

UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE(SNV)

DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

LABORATOIRE PROTECTION ET VALORISATION DES RESSOURCES AGROBIOLOGIQUES

PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER II EN SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

SPECIALITE: BIOTECHNOLOGIE MICROBIENNE

DETECTION IMMUNOENZYMATIQUE (DAS-ELISA) DU VIRUS Y DE LA POMME DE TERRE

Présenté par :

Oussaidane kahina Bouzi amina

Date de soutenance : Le 4 juillet 2018

Devant le jury composé de :

M^{ME} BOUCHENAK F. Pr USDB1 Présidente

M^{ME}BELKAHLA H. Pr USDB1 Promotrice

M^{ME} ALLALA L. MAA ENSA El Harrach Co-promotrice

M^r IDRIS I. Doctorant USDB1 Examinateur

ANNEE UNIVERSITAIRE 2018/2019

TABLE DES MATIERES

Résumé	
Abstract	
الملخص	
Remerciements	
Table des matières	
Liste des illustrations graphiques et tableaux	
Liste des symboles et abréviations	
Introduction	13
CHAPITRE 1 : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	
1. Généralités sur la plante-hôte (pomme de terre Solanum Tuberosum L.)	17
1.1.1. Origine	17
1.1.2. Taxonomie	17
1.1.3. Description morphologique	17
1.1.4. Reproduction de la pomme de terre	19
1.1.5. Aire de production	20
1.1.6. Variétés de pomme de terre	20
1.1.7. Importance économique	20
1.1.7.1. Dans le monde	20
1.1.7.2. En Algérie	20
1.1.8. Les exigences de la plante	22
1.1.8.1. Exigences climatiques	22
1.1.8.2. Exigences édaphiques	23
1.1.9. Importants problèmes phytosanitaires de la pomme de terre	24
1.1.10. Maladies et Ravageurs	24
1.1.10.1. Maladies cryptogamiques	24
1.1.10.1.1. Mildiou	24
1.1.10.1.2. Alternariose	25
1.1.10.1.3. Rhizoctone noire	25
1.1.10.1.4. Dartrose	25

1.1.10.2. Maladies bactériennes	25
1.1.10.2.1. Pourritures molles	25
1.1.10.2.2. Gale commune	25
1.1.10.2.3. Flétrissement bactérien	25
1.1.10.2.4. Flétrissement bactérien ou pourriture annulaire des tubercules .	25
1.1.10.3. Maladies virales	26
1.1.10.4. Ravageurs	27
1.1.10.4.1. Nématodes	27
1.1.10.4.2. Dégâts	27
1.2. Données sur l'agent pathogène PVY (Potato Virus Y)	27
1.2.1. Taxonomie	27
1.2.2. Génome	28
1.2.3. Symptômatologie	28
1.2.3.1. Mosaïques	29
1.2.3.2. Bigarrure	30
1.2.3.3. Frisolée	30
1.2.4. Symptômes sur tubercules	31
1.2.5. Voies de Transmission	31
1.2.6. Pucerons vecteurs	33
1.2.7. Test ELISA.	33
CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES	
2.1.1. Situation géographique de la région n°1	38
2.1.1.1. Climatologie	38
a- Températures	38
b- La pluviométrie (P/ mm)	38

c- le vent	38
2.1.1.2. Protocole d'essai	39
2.1.1.3. Traitements réalisés	39
2.1.2. Situation géographique de la région n°2	40
2.1.2.1. Climatologie	40
a- Température	40
b- Pluviométrie (P/ mm)	41
c- Vent	41
2.1.2.1. Présentation du site d'étude	41
2.1.2.2. Matériel végétal	41
2.1.2.3. Biofertilisant	42
2.2.1. A/ Test de pré-culture pour la région n°1	42
2.2.1.1. Méthode d'échantillonnage	42
2.2.1.3. Méthode d'application des traitements	42
2.2.2. B/ Test de pré-culture pour la région n°2	43
2.2.3. Méthode d'identification par le test DAS-ELISA	43
2.2.4. Étapes de la DAS-ELISA	43
a- Préparation des échantillons	45
b-Sensibilisation des microplaques avec l'anticorps spécifique	45
c- Dépôt des échantillons	45
d- Dépôt des anticorps conjugués	45
e- Dépôt du substrat	45
f- Lecture des résultats	45

CHAPITRE 3: RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Région n°1 Sétif	48
3.1.1. Notation en végétation	48
3.1.2. Discussion	48
3.1.3. Dosage Immuno-Enzymatique du <i>PVY</i>	48
3.1.4. Discussion	51
3.2. Région n°2 El Bayadh	51
3.2.1. Analyse symptomatologique	51
3.2.1.1. Symptômes sur le feuillage	51
3.2.1.2. Symptômes sur les tubercules	52
3.2.1.3. Discussion	53
3.2.2. Analyse immuno-enzymatique DAS-ELISA	53
3.2.3. Résultats de la lecture des densités optiques	53
3.2.4. Résultats de l'estimation du taux d'infection des plants par le <i>PVY</i>	53
3.2.5. Discussion	54
Conclusion générale et perspectives	55

CHAPITRE 4 : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RESUME

Détection immunoenzymatique (DAS-ELISA) du virus Y de la pomme de terre

La pomme de terre occupe une place très importante et fait partie des aliments de base en Algérie. Les virus de cette culture sont transmis par pucerons et par contact peuvent réduire les rendements jusqu'à 40%. L'objectif de cette étude était de dresser un état de connaissances des travaux précédant (campagnes maraichères 2012-2013 et 2015-2016) qui ont portés sur le contrôle de la diminution des taux d'infections par le *PVY*. Les études menées dans la région de Sétif avait portée sur l'emploi des insecticides et l'utilisation des huiles minérales paraffiniques. Les résultats de DAS-ELISA ont confirmé la présence de *PVY* pour toutes les micro-parcelles non traitées il a été montré que l'usage des huiles minéral réduit l'infection dans les parcelles d'environ 85% on comparant par l'usa d'insecticide est de 25%. Les études menées dans la région d'El Bayadh avait portée sur l'emploi d'un biofertilisant à base du jus de vermicompost par dosage immuno-enzymatique DAS-ELISA. Les résultats avaient montré l'effet positif du jus de vermicompost sur le nombre de pucerons il a été supposé que la diminution du taux d'infection des plants peut être attribuée à la réduction de la densité des vecteurs.

Mots clés : Pomme de terre, El Bayadh, Sétif, *PVY*, vermicompost, huile minérale, DAS-ELISA.

الملخص

الكشف عن فيروس البطاطا عن طريق اجراء اختبار DAS-ELISA

تحتل البطاطا مكانة مهمة جدا و هي من اهم المواد الغذائية في الجزائر. الفيروسات في المحصول تنتقل عن طريق المن و عن طريق الاتصال و الذي يمكن ان يقلل من الغلة حتى %40. الهدف من هذه االدراسة هو إعداد حالة من المعرفة بعمل سابق (تسويق الحدائق 2012-2013 و 2011-2016) والتي ركزت على مراقبة انخفاض معدلات انتشار الفيروس PVY. ركزت الدراسات في منطقة سطيف على استخدام المبيدات الحشرية واستخدام الزيوت المعدنية البارافينية. أكدت نتائج DAS-ELISA وجود الـ PVY لجميع القطع الصغيرة غير المعالجة ، وقد تبين أن استخدام الزيوت المعدنية يقلل من العدوى في القطع بنسبة 85٪ مقارنة باستخدام المبيدات الحشرية هي تبين أن استخدام الزيوت المعدنية يقلل من العدوى الستخدام السماد الحيوي المرتكز على عصير vermicompost طريق اختبار DAS-ELISA. وقد أظهرت النتائج التأثير الإيجابي لعصير على الفيروس.

الكلمات الاساسية: بطاطا البيض سطيف الزيوت المعدنية البرافينية PVY عصير vermicompost اختبار -DAS الكلمات الاساسية: بطاطا البيض سطيف الزيوت المعدنية البرافينية PVY عصير ELISA

ABSTRACT

Detection of the patato virus Y by immunoenzymatic (DAS-ELISA)

The potato occupies a very important place, and is a member of basic food in Algeria. The viruses of this culture are passed on transmitted by aphids and by contact can reduce the yields until 40 %. The objective of this study was to raise a state of knowledge of the works preceding (truck-farming campaign 2012-2013 and 2015-2016) which concerned the control of the decrease of the rates of infections by the *PVY*. The studies led in the region of Sétif had concerned the employment of insecticides and use of mineral paraffiniques oil. The results of DAS-ELISA confirmed the presence of *PVY* for all the micro-plots of land untreated it was shown that the mineral use of oil reduced the infection in the plots of land about 85 % one comparing by used him insecticide is 25%. The studies led in the region of El Bayadh had concerned the employment of a biofertilizing with the juice of vermicompost by immuno enzymatic dosage DAS-ELISA. The results had shown the positive effect of the juice of vermicompost on the number of aphids it was supposed that the decrease of the rate of infection of plants can be attributed to the reduction of the density of vectors.

Keywords: Potato , El Bayadh, Sétif, *PVY*, vermicompost, mineral oil, DAS-ELISA.

REMERCIEMENTS

Au terme de notre travail, il est de notre devoir d'exprimer notre gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à sa réalisation.

Nous adressons nos sincères remerciements à nos parents qui ont donné la volonté pour achever ce travail.

Nous souhaitons remercier notre présidente de mémoire, Mme Bouchenak .F pour sa patience sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous souhaitons remercie notre promotrice Mme Belkahla .H pour son implication dans nos travaux. Elles nous ont donné des conseils avisés pour le développement et l'élaboration de notre travail

Merci tout particulièrement à notre co-promotrice Mme Allala .L, son implication dans nos travaux. Elles nous ont donné des conseils avisés pour le développement et l'élaboration de notre travail.

Nous souhaitons remercier notre examinateur Mme Idris .I, qui nous a honorés en acceptant de juger notre travail.

Nous souhaitons remercier Mr Walid pour leur implication dans nos travaux.

