



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique
Département : Botanique
Spécialité : Interaction plantes-pathogènes et protection des
plantes

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة
القسم: علم النبات
التخصص: تفاعل النباتات-ممرضات النباتات وحماية
النبات

Mémoire De Fin D'études
Pour L'Obtention Du Diplôme du Master
THEME

**Identification et caractérisation biologique et sérologique du
virus Y de pomme de terre et optimisation de la production de
sérum anti-PVY**

Présenté Par :

M^{lle}. BENHALLA Rahil
M^{lle}. DOUIDA Racha

Soutenu Publiquement le 30 /11/2021

Devant le jury composé de :

Mémoire dirigé par :

Mme. Allala L.

Maitre de conférences à l'ENSA

Président :

M. Bouznad Z.

Professeur à l'ENSA

Examinatrice :

Mme. Sahraoui L.

Maitre de conférences à l'ENV

Promotion : 2016 – 2021

Sommaire

Liste des figures.....	I
Liste des tableaux.....	III
Liste des annexes.....	IV
Liste des abréviations	V
<i>Introduction Générale</i>	VI
<i>Chapitre I : Données Bibliographiques</i>	4
I.1 Quelques généralités sur les solanacées	5
I.2 Importance économique et agronomique des solanacées	5
I.3 Pomme de terre	6
I.3.1 Classification taxonomique	6
I.3.2 Situation économique	6
I.3.2.1 A l'échelle mondiale.....	6
I.3.2.2 En Algérie.....	8
I.3.3 Evolution de la production de la pomme de terre en fonction des superficies cultivées en Algérie.....	8
I.3.4 Répartition des principales régions productrices de pomme de terre en Algérie	9
I.3.5 Situation phytosanitaire de la pomme de terre en Algérie.....	10
I.3.6 Impact des maladies virales sur le rendement des cultures	12
I.4 Généralités sur l'agent pathogène PVY (Potato Virus Y).....	13
I.4.1 Classification taxonomique	14
I.4.2 Génome.....	14
I.4.3 Transmission.....	15

I.4.4 Symptômes liés à l'infection par le PVY	16
I.4.5 Méthodes de détection et de caractérisation du PVY	19
I.4.5.1 Méthodes biologiques.....	19
I.4.5.2 Microscopie électronique	20
I.4.5.3 Méthodes biochimiques.....	21
I.4.5.4 Méthodes sérologiques	23
I.4.5.4.1 Méthodes de purification du PVY et de production des anticorps anti-PVY.	25
I.4.5.5 Méthodes moléculaires	27
I.4.6 Stratégies de lutte contre le PVY :.....	27
I.4.6.1 Lutte préventive.....	27
I.4.6.2 Lutte chimique.....	29
I.4.6.3 Lutte intégrée.....	31
I.4.6.4 Lutte biologique.....	31
Chapitre II: Matériels et Méthodes	33
II.1 Matériels.....	34
II.1.1 Source d'inoculum viral (PVY)	34
II.1.2 Matériel végétale utilisé	34
II.1.3 Tampons et réactifs	34
II.2 Méthodes	35
II.2.1 Prospections et échantillonnage	35
II.2.2 Méthodes d'indentification et de caractérisation des virus	35
II.2.2.1 Identification sérologique des principaux virus de la pomme de terre	36
II.2.2.2 Caractérisation du virus Y de la pomme de terre.....	40
II.2.3 Optimisation de la production de sérum anti-PVY	42

II.2.3.1 Production du sérum anti-PVY utilisant comme antigène la protéine capsidiale du PVY.....	43
II.2.3.2 Méthode de production de sérum anti-PVY par purification partielle du virus... 46	
Chapitre III : Résultats et discussion	48
III.1 Inspection visuelle des symptômes.....	49
III.2 Identification sérologique du PVY par le test « flash kit ».....	51
III.3 Identification sérologique des principaux virus de la pomme de terre par DAS-ELISA .	52
III.4 Caractérisation sérologique du type de souche du PVY.....	56
III.5 Indexage biologique du PVY ^N sur une gamme de plantes hôtes.....	57
III.6 Identification de la protéine capsidiale du PVY par analyse électrophorétique en conditions dénaturantes (SDS PAGE) :.....	61
III.7 Identification de la protéine capsidiale du PVY par analyse électrophorétique en conditions en conditions natives (NATIVE -PAGE)	62
III.8 PVY Résultats de la production et de la purification du sérum anti-PVY ^N	63
Conclusion Générale.....	66
Références bibliographiques.....	69

Résumé

Le virus Y de la pomme de terre (PVY) est le virus le plus dommageable sur le plan économique affectant les solanacées et particulièrement la pomme de terre dans le monde et dans notre pays.

