

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 plante-pathogène

التخصص: تفاعل النباتات-ممرضات النباتات

et protection des plante

وأمرض النباتات

Mémoire De Fin D'études
Pour L'obtention Du Diplôme De Master

THEME

**Utilisation de l'extrait d'ail (*Allium sativum* L) dans
l'assainissement de virus de la vigne GLRaV-3 par
micropropagation**

Présenté par : SAIM HADDACH FafaWefa

Jury :

Président : M. TAOUTAOU A. (Maitre de conférences à l'E.N.S.A El-Harrach)

Promoteur : M. LEHAD A. (Maitre de conférences à l'E.N.S.A El-Harrach)

Co-Promotrice : Pr. LOUANCHI M. (Professeur à l'E.N.S.A El-Harrach)

Examineur : Mme. ALLALA L. (Maitre-assistant à l'E.N.S.A El-Harrach)

Mr. HADDAD B (Maitre-assistant à l'E.N.S.A El-Harrach)

Invité d'honneur : Mme. AITER. N (Chef de Service du laboratoire de Culture in vitro de l'ITAFV)

Promotion : 2016-2019

Résumé

La maladie de l'enroulement foliaire de la vigne est l'une des maladies virales les plus répandues au niveau mondial. Elle est causée par le complexe viral (GLRaV-1, -2, -3, -4 et -7), dont le GLRaV-3 est le plus répandu en Algérie (Grapevine leafroll-associated virus-3). La transmission de ce virus est essentiellement réalisée par le biais des vecteurs dont les cochenilles (Coccoidea) sont les plus connus. Les moyens de lutte sont limités d'où la nécessité de faire plus de recherches sur les techniques qui permettent d'assainir cette plante pérenne. La culture *in vitro* via le microbouturage est considérée comme une multiplication végétative pour avoir une population relativement conforme ; Ce qui permet de nettoyer les cépages autochtones. Les résultats obtenus lors de notre essai sur l'utilisation d'un traitement biologique à base de quatre concentrations diluées (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4}) d'extrait d'ail (*Allium sativum* L.) incorporées dans le milieu de culture *in vitro* (MS modifié) pour l'assainissement d'un cépage autochtone de vigne (Ferrana) du virus GLRaV-3, montrent clairement qu'au bout de 8 semaines de culture, 100% des plants de vigne ont été assainis vis-à-vis le virus testé et ce quel que soit la concentration utilisée. De plus, l'effet de l'extrait d'ail sur les différents paramètres de multiplication des vitro-plants a été variable d'une concentration à l'autre. En outre, la concentration la plus diluée (10^{-4}) a été la plus performante en donnant les meilleurs résultats de croissance.

Mots clés: Vigne, GLRaV-3, Coccoidea, Culture *in vitro*, *Allium sativum* L., cépage autochtone

Abstract

Leafroll disease is one of the most common viral diseases worldwide. It is caused by the viral complex (GLRaV-1, -2, -3, -4 and -7), of which GLRaV-3 is most prevalent in Algeria (Grapevine leafroll-associated virus-3). The transmission of this virus is mainly carried out through vectors whose scales (Coccoidea) are the most well-known. The means of control are limited, hence the need to do more research on the techniques that allow to clean up this perennial plant. In vitro culture via microbouding is considered a vegetative multiplication to have a relatively compliant population; This will help to clean up the native grape varieties. The results obtained in our trial on the use of a biological treatment based on four diluted concentrations (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} and 10^{-4}) of garlic extract (*Allium sativum* L.) incorporated into the in vitro culture medium (modified MS) for remediation an indigenous vine grape (Ferrana) of the GLRaV-3 virus, clearly show that after 8 weeks of cultivation, 100% of the vines have been sanitized to the virus tested, regardless of the concentration used. In addition, the effect of garlic extract on the different vitro-plant multiplication parameters varied from concentration to concentration. In addition, the most diluted concentration (10^{-4}) was the best performer in delivering the best growth results.

Key words: leafroll disease, GLRaV-3, grapevine, in vitro culture, micropropagation, Garlic *Allium sativum* L., cochineal.

ملخص

مرض الالتفاف الورقي للكرمة هو واحد من أشهر الأمراض الفيروسية في العالم. وهو ناتج عن مركب فيروسي كامل (فيروس 1، 2، 3، 4 و 7) والفيروس 3 هو الأكثر انتشارا في الجزائر. يتم نقل هذا الفيروس بشكل رئيسي عن طريق ناقلات الحشرات المعروفة باسم القرمزي. وسائل الكفاح محدودة وبالتالي الحاجة إلى القيام بمزيد من الأبحاث حول تقنيات للقضاء على المرض. الزراعة المخبرية هي تقنية تسمح بتكاثر مجموعة متنوعة من النباتات للحصول على مجموعة متوافقة نسبيا؛ هذا سوف يساعد في الحفاظ على الأصناف الأصلية. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في المعالجة البيولوجية لنوع واحد من الكرمة (فرانا) باستخدام أربعة تراكيز مختلفة ومخفضة من مستخلص ثوم المضاف إلى وسط الزراعي في المختبر (م س معدل) لمعالجة الكرمة (فرانا) من الفيروس 3. وبوضوح أنه بعد 8 أسابيع من الزراعة تمت معالجة 100 من الكروم من هذا الفيروس بغض النظر عن التركيز المستخدم. إضافة إلى ذلك فإن تأثير مستخلص الثوم المخفف يختلف من تركيز إلى آخر إضافة إلى ذلك فإن النتائج بينت أن أقل تركيز أعطى أفضل نتيجة في المعالجة البيولوجية لكرمة فرانا.