Enfin, nos remerciement vont à tous ceux et toutes celles qui ont contribue des prés ou de loin a la réalisation de ce travail avec générosité et un égard exemplaire.

LISTE DES ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES ET TABLEAUX

- **Figure 1.1 :** Plante de la pomme de terre
- Figure 1.2 : Les différentes méthodes de multiplication de la pomme de terre
- Figure 1.3 : Courbe de besoin en eau d'une culture de pomme de terre
- **Figure 1.4 :** Schéma de la particule virale (*PVY*)
- Figure 1.5 : Symptôme de mosaïque sur les feuilles de la pomme de terre
- **Figure 1.6 :** Symptôme de bigarrure sur feuilles de pomme de terre
- Figure 1.7 : Symptôme de frisolée sur feuilles de pomme de terre
- Figure 1.8: Symptômes des anneaux nécrotiques superficiels sur un tubercule de pomme de terre
- Figure 1.9: Transmission des virus non-persistant
- Figure 1.10 : a) Individu de Myzus persicae Adulte ailé. b) Adulte aptère
- Figure 1.11 : Individus ailé d'Aphis nasturtii de la pomme de terre
- Figure 1.12 : Individu ailé d'*Aphis gossypii* de pomme de terre
- **Figure 1.13 :** a) Le puceron de la pomme de terre (*Macrosiphum euphorbiae*)
- b) Dégâts sur pomme de terre adulte ailé.c) Adulte aptère au moment de la multiplication
- **Figure 1.14 :** Puceron de la pomme de terre *Aulacorthum solani* (Kaltenbach)
- Figure 2.15 : Localisation de la région d'étude
- **Figure 2.16 :** Kit de sérum (*PVY*) (SYDIAC)
- Figure 2.17 : Protocole de test ELISA
- Figure 2.18 : Taux d'infection des différents traitements
- **Figure 3.19 :** Différents symptômes observés sur les feuilles de pomme de terre (observé à l'œil nu)
- **Figure 3.20 :** Différents symptômes observés sur les tubercules de pomme de terre (observé à l'œil nu)
- Figure 3.21: Taux d'infection des tubercules en fonction de la dose du biofertilisant.
- **Tableau 1.1:** Principales pays producteurs de pomme de terre
- **Tableau 1.2 :** Principales régions productrices de pomme de terre en Algérie
- **Tableau 1.3 :** Prélèvements en éléments majeurs (en Kg/t)

Tableau 1.4: Prélèvements moyens en éléments secondaires (Kg/ha)

Tableau 1.5 : Besoins moyens en oligo-éléments (en g/ha)

Tableau 1.5 : Besoins moyens en oligo-éléments (en g/ha)

Tableau 1.6 : Principales caractéristiques des viroses les plus communément rencontrées sur la pomme de terre

Tableau 2.7: Dispositif des traitements

Tableau 3.8 : Calcul des moyennes du taux d'infection pour la variété Spunta

Tableau 3.9 : Analyse de la variance du taux d'infection pour la variété Spunta

Tableau 3.10 : Calcule des Moyennes du taux d'infection pour la variété Désirée

Tableau 3.11 : Analyse de la variance du taux d'infection pour la variété Désirée

Tableau 3.12: Localisation des plants infectés dans la parcelle

LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATION

VIRUS

PLRV: Potato Leaf Rool Virus

PVA: Potato Virus A
PVM: Potato Virus M
PVS: Potato Virus S
PVT: Potato Virus T
PVX: Potato Virus X
PVY: Potato Virus Y

DIVERS

PPDS: Plus Petit Difference Significatif

%: Pourcentage °C: Degré Celsius

B: Bloc **D:** Dose

D1: Dose normale **D2:** Dose double

DAS-ELISA: Double Antibody Sandwich

DO: Densité Optique

ELISA: Enzym Linked Immuno Sorbent Assay

FAO: Food and Agriculture Organization of The United Nations

g: Gramme.

G0: Génération 0

H: Heure **Ha**: Hectare

Kg: Kilogramme

L: Litre
M: Mètre

M²: Mètre au carré

ml: Mililitre
Mm: Milimètre
nm: Nanomètre
P: Pluviométrie

PH : Potentiel hydrogène

R: RéférenceS: SecondT: Traitement

Tm: Température minimale mensuelle moyenne

TNT: Témoin Non Traité

μl: Microlitre

CHAPITRE I SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

La pomme de terre *Solanum tuberosum* L. est originaire des Andes dans le sud-ouest de l'Amérique du sud où son utilisation remonte à environ 9 000 ans avant J.C. (Spire et Rousselle 1996). Cette spéculation est l'une des productions végétales la plus cultivée et consommée à travers le monde. Elle occupe le troisième rang après le riz et le blé, avec une production mondiale d'environ 325 millions de tonnes en 2010 (Faostat 2012, in Rakotonindraina 2012). La facilité avec laquelle elle peut être produite et l'existence des variétés adaptées à différents milieux et résistantes à de nombreuses contraintes permettent à la culture de pomme de terre de se développer dans un ou plusieurs pays.

En Algérie, la pomme de terre a été introduite la première fois au XVIème siècle par les Maures andalous (Meziane, 1991). A l'heure actuelle elle est considérée parmi les principales grandes cultures. La surface réservée annuellement à la production de la pomme de terre est de 100000 ha, soit 27% de la superficie totale consacrée aux cultures maraichères (Nouad 2009), assurant une production proche de 4 millions de tonnes en 2012 (Anonyme, 2012_a).

La réduction du rendement de la pomme de terre est attribuée à la susceptibilité de cette culture à un grand nombre d'agents phytopathogènes (champignons, bactéries) et virus (Islam *et al.*, 2014 ; Nouri-Ellouz *et al.*, 2006). Ainsi, elle est infectée naturellement par au moins 37 virus. Parmi ces derniers, le *PVY* et le *PLRV* (*Potato Leaf Roll Virus*) sont les plus dommageables causant des pertes énormes de rendement pouvant atteindre 80% dans une culture pomme de terre et de 39 à 75% chez le tabac (Islam *et al.*, 2014; Ahmed *et al.*, 2013). Les pucerons sont de redoutables vecteurs de virus de plantes, provoquant des maladies, et d'importants ravageurs directs de cultures, provoquant le rabougrissement des plantes et des déformations (Girousse *et al.*, 2005 ; Pegadaraju *et al.*, 2005).

Depuis plusieurs années, les chercheurs ont adopté diverses méthodes pour limiter les dégâts causés par ces bioagresseurs telles que la lutte culturale, physique, biologique, intégrée et chimique. Cette dernière s'avère être la plus utilisée où nous assistons à une explosion de l'utilisation des pesticides, qui ont fortement contribué à l'amélioration des rendements agricoles et ayant permis un énorme progrès dans la maîtrise des ressources alimentaires.

Les exigences de qualité sanitaire imposées dans les systèmes de production de plants ou semences nécessitent aussi l'emploi de pesticides en quantité élevée : dans ce domaine, il s'agit principalement des insecticides et huiles minérales (lutte contre les maladies d'origine virale), les virus de la pomme de terre transmis par pucerons et par contact peuvent réduire les rendements de 5 à 40% pour les virus (*PVX*, *PVM et PVS*) et des pertes allant jusqu'à 90%, pour le *PLRV* et les infections mixtes (*PVX-PVY*) (Salazar, 1987).

Ces substances chimiques ont rapidement extériorisé des effets négatifs sur les écosystèmes et sur la santé, auxquels s'ajoute le développement des mécanismes de résistances chez certains ravageurs. Par ailleurs, le développement d'une agriculture durable nécessite le recours vers la protection efficace en utilisant de nouveaux moyens qui visent à protéger sans nuire à la santé humaine et à l'environnement.

Vu que les conditions climatiques (Avril Mai) ne nous ont pas permis d'effectuer des prospections sur terrain, afin de prélever des échantillons de feuilles des plants de pomme de terre et les tubercules pour les analysés par la DAS ELISA vu la disponibilité du kit *PVY* au niveau de laboratoire de recherche. Pour cela nous sommes proposées de dresser un état de connaissances des travaux précédant (campagnes maraichères 2012-2013 et 2015-2016) qui ont portés sur le contrôle de la diminution des taux d'infections par le *PVY*.

Dans le cadre de la lutte contre la transmission des virus non persistants, les études menées dans les régions de Sétif et El Bayadh avaient portée respectivement sur l'emploi des insecticides et l'utilisation des huiles minérales paraffiniques et d'un biofertilisant à base du jus de vermicompost. Ces travaux avaient consisté à vérifier

l'efficacité des traitements appliqués sur la diminution du taux d'infection du *PVY* et la densité des pucerons-vecteurs du *PVY* par dosage immuno-enzymatique DAS-ELISA.

1.1. Généralités sur la plante-hôte (pomme de terre Solanum tuberosum L.)

1.1.1. Origine

La pomme de terre est une plante vivace herbacée cultivée depuis 8 000 ans, originaire des Andes (Pérou), fut introduite en Europe via l'Espagne au milieu du XVIème siècle. En Algérie, la pomme de terre a probablement, été introduite une première fois au XVIème siècle par les Maures andalous qui ont propagé les autres cultures dans la région (Meziane, 1991).

1.1.2. Taxonomie

La pomme de terre est une plante vivace, herbacée, dicotylédone et tubéreuse de la famille (*Solanum tuberosum L.*), Elle appartient à la famille des Solanacées, qui sont des plantes à fleurs et tubercules. (Boufares, 2012). Cette espèce appartient à la classification par ces rangs Taxonomique :

Règne :	Métaphytes (Végétaux supérieurs)
Embranchement:	Spermatophytes
Classe:	Dicotylédone
Ordre:	Solanales
Famille:	Solanaceae
Genre :	Solanum
S/Genre:	Petota
Série :	Tuberosa
Espèce :	Solanum tuberosum L.

