

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا للزراعة الحراش – الجزائر-
Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach –ALGER-

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme Master en Agronomie

Département : Botanique

Spécialité : Interaction plantes- pathogènes et protection des plantes

THEME

**Epidémiologie et assainissement par chimiothérapie de la
maladie de l'enroulement foliaire de la vigne.**

Présenté par : BELMOULOU D Nawel

Jury :

Président : Mme. ALLALA-MESSAOUDI L. (*Maitre-assistant 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 : Pr. BELARBI B. (*Professeur à l'E.N.S.A El-Harrach*)

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

Promotion : 2013/2018

Table de matières

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Liste des planches	IV
1. Introduction	1
2. Synthèse bibliographique	3
Chapitre 1 : généralité sur la culture de la Vigne	3
1.1. Description de la vigne	3
1.2. Vigne dans le monde	3
1.3. Vigne en Algérie	4
1.4. Cépages de la vigne cultivés en Algérie	5
1.4.1. Cépages à raisin de table	5
1.4.2. Cépages à raisin sec	5
1.4.3. Cépages de cuve	5
1.4.4. Cépages de porte greffe	5
1.4.4. Cépages de porte greffe	5
1.5. Principaux ennemis de la vigne	6
1.5.1. Maladies de la vigne	6
1.5.2. Ravageurs de la vigne	6
Chapitre 2 : Maladie de l'enrôlement foliaire	7
2.1. Virus responsable	7
2.2. Organisation génomique de GLRaV-3	8
2.3. Propriétés physico chimiques du GLRaV-3	9
2.4. Cycle virale de GLRaV-3	9
2.5. Symptôme	11
2.5.1. Facteurs agronomiques	13
2.5.2. Facteurs sanitaires	13
2.6. Vecteurs	13

2.6.1. Biologie des vecteurs des GLRV-3	14
2.6.2. Transmission de Ampelovirus	14
2.7. Epidémiologie	15
2.8. Méthodes de diagnostic.	16
2.8.1. Méthodes biologique	17
2.8.2. Méthodes sérologiques	17
2.8.3. Méthodes moléculaires	18
2.9. Méthodes de lutte	18
2.9.1. Certification	18
2.9.2. Sélections sanitaires	19
2.9.3. Lutte culturale	20
2.9.4. Lutte chimique.	20
2.9.5. Lutte biologique	20
2.9.6. Lutte contre vecteurs	20
Chapitre 3 : Micropropagation de la vigne	22
3.1.Qu'est-ce que la culture in vitro ?	22
3.2.Catégories de la culture in vitro	22
3.2.1. Catégories de la culture in vitro non conforme	22
3.2.1.1. La production de plante haploïde	23
3.2.1.2. Variation soma clonale	23
3.2.2. Catégories de la culture in vitro conforme	23
3.2.2.1. Micropropagation	
3.2.2.2. Culture de pointe nodale et méristémique	25
3.2.2.3. Embryogenèse somatique	25

3.3. Facteurs influençant la régénération <i>in vitro</i> des plantes	26
3.3.1. Facteurs extrinsèques	26
3.3.1.1. Lumière et Photopériode	26
3.3.1.2. Température	26
3.3.1.3. Milieux de culture et besoins en hormones	26
3.3.1.4. Saccharose	27
3.3.1.5. Choix des explants	27
3.3.1.6. Prolifération des bourgeons axillaires	27
3.3.1.7. Facteurs de croissance	28
3.3.2. Facteurs intrinsèques	28
Chapitre 4 : assainissement viral de vigne	29
4.1. Assainissement par thermothérapie	29
4.2. Assainissement par Chimiothérapie	31
4.3. La micropropagation des apex méristématiques	33
4.4. Assainissement par embryogenèse somatique	33
3.3. Facteurs influençant la régénération <i>in vitro</i> des plantes	26
3.3.1. Facteurs extrinsèques	26
3.3.1.1. Lumière et Photopériode	26
3.3.1.2. Température	26
3.3.1.3. Milieux de culture et besoins en hormones	26
3.3.1.4. Saccharose	27
3.3.1.5. Choix des explants	27
3.3.1.6. Prolifération des bourgeons axillaires	27

3.3.1.7. Facteurs de croissance	28
3.3.2. Facteurs intrinsèques	28
Chapitre 4 : assainissement viral de vigne	29
4.1. Assainissement par thermothérapie.	29
4.2. Assainissement par Chimiothérapie.	31
4.4. Assainissement par embryogenèse somatique.	33
3. Matériels et méthodes	35
3.1. Echantillonnage	35
3.2. Conservation	35
3.3. Tests immunoenzymatique	36
3.3.1. Sérums polyclonaux	36
3.3.2. Méthode DAS-ELISA	36
3.3.3. Interprétations des résultats	36
3.3.4. Détermination du pourcentage d'infection	36
3.4. Culture in vitro	39
3.4.1. Le choix du milieu de culture	39
3.4.2. Préparation des solution mères	39
3.4.2.1. Préparation de solutions mères des macro et micro-éléments	40
3.4.2.2. Préparation de solutions mères des vitamines	40
3.4.2.3. Préparation de solutions mères des phytohormones	40
3.5. Réalisation et confection du milieu de culture	40
3.6. Stérilisation des instruments de culture	43
3.7. Conditions aseptiques d'ensemencements	43

