

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

Département : Botanique

القسم: علم النبات

Spécialité: interaction plantes-
pathogenes et protection des plantes

التخصص: تفاعل النباتات-ممرضات النباتات و حماية النبات

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme de Master

THEME

**Assainissement viral de quelques variétés autochtones par
chimiothérapie (Cas du GLRaV-3)**

Présenté Par : SAIDI Ahlem

Soutenu Publiquement le 23 /10/2019

Devant le jury composé de :

Mémoire dirigé par :

M LEHAD Arezki

Maitre de conférences à l'E.N.S. A El Harrach.

Président (e) :

Mme ALALA Linda

Maitre-assistante à l'E.N.S. A El-Harrach.

Co-Promotrice :

Mme AITER Nassima

Chef de service du laboratoire de Culture *in vitro* de l'ITAFV.

Examineurs :

Mme LOUANCHI Meriem

Professeur à l'E.N.S. A El-Harrach.

Mr. HADDAD Belalia

Maitre-assistant à l'E.N.S. A El-Harrach.

Table des matières

Remerciements.....	I
Dédicace.....	II
Liste des figures.....	III
Liste des tableaux.....	IV
Liste des planches.....	IV
Liste des annexes.....	IV
Liste des abréviations.....	V
Table des matières.....	VI
I. Introduction générale.....	1
II. Synthèse bibliographique.....	3

Chapitre I : Généralité sur la culture de la vigne

I.1. Importance de la vigne dans le monde.....	3
I. 2. Importance de la vigne en Algérie	4
I.3. Cépages de la vigne en Algérie.....	5
I.3.1. Cépages de tables	5
I.3.2. Cépages à raisin sec	5
I.3.3. Cépages de cuve	6
I.4. Maladies et ravageurs de la vigne.....	6
I4.1. Maladies de la vigne.....	6
I.4.2. Ravageurs de la vigne.....	8
I.5. Méthodes de lutte.....	7
I.5.1. Thermo thérapie.....	7
I.5.2. Chimio thérapie.....	7
I.5.3. Electro thérapie.....	8
I.5.4. Embryogenèse somatique.....	8

I.6. Sélection sanitaire.....	9
I.7.Certification.....	9

Chapitre II : Maladie de l'enrôlement foliaire

II.1. Virus responsable.....	10
II.2. Impact économique.....	12
II.3. Symptômes.....	12
II.4. Méthodes de détection.....	13
II.4.1. Méthodes biologiques.....	14
II.4.2. Méthodes sérologiques.....	14
II.4.3. Méthodes moléculaires.....	15
II.5. Méthodes de lutte.....	15
II.5.1. Lutte culturale.....	15
II.5.2. Lutte chimique.....	15
II.5.3. Lutte biologique.....	16

Chapitre III : Micropropagation de la vigne

III.1. C'est quoi la culture <i>in vitro</i> ?	17
III.2. Modes de la culture <i>in vitro</i>	17
III.2.1. Mode non conforme.....	17
III.2.1.1. Fusion de protoplastes	17
III.2.1.2. Embryogenèse somatique	18
III.2.2. Mode conforme.....	18
III.2.2.1. Microbouturage.....	18
III.2.2.2 Culture de méristèmes	19

Chapitre IV. Assainissement viral de la vigne

IV.1. Par chimiothérapie.....	21
IV. 2. Cryothérapie.....	22
IV.3. Par culture de méristèmes.....	22

IV.4. Par thermothérapie.....	22
-------------------------------	----

III. Matériels et méthodes

III.1. Etude et lieu de travail.....	24
III.2. L'objectif de l'expérimentation.....	24
III.3. Matériel végétal utilisé.....	24
III.4. Echantillonnage.....	24
III.5. Culture <i>in vitro</i>	24
III.5.1. Choix de milieu de culture.....	24
III.5.2. Préparation des solutions mères.....	25
III.5.2.1. Micro- éléments.....	25
III.5.2. 2.Micro – éléments.....	25
III.5.2.3. Régulateurs de croissance	25
III.5.2.4. Chélates de Fer.....	26
III.6. Préparation du milieu de culture.....	26
III.7. Stérilisation des instruments de culture.....	29
III.8. Conditions aseptiques de réalisation de travail	29
III.9. Désinfection et stérilisation du matériel végétal.....	29
III.9.1. Essais de stérilisation des pousses	30
III.10. Mise en culture.....	30
III.11. Chimiothérapie <i>in vitro</i>	31
III.12. Paramètres étudiés	31
III.13. Test immunoenzymatique.....	32
III.13.1. Interprétations des résultats	32
III.13.2. Détermination du pourcentage d'infection.....	32

IV. Résultats et discussion

IV.1. Assainissement par Ribavirine.....	35
IV .1.1. Résultats	35

IV .1.2. Discussion	36
IV .2. Résultats de la technique de culture <i>in vitro</i>	37
IV .2.1. Taux de contamination et de dessèchement.....	37
IV .2.1.1. Résultats de la stérilisation.....	37
IV .2.1.2. Taux de contamination.....	37
IV .2.1.3. Taux de brunissement.....	38
IV .3. Discussion.....	39
V. Conclusion et perspectives.....	41
Annexe.....	43
Références bibliographiques.....	49

Résumé

La maladie de l'enroulement foliaire de la vigne est l'une des maladies virales les plus connues au niveau mondial. Elle est causée par tout un complexe virale (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 de vecteur dont les cochenilles (Coccoidea) sont les plus connus. Les moyens de lutte sont limités d'où la nécessité de faire plus de recherches sur des techniques afin d'assainir cette plante pérenne. La culture *in vitro* peut servir à la multiplication variétale par voie végétatif pour avoir une population relativement conforme ; Ce qui permet de faire assainir des variétés autochtones. Les résultats obtenus sur différentes variétés de vigne (Aberken, Amelel, Ferana) montrent clairement qu'à la fin d'une durée de deux mois de culture dans un milieu MS modifié combiné à un traitement chimique par la Ribavirine, 100% des plants de vigne sont assainis vis-à-vis du GLRaV-3.

Mots clés : Maladie de l'enroulement foliaire, GLRaV-3, vigne, culture *in vitro*, Chimiothérapie, Ribavirine, cochenilles.

Abstract

The grapevine leafroll disease is one of the world's best known viral diseases. A whole viral complex (GLRaV-1, 2, 3, 4 and 7) causes it, of which GLRaV-3 is the most widespread virus in Algeria (Grapevine leafroll-associated virus-3). The transmission of this virus is mainly carried out by means of vectors whose scale insects (Coccoidea) are the best known. The means of struggle are limited hence the need to do more research on techniques to clean up this perennial plant. *In vitro* culture can be used for vegetative varietal propagation to have a relatively compliant population; this will help to clean up native varieties. The results obtained on different vine varieties (Aberken, Amelel, Ferana and Bezoul el Khadem) clearly show that at the end of two months of culture in a modified MS medium combined with a chemical treatment with Ribavirin, 100 % of vine plants were cleaned against GLRaV-3.

Key words: leafroll disease, GLRaV-3, grapevine, *in vitro* culture, chemotherapy, ribavirin, 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 على أنواع مختلفة من الكرمة (أبركان، أملال و فرانا) بوضوح أنه عند نهاية شهرين من الزراعة في وسط MS معدّل مقترن بمعالجة كيميائية مع ريبافيرين، نتحصل على 100% من نباتات الكرمة مطهرة ضد GLRaV-3.

الكلمات المفتاحية: مرض التفاف الأوراق، GLRaV-3، كرمة العنب، الثقافة المخبرية، العلاج الكيميائي، ريبافيرين، قرمزي.