1.1.3. Description morphologique

La pomme de terre est une plante herbacée, de la famille des solanacées dont l'espèce commune blanche cultivée a pour nom latin *Solanum tuberosum* L. qui est cultivée comme une plante annuelle ; tubéreuse à feuilles caduques (elle perd ses feuilles et ses tiges aériennes dans la saison froide), qui peut atteindre un mètre de hauteur (Kleinkopf, 1983).

-Le système aérien

Le système aérien est annuel

- Les tiges aériennes, au nombre de 2 à 10, parfois plus, et ont un port plus au mois dressé et une section irrégulière.
- ❖ Les feuilles composées qu'elles portent permettent, par leurs différences d'aspect et de coloration, de caractériser les variétés.
- Les fleurs, dont la couleur et le nombre caractérisent les variétés. Sont généralement autogames, mais souvent stériles.
- ❖ Les fruits ou baies qu'elles produisent contiennent des graines dont l'intérêt est nul en culture (Soltner, 1979).

-Le système souterrain

Le système souterrain porte des tubercules vivaces.

- Les racines, nombreuses et fines, fasciculées et peuvent pénétrer profondément le sol, s'ils sont suffisamment meubles :
- ❖ Les tiges souterraines ou rhizomes, ou stolons, sont courtes et leurs extrémités se renflent en tubercules.
- ❖ Ces tubercules sont les organes de conservation qui permettent de classer la pomme de terre parmi les plantes vivaces à multiplication végétative (Soltner, 1979).

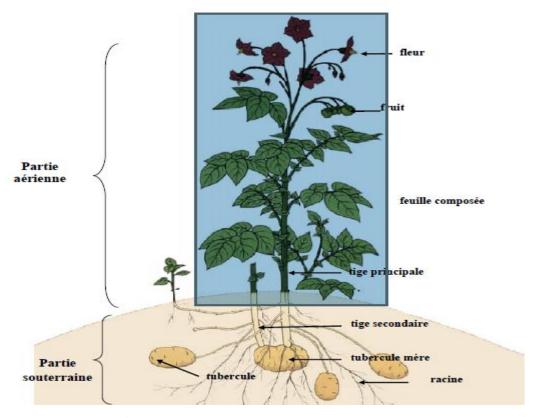


Figure 1.1: Plante de la pomme de terre (Fao, 2008).

1.1.4. Reproduction de la pomme de terre

La reproduction de la pomme de terre se fait par la multiplication soit par

- Les graines : L'intérêt nul en culture .
- Les boutures : se pratique lorsqu'on ne dispose que de quelques tubercules de variétés méritantes.
- ❖ Les tubercules ; c'est la multiplication la plus courante.

La figure 1.2 présente les différentes méthodes de multiplication de la pomme de terre (Larousse agricole, 2002).

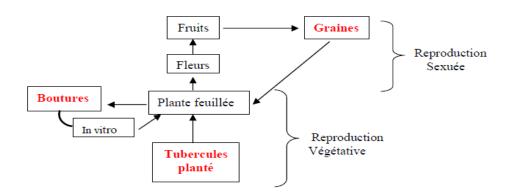


Figure 1.2 : Les différentes méthodes de multiplication de la pomme de terre.

-Cycle sexué

Le fruit est une baie sphérique ou ovoïde de 1 à 3 cm de diamètre, il contient plusieurs dizaines de graines qui sont l'outil de création variétale. (Larousse agricole, 2002). La germination est épigée et les cotylédons sont portés au-dessus du sol par le développement de l'hypocotyle. Quand la jeune plante atteint quelques centimètres de hauteur, les stolons commencent à se développer d'abord au niveau des cotylédons puis aux aisselles situées au-dessus de sol et s'enfoncent dans le sol pour donner des tubercules à la présence des conditions favorables. (Boufares, 2012).

-Cycle végétatif

Le cycle de la pomme de terre comprend trois étapes et se fait par le tubercule qui sert à la multiplication végétative et se déroule en trois étapes :

- La dormance
- La germination

La tubérisation

1.1.5. Aire de production

D'après Nayabyenda (2005), la pomme de terre est la plante la plus importante des régions tempérées, sa production est surtout concentrée en Europe (Russie, Poogne, Ukraine, Allemagne, Biélorussie, etc.), mais elle est produite également à grande échèle en Amérique du Nord (Chine, Inde). La production de la pomme de terre est concentrée dans quelques pays à climat tempéré d'Afrique du Sud et dans les régions des terres d'altitude d'Afrique centrale et orientale (Nyabyenda, 2005). En Algérie, la production est répartie selon 4 zones géographiques : littoral, sublittoral, atlas tellien et hautes plaines (Anonyme, 2010).

1.1.6. Variétés de pomme de terre

Les variétés de pomme de terre sont nombreuses ; dans la variété à peau blanche on trouve La Spunta, Fabula, Sigma, Sieglinde,... et les variétés à peau rouge est représenté par Désirée, Kondor, Bintje, Hermes...

Les variétés de la pomme de terre sont déterminées par (Anonyme, 2016) :

- La forme du tubercule.
- La couleur de la peau et de la chair.
- La durée de conservation.
- La date de mise sur le marché.
- La durée de culture.

1.1.7. Importance économique

1.1.7.1. Dans le monde

D'après Oswaldo, (2010), la production annuelle mondiale de pomme de terre avait atteint plus de 325 millions de tonnes (Tab 1.1). Cette dernière peut être cultivée dans toutes les régions du monde. La surface cultivée en pomme de terre est estimée à près de 19 millions d'hectares, la chine est devenue le premier producteur mondiale de cette culture (Faostat, 2012 in Rakotonindraina, 2012).

Tableau 1.1: Principales pays producteurs de pomme de terre (Source: Faostat, 2007 in Boufares, 2012).

Pays	Quantité (tonnes)
Chine	72 040 000
Féd. De Russie	36 784 200
Inde	26 280 000
Etats Unis	20 373 267
Ukraine	19 102 300
Pologne	11 643 769
Allemagne	11 604 500
Belarus	8 743 976
Pays Bas	7 200 000
France	6 271 000

1.1.7.2. En Algérie

La pomme de terre est une culture stratégique et surtout cultivée sur la côte méditerranéenne, qui jouit d'un climat tempéré. En Algérie plusieurs variétés sont cultivées dont les plus dominantes sont Spunta 35% et Désirée 30% (I.T.C.M.I., 2005). Ainsi 1 000 000 Ha sont réservés annuellement à la production de la pomme de terre (Nouad, 2009). Selon le Ministère de l'agriculture et du Développement Rura que les récoltes de pomme de terre sont très bonnes en 2012 (Tab 1.2). Nous allons approcher les 4 millions de tonnes (Anonyme, 2012).

Tableau 1.2 : Principales régions productrices de pomme de terre en Algérie (Anonyme, 2012).

Région productrice	Superficie (ha)	%Total	Production (qx)	%Total	Rendement (qx/ha)
EL-Oued	30 200	21,77	11 176 000	26,48	370,1
Ain –Defla	18 385	13,25	5 601 681	13, 27	304,7
Mascara	11 400	8,22	3 552 000	8,41	311,6
Total Algérie	138 666	100	42 192 758	100	304,3

1.1.8. Les exigences de la plante

1.1.8.1. Exigences climatiques

La pomme de terre est cultivée avec succès à une altitude de 1000 m. On peut dire que son aire d'adaptation va des régions subtropicales aux régions plus froides, elle résiste le mieux sous les climats tempérés, humides et brumeux (Laumonnier, 1979).

1.1.8.1.1. La température

Les températures basses ont une influence défavorable sur la croissance des plantes puisqu'elles la ralentissent à la fois directement et en favorisant l'induction de la tubérisation. Les températures élevées ont l'effet contraire. Il existe des températures seuils pour la pomme de terre. Son zéro de végétation se situe entre 5°C et 7°C et sa température optimale de tubérisation aux environs de 18°C. Des températures élevées de l'ordre de 29°C perturbent la tubérisation et provoquent la repousse. Les tubercules risquent de geler à partir du moment où les températures deviennent inférieures à -2°C.

1.1.8.1.2. La lumière

La lumière intervient par son effet photopériodique dans l'induction de la tubérisation et par son intensité dans l'activité photosynthétique. Les photopériodes courtes sont plus favorables à la tubérisation et les photopériodes longues plus favorables à la croissance. La plupart des cultivars utilisés dans les régions à climat tempéré ont des photopériodes critiques comprises entre 13 heures et 16 heures (Rousselle *et al.*, 1996).

1.1.8.1.3. Alimentation en eau

Les besoins en eau de la pomme de terre varient au cours du cycle végétatif. Ils sont surtout importants au moment de l'initiation des tubercules. Un stress hydrique se manifestant à ce stade peut entraîner une réduction du nombre d'ébauches formées par plante, consécutive à une réduction du nombre de stolons formés par tige (Rousselle *et al.*, 1996). Ses besoins en eau, faibles en début de végétation, sont très importants au moment de la croissance foliaire et de la tubérisation. L'irrigation peut être très efficace (Soltner, 1990). La plante évapore beaucoup et par conséquence elle a besoin de grandes quantités d'eau. Dans les meilleures conditions, elle utilise 300 g d'eau pour former 1g de matière sèche (Fig 1.3).

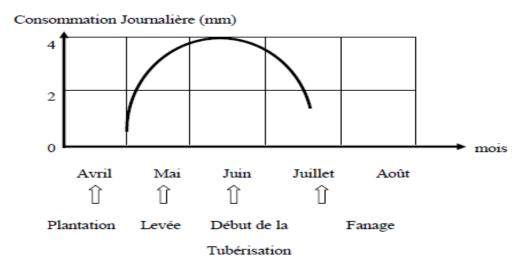


Figure 1.3 : Courbe de besoin en eau d'une culture de pomme de terre. (Rousselle *et al.*, 1996).

1.1.8.2. Exigences édaphiques

La pomme de terre préfère les sols siliceux ou silico-argileux, légers, assez frais et profonds. Elle s'accommode des terres acides dont le pH est assez bas ; 5,5 à 6. Il n'y a que les terrains très argileux, froids et humides au printemps et en automne, secs et compacts en été, ou trop calcaires qui ne lui conviennent pas (Gauthier, 1991).

