoenzymatiques	27
III-11-1-Anticorps utilisés	27
III-11-1-1-Anticorps polyclonaux	27
III-11-1-2-Anticorps monoclonaux	28
III-11-1-2-1-Obtention	28
III-11-1-2-2-Isotypage	28
III-11-1-2-3-Anticorps monoclonaux utilisés	28
III-11-2-Test ELISA	28
III-11-2-1-DAS-ELISA	28
III-11-2-2-TAS-ELISA	29
III-12-Test Immunocapture-RT-PCR	30
III-13-Etude épidémiologique	31
III-13-1-Terrain expérimental	31
III-13-2-Observation et prélèvement d'échantillons	31

Troisième chapitre: Résultats et discussions	
I-Résultats de la sérodétection des virus associés à la jaunisse nanisante de l'orge (BYD) sur les céréales en Algérie.	34
I-1-Distribution géographique des populations de pucerons vecteurs du BYD	34
I-2-Impact et distribution des symptômes de type BYD	34
I-3-Identification et distribution des virus associés au BYD	34
I-4-Sévérité des isolats du <i>BYDV-PAV</i> et <i>RMV</i>	35
I-5-Fréquence et caractères des sérotypes <i>BYDV-PAV</i> et <i>BYDV-MAV</i> chez l'orge en Belgique	35
I-6- Distribution périphériques dans des parcelles de maïs des sérotypes <i>BYDV-PAV</i> et <i>BYDV-MAV</i> en France	35
I-6-1-Site I	35
I-6-2-Site II	35
I-6-3-Site III	35
I-7-Discussion	36
II-Résultats de l'efficacité de la transmission des virus associés à la jaunisse nanisante de l'orge (BYD) par <i>Sitobion fragariae</i> Walk (Homoptère: <i>Aphididae</i>) en Algérie.	39
II-1-Transmission persistante des <i>Luteovirus</i> et <i>Polerovirus</i> par différents vecteurs	39
II-2-Transmission comparée des <i>BYDV-PAV</i> HD, <i>BYDV-PAV</i> M, <i>BYDV-PAV</i>	39
II-3- Persistance du <i>BYDV-PAV</i> CpA, <i>BYDV-PAV</i> CpB, <i>BYDV-MAV</i> A	39
<i>BYDV-MAV</i> B	39
II-4-Cinétique de la multiplication des <i>BYDV-MAV</i> A et <i>BYDV-MAV</i> B	40
II-5-Analyse de la protection croisée entre le <i>BYDV-MAV</i> B et <i>BYDV-MAV</i> A	40
II-6-Discussion	41
III-Résultats de l'analyse par ELISA et immuno-RT-PCR des virus associés au BYD sur blé tendre	43
III-1-Incidence des virus du BYD	43
III-2-Fréquences des sérotypes du BYD en infection simple	43
III-3-Fréquences des sérotypes du BYD en infection mixte	43
III-4-Analyse de la variabilité moléculaire	43
III-5-Analyse de la variabilité biologique	44
III-6-Discussion	44
Conclusion et perspectives	46
Références bibliographiques	51-68

RESUME: La jaunisse nanisante de l'orge est une maladie qui entraîne des pertes considérables chez les céréales. Elle est associée à plusieurs virus de la famille des *Luteoviridae* (*BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV*, *RMV*, *SGV*). Des prélèvements effectués dans plusieurs parcelles de blé dur, blé tendre, orge et avoine en Algérie et en Belgique et des parcelles de maïs en France; à titre comparatif, ont montré que le *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV*, *RMV*, *SGV* sont présents à des fréquences variables mais non négligeables. L'analyse en TAS-ELISA, DAS-ELISA a montré que le *BYDV-PAV* est dominant. Le *BYDV-MAV A* est absent en Algérie, en Belgique et en France. Le *CYDV-RPV*, *RMV*, *SGV* sont rares. L'analyse de la population aphidienne prélevée des régions céréalières d'Algérie [Alger (Oued-smar, El-Harrach, Blida), Guelma, Constantine, Sid-bélabès] en 1997 et 1998 a montré la présence de *Rhopalosiphum padi* (L), *Sitobion avenae* (F), *Sitobion fragariae* (Walk), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Schizaphis graminum* (Rondani). Des transmissions comparées de *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV* et *RMV* par *S. fragariae*, ont montré que seuls le *BYDV-PAV* et *BYDV-MAV* étaient transmissibles par ce puceron. Le *CYDV-RPV* et le *RMV* ne sont pas transmis par *S. fragariae*. *S. fragariae* est donc un vecteur efficace du genre *Luteovirus* et non du genre *Polerovirus*. L'efficacité de la transmission des *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* par *S. fragariae* est semblable à celle de *R. padi* et *S. avenae*. Egalement les concentrations des *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* dans des lots de 10 aptères de chaque combinaison de virus / espèce d'aphide ont montré des différences. Les concentrations du *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* sont élevées dans *S. avenae* et *R. padi*, et faibles dans *S. fragariae*. Les concentrations *BYDV-MAV B* dans *S. avenae* et *S. fragariae* sont relativement peu éloignées. La différence de concentration du *BYDV-MAV A* dans *S. avenae* et *S. fragariae* est significative. *S. fragariae* transmet efficacement le *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B*, *BYDV-PAV CpA* et *BYDV-PAV CpB* jusqu'au 5^{ème} jour de transfert. Le taux de virus, détecté par ELISA, dans les lots de 10 aptères des combinaisons de virus / *S. fragariae* décroît plus rapidement que celui des combinaisons de virus / *S. avenae*, virus / *R. padi*. L'estimation relative (DO ELISA) de la présence *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B* transmis par *S. fragariae*, a montré que la multiplication du *BYDV-MAV B* est sensiblement différente de celle du *BYDV-MAV A*. Les résultats de la protection croisée tendent à montrer que le *BYDV-MAV B* en position de virus préimmunisant inhibe la multiplication du *BYDV-MAV A*. L'étude épidémiologique, menée sur blé tendre var HD 1220 en 1998 dans la région de Blida, a montré que l'incidence de la jaunisse nanisante de l'orge (BYD) était de 27,23%. Les résultats du test DAS et TAS-ELISA ont montré l'abondance de l'infection simple des *BYDV-PAV* (28%), *BYDV-MAV* (25%), *CYDV-RPV* (14%) et *RMV* (13%). Les infections mixtes sont représentées le plus souvent en infection double (*BYDV-PAV+BYDV-MAV*) 11,22%, suivi de (*BYDV-PAV+BYDV-CYDV-RPV*) 3,74%, (*BYDV-MAV+CYDV-RPV*) 1,87%, (*BYDV-MAV+CYDV-RPV*), (*BYDV-PAV+RMV*), (*BYDV-MAV+RMV*) et (*BYDV-PAV+SGV*) 0,93% chacun. L'infection triple est représentée par (*BYDV-PAV+BYDV-MAV+CYDV-RPV*) 3,74%. L'analyse de l'immunocapture-RT-PCR révèlent la présence des *BYDV-PAV* profil de type A et des *BYDV-PAV* profil de type B. L'analyse de la variabilité biologique a montré que le *BYDV-PAV CpA* est agressif sur orge cv Plaisant par rapport au *BYDV-PAV CpB*. Sur avoine cv Coast Black, le *RMV* induit des symptômes typiques de BYD.