3.8. Désinfection du matériel végétal	43
3.9. La mise en culture	43
3.10. Chimiothérapie in vitro	44
4. Résultats et discussion	46
4.1. Analyses sérologiques	46
4.1.1. Résultats	46
4.1.2. Discussion	46
4.2. Présence de la cochenille	47
4.2.1. Résultats	47
4.2.2. Discussion	48
4.3. Résultats techniques de culture in vitro	49
4.3.1. Taux de contamination	49
4.3.2. Discussion	50
4.4. Assainissement par la Ribavirine	52
4.4.1. Résultats	52
4.4.2. Discussion	53
5. Conclusion générale	55
Références	57
Annexe	73
Résumé	78

Résumé :

La maladie de l'enroulement foliaire de la vigne est une maladie virale répandue dans toutes les zones viticoles du monde. Elle est causée par un complexe virale (le GLRaV-1, -2, -3, -4 and -7), le plus répandu en Algérie est le GLRaV-3 (Grapevine leafroll-associated virus-3). Les résultats obtenus ont révélé un taux d'infection de 41,3 % sur la variété cardinale. Sur de courtes distances, la transmission peut s'opérer par le biais d'un vecteur. Plusieurs espèces de cochenilles ont en effet été identifiées comme vectrices du virus. Les prospections réalisées sur le vignoble de Boumerdes ont permis de mettre en évidence la présence de la cochenille *Parthenolecanium corni*. Les moyens de lutte sont limités d'où il est primordial de chercher des techniques en vue d'assainir cette plante pérenne. La culture in vitro est une technique qui permet la multiplication d'une variété par voie végétatif afin d'avoir une population relativement conforme. Cela permettra d'assainir des variétés autochtones dont on veut maintenir la conformité génétique. Le résultat obtenu sur une variété commerciale (cardinal) montre clairement qu'après un mois de culture dans un milieu MS additionné de Ribavirine, 80% 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, cochenille, *Parthenolecanium corni*.

Abstract:

The grapevine leafroll disease is a widespread viral disease in all vineyard areas of the world. It is caused by a viral complex (GLRaV-1, -2, -3, -4 and -7), the most widespread in Algeria is GLRaV-3 (Grapevine leafroll-associated virus-3). The results obtained revealed an infection rate of 41.3% on the cardinal variety. Over short distances, transmission can occur through a vector. Several species of mealybugs have been identified as vectors of the virus. Surveys carried out on the Boumerdes vineyard have revealed the presence of the mealybugs *Parthenolecanium corni*. The tools to control the disease are limited from where it is essential to seek techniques to clean up this perennial plant. In vitro culture is a technique that allows the multiplication of a variety by vegetative path in order to have a relatively conform population. This will clean up native varieties whose genetic conformity is essential to be maintained. The result obtained on a commercial variety (cardinal) shows clearly that after one month of culture in an MS medium supplemented with Ribavirin, 80% of the vine plants are cleaned against the GLRaV-3

Key words: Leaf roll disease, GLRaV-3, grapevine, in vitro culture, chemotherapy, ribavirin, Mealy bug, *Parthenolecanium corni*.

ملخص :

مرض الالتفاف الورقي للكرمة هو مرض فيروسي منتشر في جميع مناطق الكرم من العالم. هو مركب فيروسي مرتبط بهذا المرض (فيروس 1، 2، 3، 4، 7). فيروس 3 هو الأكثر انتشاراً في الجزائر. النتائج التي تم الحصول عليها كشفت عن وجود عدو بمعدل 41.3 % على الصنف الكاردينال. على مسافات قصيرة، يمكن أن يحدث انتقال من خلال ناقل. وقد تم بالفعل تحديد العديد من أنواع القرمز ناقل للفيروس. وقد أظهرت الدراسات الاستقصائية التي أجريت في كرم بومرداس وجود القرمزي *Parthenolecanium corni*. كونها مرض عضال، ووسائل الكفاح محدودة من حيث لا بد من البحث عن تقنيات للقضاء على هذا المرض. الزراعة المخبرية هي تقنية تسمح بتكاثر مجموعة متنوعة من النباتات. هذه طريقة تسمح الحصول على مجموعة متوافقة نسبياً. هذا سيسمح بالحفاظ على الأنواع المحلية الأصلية للكرم. النتيجة التي تم الحصول عليها على النوع (الكاردينال) بوضوح أنه بعد شهر واحد من النمو في وسط MS مع Ribavirin يتم القضاء على الفيروس 80 % من نباتات الكرمة مقابل GLRaV-3.

الكلمات المفتاحية: مرض الورقة اللفافة، GLRaV-3، العنب، الزراعة المخبرية، العلاج الكيميائي، الريبافيرين، القرمزي، *Parthenolecanium corni*.