1.1.8.3. Exigences en éléments fertilisants

La pomme de terre se classe parmi les plantes très exigeantes en azote, phosphore et potassium.

Tableau 1.3 : Prélèvements en éléments majeurs (en Kg/t).

Eléments	Tubercules	Plante entière
Azote	3.2	3 à 4.5
Acide phosphorique	1.6	0.8 à 1.7
Potassium	6	4.1 à 8.5

L'azote est le facteur déterminant du rendement de la culture (Tab 1.3). Il favorise dans un premier temps le développement du feuillage, puis la formation et le grossissement des tubercules. L'acide phosphorique est un facteur de précocité et favorise le développement racinaire.

Les besoins en calcium, magnésium et souffre sont généralement notables (Tab1.4). Elle est sensible à une carence en magnésie qui se manifeste par un jaunissement entre les nervures des feuilles (Rousselle *et al.*, 1996).

Tableau 1.4 : Prélèvements moyens en éléments secondaires (Kg/ha).

Magnésium	15 à 30
Calcium	40 à 50
Soufre	10 à 25

Tableau 1.5 : Besoins moyens en oligo-éléments (en g/ha).

Fer	100	Manganèse	50
Cuivre	60	Bor	80 à 120
Zinc	80 à 150	Molybdène	0.8

1.1.9. Importants problèmes phytosanitaires de la pomme de terre

La pomme de terre est soumise à l'attaque d'un grand nombre de maladies et de ravageurs qui peuvent occasionner des pertes importantes, au niveau mondial, les maladies causent 32% et les ravageurs 10% (Rousselle *et al.*, 1996). Donc, la protection phytosanitaire permet de réduire au maximum les pertes de production.

1.1.10. Maladies et Ravageurs

La pomme de terre est sujette à l'attaque de plusieurs ravageurs, qui effectuent la totalité ou une partie de la plante elle présente également l'une des cultures les plus affectées par les maladies, en raison de son mode de multiplication végétative qui favorise le maintien et la propagation d'agent pathogènes (Agrios, 1997).

1.1.10.1. Maladies cryptogamiques

1.1.10.1.1. Mildiou

Maladie la plus grave en culture de pomme de terre. Causé par le champignon *Phytophthora infestans*. L'attaque apparait toujours, sur les feuilles puis parfois sur les tiges. Les symptômes sont des taches d'aspect huileux puis brunes arrondies visibles à la face supérieure des feuilles, et finissant par se dessécher. En conditions humides ces

taches croissent et laisse apparaître un feutrage blanc correspond à la sporulation. Le mildiou s'attaque aussi aux tubercules : il provoque des taches brunes sur l'épiderme et à l'intérieur des tubercules et lésion brunes ou noirâtres par fois présentes sur les tiges (Hammi, 2003).

1.1.10.1.2. Alternariose

Cette maladie est causée par *Alternaria Solani*, *A. alternata*, provoquent sur le feuillage des taches circulaires, brunes, souvent avec des anneaux concentriques, parfois présence d'un halo jaune et des taches brunes foncées à noir, circulaire légèrement déprimées à la surface des tubercules (Bamouh, 1999).

1.1.10.1.3. Rhizoctone noire

Cette maladie est provoquée par *Rhizoctonia Solani* qui possède de nombreuse plantes hôtes et survit dans les résidus de récolte, ses sclérotes noires de forme irrégulière formées sur les tubercules sont facilement disséminées. Cette maladie provoque l'apparition de plusieurs petits tubercules aériens de couleurs violacée, des nécroses des racines et la pourriture du collet (Bamouh, 1999).

1.1.10.1.4. Dartrose

Cette maladie causée par *Collettotrichum coccodes provoque sur les stolons* un jaunissement et un desséchement primature, progressant du sommet vers la base de la tige avec une nombreuse ponctuation noire en fin de végétation ainsi la formation de taches plus ou moins circulaires de couleur graisse grosses au niveau du tubercule (Anonyme, 1998).

1.1.10.2. Maladies bactériennes

1.1.10.2.1. Pourritures molles

Les pourritures molles provoquées par des bactéries du genre *Erwinia* notamment *E. carotovora sub sp.* et *E. Atroseptica* sont responsables de la pourriture molle des tubercules en post-récolte et de la jambe noire au champ (Anonyme, 1990). La jambe noire de la pomme de terre est causée par *Erwiniae chrysanthemi* et elle touche les organes de la plantes dès qu'il y a un fort taux d'humidité se caractérise par la pourriture des racines dans le sol et durant le stockage. Les plantes malades présentent des lésions

noires et humides qui progressent le long des tiges à partir d'un tubercule mère atteint de pourriture molle. Un jaunissement et un enroulement des feuilles vers le haut peuvent se déclarer, entrainant le flétrissement et la mort de la plante. (Anonyme, 1998).

1.1.10.2.2. Gale commune

La bactérie *Streptomyces scabies* est la plus virulente sur la pomme de terre (Lambert, 1989). Elle provoque des lésions peuvent être superficielles et réticulaires, profondes sur les tubercules à une température fraiche de 13 à 17°C (Bruyer, 2008). Les pustules sont observées à la surface et parfois en profondeur du tubercule (Bamouh, 1999).

1.1.10.2.3. Flétrissement bactérien

Le flétrissement bactérien est causé par La bactérie *Ralstonia solanacearum* (*syn. Pseudomonas solanacearum*, *syn. Burkholderia solanacearum*), (Girard *et al.*, 1967; Hayward, 1990). Le premier stade de l'infection se traduit par un flétrissement et un jaunissement des feuillages du haut de la plante à température élevée pendant la journée et un retour à l'aspect normal pendant la nuit il devient rapidement irréversible et se traduit par la mort de la plante (Yabuuchi *et al.*, 1992).

1.1.10.2.4. Flétrissement bactérien ou pourriture annulaire des tubercules

La pourriture annulaire des tubercules est causée par *Clavibacter Michiganensis* sepedonicus .Elle se manifeste par le pourrissement de l'anneau vasculaire au niveau de tubercule, une coloration jaune brun des tissus vasculaires et par un flétrissement de la plante entière (Bruyer, 2008).

1.1.10.3. Maladies virales

Environ 40 virus peuvent infecter naturellement la pomme de terre cultivée. Il s'agit du *PLRV* (*Potato Leaf Roll Virus*) appartenant aux *Luteovirus*, les *Potyvirus* sont représentés par le *PVY* (*Potato Virus Y*), les *Carlavirus* sont représentés par le virus *M* et le virus S de la pomme de terre (*Potato Virus M et Potato Virus S*), et le *PVX* (*Ptato Virus X*) appartenant aux *Potexvirus* (Tab 1.6) (Baldauf, 2008; Marchoux, 2008; Mih et Atiri, 2004; Valkonen, 2007)

Tableau 1.6 : Principales caractéristiques des viroses les plus communément rencontrées sur la pomme de terre (Sources : Anonyme, 2008b ; Rousselle *et al.*, 1996).

Nom générique	Nom commun	Famille
PVY = potato virus Y (ordinaire ou ancienne)	Virus Y de la pomme de la terre	Potyvirus
PVY ^{NTN} = Potato Virus YNTN (nouvelle, responsable de nécroses annulaires de tubercules)	Virus Y nécrogène	Potyvirus
PLRV = Potato Leaf Roll Virus	Virus de l'enroulement de la pomme de terre	Lutéovirus
PVA = Potato Virus A	Virus A de la pomme de terre	Potyvirus
$PVX = Potato\ Virus\ X$	Virus X de la pomme de terre	Potexvirus
PVS ^O = <i>Potato Virus SO</i> (Ordinaire)	Virus S de la pomme de terre	Carlavirus
PVS ^A = <i>Potato Virus SA</i> (Andine) NB : Parasite de quarantaine	Virus S de la pomme de terre	Carlavirus
$PVM = Potato\ Virus\ M$	Virus M de la pomme de terre	Carlavirus

1.1.10.4. Ravageurs

Les ravageurs de la pomme de terre sont nombreux et appartiennent majoritairement à la classe des insectes (la Teigne (*Phtorimaeao perculella*); les Noctuelles (*Spodoptera littoralis*, *S. exigna*) et les pucerons (*Homoptera Aphididae* etc). Concernant ces derniers, ils sont parmi les insectes ravageurs les plus dommageables pour les cultures (Dixon, 1998). D'après Alyokhin *et al.* (2002), cette nuisibilité est due non seulement aux effets directs des populations à densité élevée, mais aussi indirectement comme étant des vecteurs importants de virus affectant les plantes cultivées (Alyokhin *et al.*, 2002).

1.1.10.4.1. Nématodes

Les principaux symptômes d'une nématodose sont : un arrêt de croissance, le développement de petits tubercules et une mortalité massive. Les systèmes radiculaires peuvent devenir plus vulnérables à d'autres maladies. Des réductions de rendement pouvant atteindre 40 % sont possibles [66].

1.1.10.4.2. Dégâts

Les dégâts directs correspondent au prélèvement et à l'absorption de la sève. Les piqures alimentaires sont également irritatives et toxiques pour la plante ; induisant l'apparition de galles qui se traduisent par la déformation des feuilles ou des fruits et donc une perte de rendement et pour les dégâts indirects le virus transmis par le vecteur (Christelle, 2007).

1.2. Données sur l'agent pathogène PVY (*Potato Virus Y*)

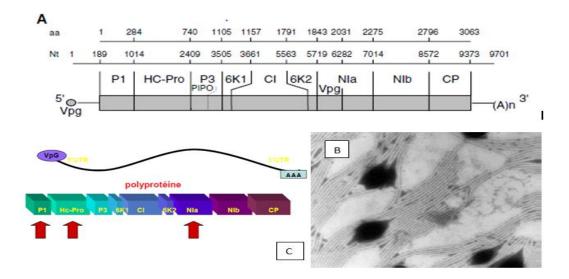
Le virus infecte de nombreuses plantes, appartenant notamment à la famille des *Solanaceae* (Baldauf, 2008). Il a été décrit pour la première fois par Smith (1931) et est classé en 5^{ème} position parmi les 10 principaux phytovirus ayant une importance économique (Sholhof, 2011).