Mots clés: virus, virus associés au BYD, céréales, épidémiologie, aphides, vecteur.

THE VIRUSES ASSOCIATED TO BARLEY YELLOW DWARF (BYD), OF GENUS *BYDV* AND *CYDV*, ON STRAW CEREALS IN ALGERIA.

SUMMARY: The barley yellow dwarf is a disease which carries considerable damages in cereals. It is associated with some viruses of *Luteoviridae* family (*BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV*, *RMV*, *SGV*). Sampling carry out in many plots of durum wheat, bread wheat, barley and oat in Algeria and in Belgium and in maize plots in France, comparatively, showed that *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV*, *RMV*, *SGV* were present with variables frequencies but not negligible. TAS and DAS analysis has shown that *BYDV-PAV* was prevalent. *BYDV-MAV A* was absent in Algeria, in Belgium and in France. *CYDV-RPV*, *RMV*, *SGV* were rare. Aphids populations analysis taken from algerian cereals areas [Algiers (Oued-smar, El-Harrach, Blida), Guelma, Constantine, Sid-bélabès] in 1997 and in 1998 has showed the présence of *Rhopalosiphum padi* (L), *Sitobion avenae* (F), *Sitobion fragariae* (Walk), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Schizaphis graminum* (Rondani). Comparative transmissions of *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV* and *RMV* by *S. fragariae*, have showed that only *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV* were transmitted by this aphid. *CYDV-RPV* and *RMV* were not transmitted by *S. fragariae*. So *S. fragariae* is an efficient vector of *Luteovirus* genus but not of *Polerovirus* genus. Efficiency transmission of *BYDV-PAV CpA* *BYDV-PAV CpB* by *S. fragariae* is similar to *R. padi* and *S. avenae*. The *BYDV-PAV CpA* *BYDV-PAV CpB* concentrations in a sbatches of 10 apterous for each combinaison of virus/ aphid species have also showed differences. *BYDV-PAV CpA* *BYDV-PAV CpB* concentrations were high in *S. avenae*, *R. padi* and low in *S. fragariae*. The concentration of *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B* were relatively close to each other. Concentrations differences of *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B* are significant. *S. fragariae* transmitted efficienciently *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B*, *BYDV-PAV CpA* *BYDV-PAV CpB* up to the 5th transferring day. The virus rate, detected by ELISA, in the batches of 10 apterous for each combinaison of virus/ *S. fragariae* decreased too rapidly than that of the combinaison of virus/ *S. avenae*, *R. padi*. Relative estimation (ELISA OD) for the presence of *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B* transmitted by *S. fragariae* has showed that the multiplication of *BYDV-MAV B* was sensibly different from that of *BYDV-MAV A*. The results of the cross protection trend to show that *BYDV-MAV B* in a position of safeguard virus inhibited the *BYDV-MAV A* multiplication. An epidemiology study conducted on bread wheat HD 1220 in the region of Blida in 1998, showed that the incidence of BYD was 27.23%. The ELISA results showed that the simple infection was prevalent particularly by *BYDV-PAV* (28%), *BYDV-MAV* (25%), *CYDV-RPV* (14%), *RMV* (13%). The mixte infections were represented often by the double infection (*BYDV-MAV+BYDV-PAV*) 11.22%, followed by (*BYDV-PAV+CYDV-RPV*) 3.74%, (*BYDV-MAV+CYDV-RPV*) 1.87%, (*BYDV-MAV+CYDV-RPV*), (*BYDV-PAV+RMV*), (*BYDV-MAV+RMV*) et (*BYDV-PAV+SGV*) 0.93%. The triple infection was represented by (*BYDV-PAV + BYDV-MAV+CYDV-RPV*) 3.74%. The immuno-RT-PCR analysis revealed the presence of *BYDV-PAV* type A and *BYDV-PAV* type B. The biology variability showed that *BYDV-PAV CpA* was severe in barley cv Plaisant than in *BYDV-PAV CpB*. In oat cv Coast Black BYD-like symptoms were observed by *RMV*

Key words: virus, virus associated to BYD, cereals, epidemiology, aphids, vector.