الكلمات المفتاحية: مرض الالتفاف الأوراق، GLRaV-3، كرمة العنب، الزراعة المخبرية، العلاج البيولوجي، الثوم، قرمزي.

Table des matières

Dédicace	
Remerciements	
Liste des figures	V
Liste des tableaux	VI
Liste des planches.....	VI
Liste des annexes.....	VII
Liste des abréviations	VIII
INTRODUCTION GENERALE	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
Chapitre I : Généralité sur la culture de la vigne	
I.1 L’histoire de la viticulture.....	4
I.2 Description de la vigne	4
I.3 L’importance de la vigne dans le monde	5
I.4 L’importance de la vigne en Algérie	6
I.5 Cépages de la vigne en Algérie.....	7
I.5.1. Cépages de tables	7
I.5.2. Cépages à raisin sec	8
I.5.3. Cépages à cuve.....	8
I.5.4. Cépages de porte greffe	8
I.6 Les maladies de la vigne	8
I.7 Les ravageurs de la vigne.....	10
Chapitre II : La maladie de l’enroulement foliaire de la vigne	11
II.1 L’enroulement foliaire de la vigne (Grapevine leafroll-associated virus GLRaV)	11
II.2 Impact de la maladie.....	11
II.3 Virus responsable	12
II.4 Taxonomie et propriétés physiques de <i>GLRaV-3</i>	14
II.5 Symptômes	15
II.6 Transmission de GLRaV-3	16
II.7 Méthodes de détection	17

II.7.1. Méthodes biologiques.....	17
II.7.2. Méthodes Sérologiques.....	18
II.7.3. Méthodes moléculaires.....	18
II.8 Méthodes de lutte.....	19
II.8.1. Certification.....	19
II.8.2. Lutte culturale.....	20
II.8.3. Lutte chimique.....	20
II.8.4. Lutte biologique.....	20
Chapitre III : Micropropagation de la vigne.....	22
III.1. Introduction.....	22
III.2. Qu'est-ce que la culture <i>in vitro</i>	22
III.2.1 Définition.....	22
III.2.2 Les catégories de la culture <i>in vitro</i>	23
2.2. A. La catégorie de la culture <i>in vitro</i> Conforme.....	23
2.2. B. La catégorie de la culture <i>in vitro</i> Non conforme.....	23
III.3. Les applications de la culture <i>in vitro</i>	24
III.3.1- Le sauvetage d'embryons.....	24
III.3.2- La micropropagation.....	24
III.3.3- Cultures de méristèmes.....	25
III.3.4- Organogenèse.....	25
III.3.5- Embryogénèse somatique.....	25
ChapitreIV : Assainissement viral de vigne.....	27
IV.1. Assainissement par chimiothérapie.....	27
IV.2. Assainissement par cryothérapie.....	28
IV.3. Culture de méristème et embryogenèse somatique.....	29
IV.4. Assainissement par thermothérapie.....	29
IV.5. La prémunition.....	30
IV.6. Electrothérapie.....	30
V. Matériel et Méthode.....	32
V.1. Etude et lieu de travail.....	32
V.2. L'objectif de l'expérimentation.....	32

V.3. Matériel végétal utilisé	32
V.4. Culture <i>in vitro</i>	33
V.4.1. Choix de milieu de culture	33
V.4.2. Préparation des solutions mères	35
4.2.1 Solutions mère des macro- éléments	35
4.2.2 Solution mère des micro- éléments	35
4.2.3 Solution mère des vitamines	35
4.2.4 Solution mère des régulateurs de croissance	36
4.2.5 Solution mère des chélates de Fer	36
4.2.6 Solution d'extrait d'ail	37
6. A. Caractéristiques	37
6. B. Formes d'ails utilisés	37
6. C. Récupération de l'extrait	38
6. D. Solution mère d'extrait pur	38
6. E. Solutions filles	38
V.4.3. Préparation du milieu de culture	38
V.4.4. Stérilisation.....	41
1. Stérilisation du milieu de culture	41
2. Stérilisation des instruments.....	41
3. Désinfection du matériel végétal.....	41
4. Stérilisation des explants.....	42
5. Solutions stérilisantes	42
6. Essais de stérilisation des pousses.....	43
V.4.5. Conditions aseptiques de la zone du travail.....	43
V.4.6. Conditions de culture.....	44
V.4.7. Mise en culture <i>in vitro</i>	45
A. Repiquage des explants	45
B. Transplantation	45

V.5. Microbouturage associé à l'extrait d'ail	45
V.6. Paramètres étudiés	46
V.7. Test immunoenzymatique	47
V.8. Interprétations des résultats	48
V.9. détermination de pourcentage d'infection	48
VI. Résultat et discussion	52
VI.1. Assainissement par l'extrait d'ail incorporé dans le milieu de culture en <i>in vitro</i>	52
VI.1.1. Résultat.....	52
VI.1.2. Discussion	53
VI.2. Résultat de la technique <i>in vitro</i>	55
VI.2.1. Taux de contamination et de brunissement.....	55
VI.2.2. Taux de débourrement	59
VI.2.3. Longueur moyenne des pousses régénérées.....	62
VII. Conclusion et perspectives	66
Référence.....	70