1.2.1. Taxonomie

Le virus Y de la pomme de terre appartient au genre *Potyvirus*, de la famille des *Potyviridae*. Le genre *Potyvirus* compte 217 espèces, dont 128 sont déjà assignées et 89 ne le sont pas encore, et est l'un des plus grands genres de virus infectant les plantes (Fauquet *et al.*, 2005).

1.2.2. **Génome**

Il possède une particule virale filamenteuse et flexueuse de 700 nm de longueur et de 12-15 nm de diamètre (Bokx et al., 1975; Varma et al., 1968) Cette structure (Fig 1.4) protège un génome constitué par un ARN simple brin de polarité positive d'une longueur d'environ 9,7 kb (Shukla et al., 1994) présentant une protéine VPg (Viral genome-linked protein) liée de manière covalente à l'extrémité 5' et une queue polyadénylée à l'extrémité 3'. Le génome viral code une polyprotéine clivée par trois protéases virales (P1, HC-Pro, et Nia) (Carrington et Dougherty, 1987; Verchot et al. 1992) permettant la production de dix protéines fonctionnelles (Urcuqui-Inchima et al. 2001) Un second gène (PIPO), chevauchant dans un autre cadre de lecture. L'information génétique codant la protéine P3, a récemment été décrit pour plusieurs Potyvirus y compris pour le PVY (Chung et al. 2008).



(a). Représentation schématique du génome du *PVY*. La polyprotéine codée par le génome viral est représentée sous forme du rectangle gris sur lequel sont indiquées les régions correspondantes aux différentes protéines fonctionnelles virales. Le cercle plein gris à l'extrémité 5' du génome symbolise la protéine virale VPg. (A)n: queue polyadénylée. (b). particules virales de *PVY* photographiées en microscopie électronique. (c). Les 3 flèches identifient les protéines montrant une activité protéolytique.

Figure 1.4 : Schéma de la particule virale (PVY) (Pépin, 2004 ; Rolland et al., 2008).

1.2.3. Symptomatologie

1.2.3.1. Mosaïques

L'apparition des symptômes de mosaïques (Fig 1.5) est fonction des conditions climatiques. Il s'agit de l'alternance de zones vert-clair et vert-foncé, non déformante, plus ou moins prononcée.



Figure 1.5 : Symptôme de mosaïque sur les feuilles de la pomme de terre (Anonyme, 2013).

1.2.3.2. Bigarrure

L'infection primaire provoque l'apparition des symptômes de bigarrure. Cette maladie évolue rapidement par formation de taches nécrotiques secondaires le long des nervures sur les deux faces de feuilles (Fig 1.6) puis ces derniers se dessèchent, cette nécrose commence de la partie inférieure et gagne peu à peu le sommet de la plante (Beczner *et al.*, 1984). Les symptômes de bigarrure s'extériorisent sur les plantes adultes au niveau des feuilles les plus âgées : des taches jaunes apparaissent puis évoluent en nécroses ponctuelles, nervaires ou internervaires selon les variétés atteintes ; certaines peuvent même montrer une nécrose apicale (Kerlin, 2008).



Figure 1.6 : Symptôme de bigarrure sur feuilles de pomme de terre (Anonyme, 2013).

1.2.3.3. Frisolée

L'infection secondaire provoque l'apparition des symptômes de frisolée, se caractérise par un rabougrissement des plants, qui présentent alors des dimensions réduites. Les feuilles sont petites et frisées, suite au raccourcissement des nervures, ainsi les folioles sont petites et les pétioles cassants (Fig 1.7). Dans les cas typiques, le feuillage a un aspect ramassé. Parfois les déformations des feuilles sont moins accentuées, et se caractérisant par de simples sinuosités ou ondulations, gaufrages ou cloquages. (Kerlan, 2008).



Figure 1.7 : Symptôme de frisolée sur feuilles de pomme de terre (Anonyme, 2013).

1.2.4. Symptômes sur tubercules

Le virus Y de la pomme de terre cause des nécroses au niveau des tubercules chez toutes les variétés (Girousse *et al.*, 2005; Anonyme, 2014) les lésions restent superficielles (Fig 1.8) et il n'y a aucun arc nécrotique à L'intérieur de la chair du tubercule La variation des symptômes dépend des facteurs du milieu et de la variété. Le *PVY* est sensible aux variations de température et réagit entre 10 et 26°C (Basky *et* Almàsi, 2005).

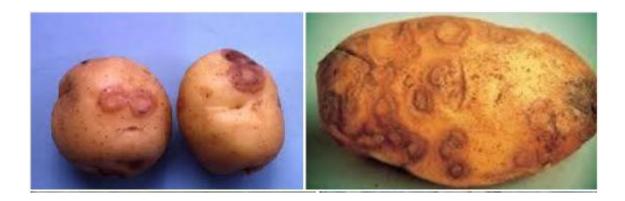


Figure 1.8: Symptômes des anneaux nécrotiques superficiels sur un tubercule de pomme de terre (Staubli, 2004).

1.2.5. Voies de Transmission

Le virus Y de la pomme de terre se transmet par une transmission verticale correspondant à la transmission du virus à la descendance d'une plante infectée à une plante saine aussi il peut transmettre par des procédés mécaniques :Le tranchage de la

semence, le frottement des tiges et des feuilles avec les équipements de culture et de pulvérisation de même que les dommages causés aux pommes de terre durant la récolte Delaunay (2009) et par transmission horizontale qui permet au virus de passer d'un plant infecté à un autre à l'aide d'un puceron vecteur qui possède un appareil buccal de type piqueur-suceur selon le mode non persistant (Pelletier, 2008).

-Mécanisme de transmission non-persistante

Les virus non-persistants sont présents, entre autres, dans les cellules de l'épiderme des plantes (Fig 1.9a) (Astier *et al.* 2001; Marchoux *et al.* 2008; Brault *et al.*, 2007). Ils sont ingérés très rapidement, en quelques secondes à quelques minutes, par le puceron au moment des piqûres d'épreuve. Les virus, prélevés en même temps que le contenu de la cellule sondée, pénètrent dans les stylets et remontent tout d'abord dans le conduit commun (Fig 1.9b) (Blanc *et al.* 2008; Revollon, 2010), à l'extrémité distale, puis plus loin dans le canal alimentaire (Fig 1.9c) (Piffarretti, 2010). Les particules virales sont retenues sur la cuticule tapissant les canaux des stylets ou la partie antérieure du tube digestif, dans une zone qui, jusqu'à présent, n'a pas été précisément délimitée. Après cette phase d'acquisition, le virus est retenu sur la cuticule du puceron durant un temps relativement court, pouvant s'étendre de quelques minutes à quelques heures suivant les cas (Marchoux *et al.* 2008; Revollon, 2010).

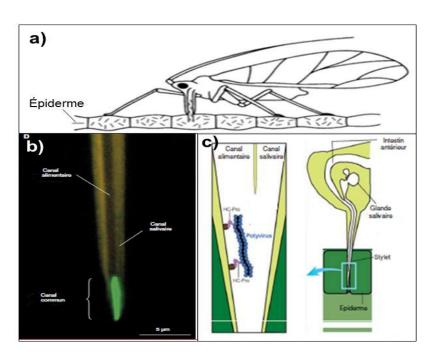


Figure 1.9 : Transmission des virus non-persistant (Marchoux *et al.*, 2008 ; Astier *et al.*, 2001 ; Brault *et al.*, 2007 ; Revollon, 2010 ; Piffaretti, 2012).

1.2.6. Pucerons vecteurs

- Myzus persicae (Sulzer)

Le puceron vert du pêcher attaque le plus grand nombre de plantes cultivées. Le pêcher est l'hôte primaire de *M. persicae*, sur lequel les œufs hibernent en diapause. Les pucerons du printemps se multiplient par quelques générations par parthénogenèse, lorsque la température est supérieure à 18°C sur le pêcher. Les pucerons ailés émigrent alors sur plusieurs hôtes secondaires (Fig.10). En bas de 18°C, ils ne se reproduisent pas. Sur la pomme de terre, on le trouve d'habitude durant le mois de juin. L'adulte ailé possède une tache noire sur son abdomen vert, un thorax noir et deux longues paires d'ailes translucides, pour une longueur moyenne de 2,5 mm L'individu aptère est vert clair et de taille plus faible, d'environ 2 mm (Fig.10). Les larves ressemblent aux adultes, à l'exception de leur taille plus petite et de l'absence d'appareil reproducteur fonctionnel et d'ailes (Blackman *et* Eastop, 2000).

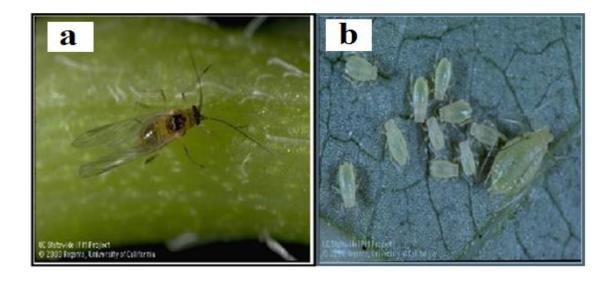


Figure 1.10 : a) Individu de Myzus persicae adulte ailé. b) adulte aptère. (Jack, 2007)

- Aphis nasturtii (Kaltenbach)

Appelé le puceron du nerprun ,il *est* de très petite taille, de 1,5 à 2 mm de long (adulte), 2 à 3 fois plus petit que *M. euphorbiae*, de forme trapue. Il est de couleur jaune citron à vert clair très vif, presque fluorescent. Les antennes sont nettement moins longues que le corps. Il forme des colonies souvent très denses (plus de 100 pucerons

par feuille en cas de pullulations) sur la face inférieure des feuilles âgées, près du sol. Les individus ailés mesurent entre 1 1,8 à 2,7 mm de long comparable à l'aptère (Fig.11) (Jansen, 2005).