Notre travail présente d'une part un intérêt scientifique portant sur l'identification des principaux virus de la pomme de terre avec la caractérisation particulière du PVY et d'autre part un intérêt pratique alloué à l'optimisation des méthodes pour la production du sérum anti-PVY utilisé dans le diagnostic viral.

Les différentes inspections visuelles établies en plein champs de pomme de terre ont été en faveur d'une infection par le PVY seul ou combiné avec d'autres virus comme le PLRV, le PVX vu la diversité des symptômes observés. En effet, les différents tests sérologiques et biologiques ont révélé la présence dominante de la souche PVY^N (80%) responsable du PTNRD qui rend les produits de récolte invendables. Le test DAS-ELISA a aussi révélé la présence des virus X, A et le PLRV seuls ou associés au virus Y au niveau des échantillons récoltés à partir des feuilles des plants de pomme de terre.

L'immunisation du lapin avec la fraction isolée de la protéine capsidiale du PVY a permis avec succès la production d'un sérum anti-PVY. Il serait intéressant de développer d'autres méthodes plus affinées pour l'obtention de sérum avec de meilleurs titres permettant la détection d'un grand nombre d'échantillons à tester.

Mots clés : PVY, sérologie, Biologie, sérum anti-PVY, protéine capsidiale.

Abstract

Potato virus Y (PVY) is the most economically damaging virus affecting nightshades and particularly potatoes in the world and in our country.

Our work presents on one hand a scientific interest relating to the identification of the main potato viruses with the characterization of PVY and on the other hand a practical interest in the optimization of methods to produce anti-serum. -PVY used in viral diagnosis.

The various visual inspections established in the potato field have been in favor of infection by the PVY alone or combined with other viruses such as PLRV, PVX given the diversity of symptoms observed. The various serological and biological tests revealed the dominant presence of the PVY^N strain (80%) responsible for PTNRD, which makes the harvested products unsaleable. The DAS-ELISA test also revealed the presence of viruses X, A and PLRV alone or associated with virus Y in samples collected from the leaves of potato plants.

Immunization of the rabbit with the isolated fraction of PVY capsid protein successfully produced anti-PVY serum. It would be interesting to develop other methods that are more refined for obtaining serum with better titers allowing the detection of many samples to be tested.

Keywords: PVY, serology, Biology, anti-PVY serum, capsid protein.

ملخص

يعد فيروس البطاطس (PVY) Y أكثر الفيروسات ضررًا من الناحية الاقتصادية التي تؤثر على الباذنجانيات وخاصة البطاطس في العالم وفي بلدنا

.يقدم عملنا، من ناحية، اهتمامًا علميًا يتعلق بتحديد فيروسات البطاطس الرئيسية مع التوصيف الخاص لـ PVY ومن ناحية أخرى مصلحة عملية مخصصة لتحسين طرق إنتاج مصل مضاد PVY-. المستخدم في التشخيص الفيروسي .

كانت عمليات الفحص البصري المختلفة التي تم إجراؤها في مجال البطاطس لصالح العدوى بواسطة PVY وحدها أو مجتمعة مع فيروسات أخرى مثل PLRV و PVX نظرًا لتنوع الأعراض التي لوحظت. في الواقع، كشفت الاختبارات المصلية والبيولوجية المختلفة عن وجود سائد لسلسلة PVY^N 80% المسؤولة عن PTNRD ، مما يجعل منتجات الحصاد غير قابلة للبيع. كشف اختبار-ELISA DAS أيضًا عن وجود فيروسات X و A و PLRV وحدها أو مرتبطة بالفيروس Y في العينات التي تم جمعها من أوراق نباتات البطاطس .

نجح تحصيل الأرانج بالجزء المعزول من بروتين PVY القفصي في إنتاج مصل مضاد لـ PVY. سيكون من المثير للاهتمام تطوير طرق أخرى أكثر دقة للحصول على مصل مع عيار أفضل مما يسمح باكتشاف عدد كبير من العينات المراد اختبارها.

الكلمات المفتاحية: PVY، الأمصال، البيولوجيا، مصل مضاد لـ PVY ، بروتين قفصي.