Figure 1.11 : Individus ailé d'*Aphis nasturtii* de la pomme de terre (Blackman et Eastop, 1984)

- Aphis gossypii (Golver)

Il est anholocyclique hiverne donc sous forme d'individus parthénogénétiques. Les individus aptères ont une longueur de 1.2 à 2.2 mm, avec une couleur jaunâtre à vert sombre. Les antennes sont jaune pâles, les cornicules sont très foncées et le cauda est pâle (Christelle, 2007). Alors que les individus ailés sont le plus souvent noirs et plus petits, avec un corps généralement vert à vert foncé et des antennes courtes par rapport à la longueur du corps. Les cornicules sont noires et plus courtes que celles des aptères, la cauda est pigmentée et plus claire que les cornicules (Christelle, 2007)



Figure 1.12 : Individu ailé d'*Aphis gossypii* de pomme de terre (Blackman *et* Eastop, 1984).

-. Macrosiphum euphorbiae (Thomas)

Le puceron de la pomme de terre (Fig.1.13) a une grande capacité de multiplication car la population peut doubler en 2-3 jours s'il a des bonnes conditions. Les pucerons attaquent surtout les fleurs et les pousses (Shands *et al.*, 1972). Toutefois, la plupart des populations survivent sous forme de femelles en hivernant sur les germes de pomme de terre ou en serre chaude ou froide. Au début d'août, les populations du *M. euphorbiae* commencent à décroître, surtout parce que les adultes ailés commencent à migrer vers leurs hôtes d'hiver (Shands *et al.*, 1972).

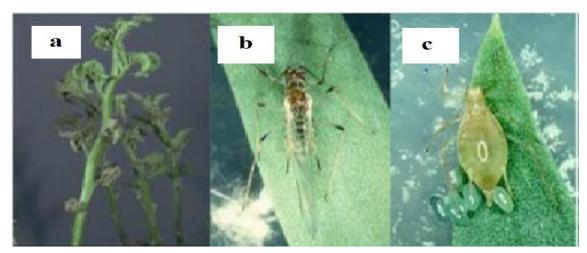


Figure 1.13 : a) Le puceron de la pomme de terre (*Macrosiphum euphorbiae*). **b)** dégâts sur pomme de terre adulte ailé. **c)** adulte aptère au moment de la multiplication (Anonyme, 2006).

Le puceron *M. euphorbiae* est un grand puceron de 3 à 4 mm de long (adulte), de forme très allongée, de couleur vert moyen à vert foncé ou rose-mauve (Fig.1.13). Les

antennes sont nettement plus longues que le corps et les pattes très grandes. Il se rencontre principalement à la face inférieure des jeunes feuilles, sur les tiges florales et les fleurs où il peut former, en cas de pullulation.

- Aulacorthum solani (Kaltenbach)

Appelé le puceron de la digitale et de la pomme de terre (Figure 1.7_e). Dans les climats tempérés la plupart des populations hivernales sont des aptères ou des nymphes, surtout sur les feuilles de pomme de terre et des espèces sauvages comme *Digitalis* (Hullé *et al.*, 1999). L'individu aptère est d'une taille comprise entre 1,5 à 3 mm, sa couleur varie du vert au jaune pâle, une tache verte parfois rougeâtre est généralement bien visible à la base des cornicules. Les appendices sont entièrement pâles excepté l'extrémité des tibias, des cornicules et des antennes qui sont sombres (Hullé *et al.*, 1999).



Figure 1.14 : Puceron de la pomme de terre *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) (Hullé *et al.*, 1999).

1.2.7. Test ELISA

Le test ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) est une technique à la fois simple, rapide et fiable. Il convient parfaitement pour le diagnostic d'un nombre important d'échantillon.

CHAPITRE 2 MATERIELS ET METHODES

2.1. Objectif du travail

Notre travail a été basé sur la comparaison entre 2 régions différentes : la région agricole Guellal dans la wilaya de Sétif et la région de Bouaelm dans la wilaya d'El Bayadh durant les campagnes maraichères (2012-2013) et (2015-2016) de la culture de la pomme de terre de consommation.

2.1.1. Situation géographique de la région n°1

L'essai a été mené au cours de la campagne maraichère 2012-2013 dans la région agricole Guellal par la société agro développement (SAGRODEV) Société spécialisée dans la production de semence pré base de pomme de terre de la Wilaya de Sétif. La plantation a été réalisée le 10 Aout 2012, les levées ont été observées 3 à 4 semaines après la plantation.

2.1.1.1. Climatologie

Avril où la température moyenne la plus basse est de 5,79. La région de Sétif se situe dans l'étage bioclimatique, semi-aride à hiver frais, elle est caractérisée par

- Une période sèche qui s'étale du mois de Juin jusqu'au le mois d'Aout.
- Une période humide qui s'étale du mois de Septembre jusqu'au le mois de Mai.

a- Températures

La région de Guellal caractérisée par la présence de deux périodes :

- -Une période chaude allant du mois de Mai à Septembre où les mois de juillet et Août sont les plus chauds avec des températures moyennes de 24,97 °C et 25,89 °C respectivement
- -Une période froide qui s'étale du mois d'Octobre jusqu'à Avril où la température moyenne la plus basse est de 5,79 enregistrée durant le mois de Janvier.

b- la pluviométrie (P/ mm)

Les données pluviométriques ont montré que les mois d'Avril, Mai et Septembre sont les plus pluvieux de l'année, par contre le mois de Juillet étant le mois le plus sec.

c- le vent

Le vent est très fréquent pendant toute l'année et la vitesse maximale est enregistrée au mois d'Avril.

2.1.1.2. Matériel

Protocol d'essai:

Variétés : Spunta et Désirée

En plein champ.

• Dispositif : Bloc aléatoire complet à 04 répétitions.

• Essai porte : 04 objets (traitements).

Tableau 2.7: Dispositif des traitements

Bloc		Traitement								
BLOC A	TNT	VAZYL D1	VAZYL D2	REFERENCE						
BLOC B	REFERENCE	TNT	VAZYL D1	VAZYL D2						
BLOC C	VAZYL D2	REFERENCE	TNT	VAZYL D1						
BLOC D	REFERENCE	VAZYL D2	VAZYL D1	TNT						

Vazyl D1: Dose normale

Vazyl D2: Dose double

TNT: Témoin Non Traité

Référence : Produit de référence (insecticide).

2.1.1.3. Traitements réalisés

Pour les traitements insecticides de référence nous avons alterné 04 matières actives (Cypermétrine, Thiaméthoxam + Lambdacyhalothrine, Imidachlopride et Deltaméthrine). Pour l'huile minérale utilisé c'est le Vazyl Y : huile de vasline à 817 g/l, dose d'emploi 15 L/ha (Anses, 2011).

Les traitements sont réalisés à l'aide d'un pulvérisateur porté, en fin de la journée à partir du 18 h, ce temps est recommandé pour tous les traitements, pour une bonne efficacité du traitement

2.1.2. Situation géographique de la région n°2

La wilaya d'El-Bayadh occupe une position géographique médiane entre les hauts plateaux et la chaîne steppique. Elle est délimitée par : Tiaret, Saida et Sidi Bel Abbés au Nord, Naâma à l'Ouest, Béchar au Sud-Ouest, Adrar, Ghardaïa au Sud et Laghouat à l'Est (Abdelouaheb, 2009). D'une superficie de 71 697 Km2, elle se situe au Sud-Ouest Algérien, dont le chef-lieu est à 520 km au Sud-Ouest d'Alger (Khattou *et al.*, 2014).

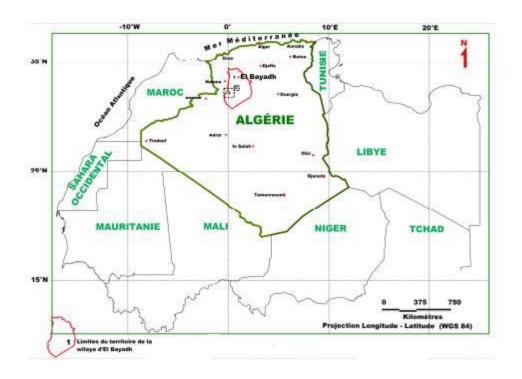


Figure 2.15: Localisation de la région d'étude (Regagba, 2012).

2.1.2.1. Climatologie

a- Température

Elle influe considérablement sur la végétation, elle est l'élément climatique le plus important dans l'aire de répartition des végétaux sur le globe (Prévost, 1999). La température moyenne annuelle est relativement peu élevée. Les températures estivales

sont assez fortes et les températures hivernales très basses induisent une amplitude thermique importante (Regagba, 2012).

b-Pluviométrie

Dans la steppe Algérienne, de façon générale la pluviométrie moyenne annuelle est faible (100 à 400 mm) et sa répartition est irrégulière dans le temps et dans l'espace. Les pluies se caractérisent par leur brutalité (averse) et leur aspect orageux (Nedjimi *et al.*, 2006) La pluviosité moyenne annuelle de la région d'El Bayadh est relativement faible. Elle représente 326 mm/an en moyenne (El zerry *et al.*, 2009)Cette pluviosité accuse une forte variabilité interannuelle et spatiale avec une diminution des hauteurs de pluie du nord vers le sud .Les pluies sont concentrées sur la saison froide et les mois les plus chauds sont aussi les plus secs (Regagba, 2012).

c- Vent

En hiver, les vents dominants sont de secteur Ouest à Nord-Ouest, dus aux hautes pressions qui règnent sur les Atlas, Tellien et Saharien. En été, ce sont les conditions locales qui prédominent et les vents du Sud-Est deviennent dominants. Dans l'ensemble, ces vents sont de force modérée et les plus forts sont ceux de fin d'hiver et de printemps (Regagba, 2012).

2.1.3. Présentation du site d'étude

Le site d'étude est localisé dans la région de Boualem est caractérisée par des chaines montagneuses qui sont presque dépourvues de végétation. Elle correspond à la partie la plus orientale des monts ksour. Ces massifs sont traversés par de vastes plaines (Negadi *et al.*, 2014).

2.1.4. Matériel végétal

La semence de pomme de terre qui a été utilisée appartient à la variété Spunta, elle est caractérisée par son bon rendement. Ses tubercules sont très gros, oblongs, allongés, peu sensibles au noircissement interne, aux bourgeons très superficiels, à peau jaune pâle et lisse et à chair jaune-pâle. Les germes du tubercule sont de couleur bleu violacé, à pointes vertes, plus colorés à la base et de faible pilosité (Mani *et al.*, 2012).

2.1.5. Biofertilisant

Le biofertilisant utilisé a été fourni par le laboratoire de Zoologie à l'université Blida 1, il a été préparé sur la base du jus de vermicompost obtenu à partir d'un processus de vermicompostage.

2.1.6. Dilution du biofertilisant

Les doses appliquées ont été préparé selon la méthode suivante : une quantité du biofertilisant est mélangée avec de l'eau de robinet selon un rapport de 1/10 (Volume/Volume) pour préparer la dose 1 (D1), et un rapport de 1/5 (Volume/Volume) pour préparer la dose 2 (D2), puis le mélange a été agité et appliqué après 24 heures.

2.2. Méthode

2.2.1. A/ Test de pré-culture pour la région n°1

Un échantillonnage au hasard des tubercules de chaque bloc et traitement avait été réalisé le 29.12.2012 pour l'essai de pré-culture. Le nombre total d'échantillons de tubercules ayant été prélevés était de 400 tubercules pour chaque variété donc 5 échantillons à tester pour chaque traitement et chaque échantillon était composé de 05 tubercules.

2.2.1.1. Méthode d'échantillonnage

Le protocole de prélèvement des feuilles de pommes de terre avant défanage précise les paramètres à respecter pour procéder au prélèvement aléatoire des feuilles (les trois folioles terminales) selon une grille systématique d'échantillonnage au champ. Les feuilles ont été échantillonnées après un minimum de 50 jours suivant la plantation et jusqu'à une à deux semaines avant le défanage. Les feuilles doivent être turgescentes, pleinement développées et localisées dans le premier tiers supérieur du plant. Dans cette étude près de 300 feuilles Hogue, R. (2013), ont été mises dans des sacs en plastique étiquetés et numérotés selon le traitement réalisé et puis conservées au froid.

2.2.1.2. Méthode d'application des traitements

Les levées ont été observés à partir de la $2^{ième}$ semaine après la plantation, dès que le taux de germination des plants avait atteint 70 %, un traitement à 3 niveaux, [D1 = 1/10 (Volume/Volume), D2 = 1/5 (Volume/Volume) ; avec un sous bloc témoin sans traitement D0] avait été appliqué tous les 15 jours, dans chaque sous bloc, par

pulvérisation à l'aide d'un pulvérisateur à dos. La période du traitement avait commencé le 18 Septembre 2015 jusqu'au 27 Novembre 2015.

2.2.2. B/ Test de pré-culture pour la région n°2

- ✓ Un échantillonnage au hasard des tubercules a été récolté de chaque bloc et un traitement a été réalisé pour l'essai de pré-culture.
- ✓ La plantation des tubercules échantillonnés après pré-germination avait été réalisée le : 20 Mars 2016 dans des pots en plastique mis dans une salle fermée, (4) répétitions ont été réalisées pour chaque traitement.
- ✓ Un échantillonnage des feuilles pour l'analyse immuno-enzymatique avait été réalisé à partir de la 6^{ième} semaine, les feuilles ont été conservées ay froid dans des sachets en plastiques étiquetées et numérotées.

2.2.3. Méthode d'identification par le test DAS-ELISA

L'Enzyme_Linked Immunosobent Assay (ELISA) décrite pour la détection des virus de plantes par Clark et Adams en 1977, a révolutionné le diagnostic en virologie végétale. Elle permet de s'affranchir des incertitudes liées à l'étude des symptômes et d'affirmer qu'une plante est effectivement infectée par un virus. Cette technique est très sensible et permet de détecter entre 1 à 10 ng de virus par ml de broyat (de feuille ou de fruits), selon le virus considéré (Astier *et al.*, 2001). Les techniques ELISA sont généralement les plus utilisées, elles sont polyvalentes, se prêtent généralement bien aux travaux de routine, elles sont automatisables et elles assurent une utilisation rationnelle et économique des anticorps.

2.2.4. Étapes de la DAS-ELISA

Le nombre des échantillons à tester était selon la disponibilité du sérum, un kit de 500 tests pour le virus *Y* (Figure 2.16), ce dernier est composé de :

- Coating (anticorps)
- Tampon du coating
- Conjugué (anticorps couplé à l'enzyme)
- Tampon conjugué
- Substrat (sous forme des pastilles)
- Tampon du substrat

- Témoin positif
- Témoin négatif
- Tampon de de broyage
- Tampon de lavage plaques de microtitration



Figure 2.16 : Kit de sérum (*PVY*) (SYDIAC)

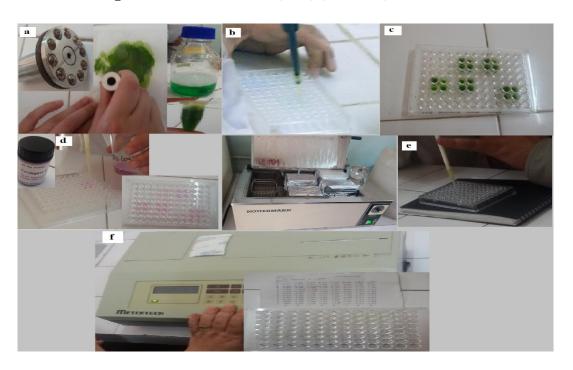


Figure 2.17: Protocole de test ELISA

(Fig 2.17_a): broyage des échantillons de feuilles de pomme de terre (Personnelle 2018); (Fig 2.17_b) Sensibilisation des microplaques avec l'anticorps spécifique (Fig 2.17_c): dépôts des échantillons (Personnelle 2018); (Fig $2.17_{d\,;e}$): dépôt des anticorps conjugués; Incubation des plaques à 37° C (personnelle 2018); Dépôt du substrat (personnelle 2018); (Fig 2.18_f): lecture des résultats (personnelle 2018).

a) Préparation des échantillons

Les feuilles ont été broyées avec un broyeur de tissus en ajoutant un tampon de broyage à raison de (1ml) du tampon pour (1g) des feuilles.

b) Sensibilisation des microplaques avec l'anticorps spécifique

Cette étape se fait comme suit : la dilution des anticorps au 1/100 dans le tampon de fixation juste avant l'utilisation, puis le dépôt des anticorps dilués à raison de 1000 µl/puits. Les plaques sont par la suite Incubées et couvertes avec un film plastique adhésif à 30°C pendant 4 heures. En fin nous devons réaliser (3) lavages avec du tampon de lavage.

c) Dépôt des échantillons

Dans chaque puits nous devons déposer 1000µl d'échantillon broyé, par la suite les sont couvertes avec un film plastique adhésif et incubées pendant une nuit à 4°C. À la fin nous devons réaliser (3) lavages avec du tampon de lavage.

d) Dépôt des anticorps conjugués

Les anticorps conjugués ont été dilués à l'enzyme phosphatase alcaline à raison de 1/1000 dans le tampon du conjugué juste avant l'utilisation, par la suite nous avons les déposer dans les plaques à raison de 1000 µl/puits qui vont être par la suite couverte avec un film plastique adhésif. Incubation pendant 5 heures à 30 °C. À la fin, (3) lavages ont été effectués avec du tampon de lavage.

e) Dépôt du substrat

Juste avant l'utilisation, nous avons dilué la para-nitrophénylphosphate (p-NPP) dans le tampon de substrat. La concentration finale est de 1 mg/ml. La solution obtenue a été déposée à raison de 1000 μ l/puits puis incubée à température ambiante. La lecture de l'absorbance a été effectuée à 405 nm.

f) Lecture des résultats

Après une heure d'incubation, plusieurs lectures ont été faites pour suivre l'évolution de la réaction enzymatique approximativement, plus une lecture par le lecteur ELISA qui montre les densités optiques (DO) de chaque échantillon. Les échantillons qui présentent

une DO supérieure à (3) fois la DO du témoin négatif sont considérés positifs (Malades) et ceux qui présentent des DO inférieures à (2) fois la DO du témoin négatif sont considérés négatifs (Sains).

Le taux d'infection (I) est exprimé par le pourcentage (%) des plants infectés (ni) par rapport au nombre total des plants testés (N). Pour calculer le taux d'infection nous avons utilisé la formule suivante : I % = $(\Sigma ni / N)$ * 100.

CHAPITRE 3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Région n°1 de Sétif

3.1.1. Notation en végétation

- l'absence de phytotoxicité du produit vazyl y soit en dose normale et/ou en dose double.
- L'absence des pucerons aptères sur les feuilles des micro-parcelles traitées par le vazyl par contre les pucerons aptères ainsi que des symptômes de mosaïque ont été présent sur le feuillage des miro-parcelles non traitées.

3.1.2. Discussion

La présence ou l'absence de la phytotoxicité développée sur les végétaux est conditionnée par le degré de raffinage de l'huile paraffinique. L'absence des pucerons aptères sur le feuillage peut être expliqué par la présence du vazyl Y sur la surface de la feuille. Ce dernier gêne vraisemblablement le puceron pour trouver de bonnes assises pour insérer ses stylets dans les cellules épidermiques ou empêche une exploration normale en polluant les organes sensoriels du puceron au niveau du labium, des antennes ou des tarses.

3.1.3 Dosage Immuno-Enzymatique du PVY

Les résultats de DAS-ELISA ont confirmé la présence de *PVY* pour toutes les micro-parcelles non traitées.

La comparaison des taux d'infections observées ont indiqué une différence significative (4 tableaux) entre le témoin non traité (95% à 80%), l'insecticide (25% à 4%) et l'huile (15% à 10% pour la dose normale et de 0 à 5% pour la dose double) (Fig 2.18). Il a été montré aussi que l'usage des huiles réduit l'infection dans les parcelles d'environ 85%.

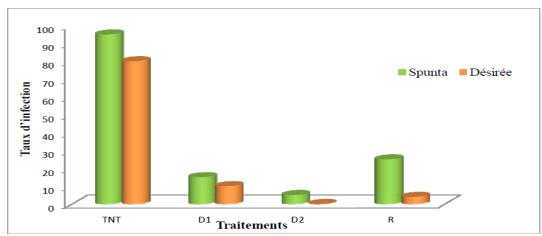


Figure 2.18 : Taux d'infection des différents traitements.

Tableau 3.8 : Calcul des moyennes du taux d'infection pour la variété Spunta.

Spunta	I	II	III	IV	Total	Moy
D1	40	0	0	20	60	15
D2	20	0	0	0	20	5
R	40	40	20	40	140	35
TNT	100	100	100	80	380	95
Total	200	140	120	140	600	
Moy	50	35	30	35		37,5

Tableau 3.9 : Analyse de la variance du taux d'infection pour la variété Spunta.

Origine de la variance	DDL	SCE	Variance	Calculé	Théorique
Blocs	3	275,00	91,67	0,48	4,76
Traitement	3	23775,00	7925,00	41,35	4,76
Residuelle	9	1725,00	191,67		
Total	15	25775,00	8208,33		
PPDS	22,14				

Le F calculé est supérieur à F théorique donc il y'a une différence significatif entre les traitements

Le PPDS (Plus Petit Différence Significatif) est supérieur à 10 donc il y'a une différence entre les traitements.

Tableau 3.10 : Calcule des Moyennes du taux d'infection pour la variété Désirée.

Désiré	I	II	III	IV	Total	Moy
D1	20	0	0	20	40	10
D2	20	0	0	0	20	5
R	20	20	20	40	100	25
TNT	80	80	80	80	320	80
TOTAL	140	100	100	140	480	
Moy	35	25	25	35		30

Tableau 3.11 : Analyse de la variance du taux d'infection pour la variété Désirée.

Origine de la variance	DDL	SCE	Variance	Calculé	Théorique
Blocs	3	100,00	33,33	0,33	4,76
Traitement	3	16500,00	5500,00	55,00	4,76
Residuelle	9	900,00	100,00		
Total	15	17500,00	5633,33		
PPDS	15,99				

Le F calculé est supérieur à F théorique donc il y'a une différence significatif entre les traitements.

Le PPDS (Plus Petit Différence Significatif) est supérieur à 10 donc il y'a une différence entre les traitements.

La comparaison des moyennes d'infections observées a indiquée non seulement une différence significative entre le témoin, l'insecticide et l'huile mais aussi, une différence entre les deux doses de l'huile minérale. Bien que possédant un effet significatif contre la dissémination du virus Y dans la parcelle.

3.1.4. Discussion

Le mode de transmission non persistant facilité énormément la dissémination du virus dans les cultures et rend la lutte difficile : acquisition et inoculation très rapides par des piqûres d'essai, pas de latence, peu de spécificité quant au vecteur

Le mécanisme impliqué dans le contrôle des processus de transmission des virus non persistants par les huiles n'est pas encore complètement connu. L'acquisition et l'inoculation semblent être affectées avec une action apparemment plus importante au niveau de l'acquisition (Simons *et* Zitter, 1980).

L'huile a peu d'effet au niveau du comportement alimentaire des pucerons car le nombre de piqûres d'essai sur des feuilles traitées aux huiles n'est pas différent de celui exécuté sur des feuilles non traitées en plus le temps séparant l'arrivée du puceron sur une feuille traitée et la piqûre est néanmoins allongé. Mais l'effet le plus important de l'huile pourrait se situer au niveau de l'accrochage des particules virales sur les parois des stylets (Rolot, 2005).

3.2. Région n°2 El Bayadh

3.2.1. Analyse symptomatologique

Au cours de la période d'étude, un suivi de la culture avait permis d'observer plusieurs symptômes sur les plants (feuilles et tubercules) et qui correspondaient à ceux provoqués par le *PVY*.

3.2.1.1. Symptômes sur le feuillage

Sur le feuillage, les symptômes étaient la déformation du feuillage (Fig 3.19 _{a, b}), des nécroses foliaires (Fig 3.19 _{c, d}), une mosaïque légère (Fig 3.19 _e), le flétrissement et la mort de certains plants (Fig 3.19 _f).



Figure 3.19: Différents symptômes observés sur les feuilles de pomme de terre (observé à l'œil nu) (Boukaya, 2016).

3.2.1.2. Symptômes sur les tubercules

Quant aux tubercules, il a été observé également des symptômes dû à l'attaque des insectes (Fig. 3.20 a, b, c), de bactéries (Fig. 3.20 d), des nécroses annulaires superficielles (Fig. 3.20 e, f), également des blessures mécaniques (Fig. 3.20. g), le verdissement de tubercules (Fig. 3.20 a, b, c), et des symptômes internes (Fig. 3.20 h), correspondant aux taches violacées.

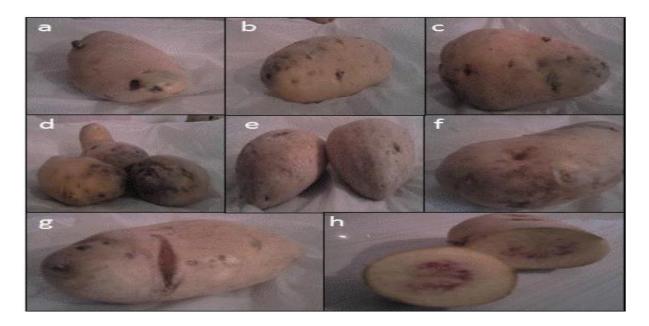


Figure 3.20 : Différents symptômes observés sur les tubercules de pomme de terre (observé à l'œil nu) (Boukaya, 2016).

3.2.1.3. Discussion

Dans le cas étudier, la variété utilisée "Spunta" étaient sensible au *PVY*. Les températures enregistrées durant la période d'étude (du mois d'Aout jusqu'au mois d'Octobre) étaient comprises entre 16,8 et 26,4°C (Appendice A), ce qui avait permis l'expression des symptômes du *PVY*. Selon Staubli (2004), ils peuvent s'extérioriser entre 10 et 26°C.

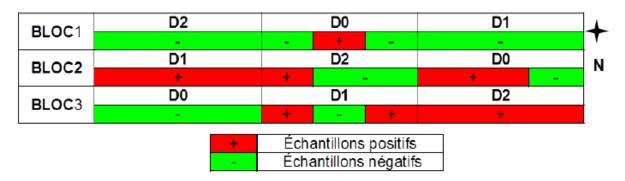
3.2.2. Analyse immuno-enzymatique DAS-ELISA

Dès le dépôt du substrat de l'enzyme, les échantillons testés correspondant à ceux traités par la D2 avaient réagi par l'apparition de la couleur jaune (Appendice B).

3.2.3. Résultats de la lecture des densités optiques

Les plaques de microtitration ont été mises dans un lecteur ELISA afin d'obtenir les densités optiques (DO)s (Appendice B) de l'ensemble des échantillons testés, qui permettent la localisation des plants infectés dans chaque bloc et pour chaque dose appliquée (D1, D2) (Tab. 3.12).

Tableau 3.12 : Localisation des plants infectés dans la parcelle.



3.2.4. Résultats de l'estimation du taux d'infection des plants par le PVY

L'estimation du taux d'infection des plants de pomme de terre, dans chaque microparcelle (Figure 3.21), avait permis d'enregistrer un taux d'infection de (44%) des plants témoins non traités (D0), tandis que le taux d'infection des plants traités par la (D1) est de (88 %), alors que le taux d'infection est de (77 %) lorsque la dose est maximale (D2). Les résultats obtenus dans cette étude ont montrés que le taux d'infection des tubercules issus des plants de pomme de terre traités par (D2 et D1) a diminué par rapport aux plants témoins non traités (D0) (Fig. 3.21). Cependant les résultats montrent que tous les échantillons traités étaient négatifs, le taux d'infection est de (0 %) par contre pour les témoins le taux d'infection avait atteint (100 %), où nous avons remarqué que tous les échantillons sont positifs.

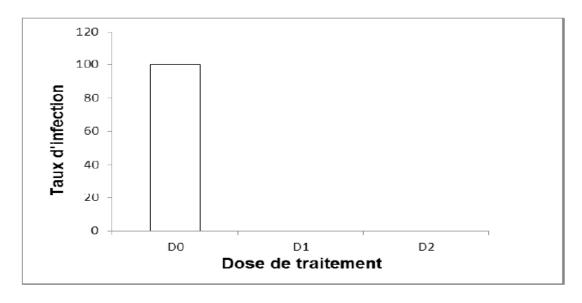


Figure 3.21: Taux d'infection des tubercules en fonction de la dose du biofertilisant.

3.2.5. Discussion

Le test immuno-enzymatique avaient révélés que le taux d'infection des échantillons testés est plus élevé chez les plants traités avec la (D1) suivi par ceux traités avec la (D2), alors que les plants témoins avaient montrés le taux d'infection le plus faible. Cela peut être attribué à la disposition des sous-blocs, les plants témoins (D0) étaient localisés à la périphérie en absence de végétation. Alors que les plants traités avec la (D2 et D1) étaient entourés par des solanacées (Tomates et Pomme de terre) et par les arbres fruitiers tels que le pêcher. Ce dernier est considéré comme hôte primaire de *M. persicae*. Sachant que ces cultures ne pas étaient traitées par les insecticides.

Chez les tubercules récoltés et cultivés pour le test de pré-culture, les résultats de la DAS-ELISA avaient confirmé la présence du *PVY* dans les micro-parcelles témoins. Cependant il a été remarqué que l'application du jus de vermicompost avait permis de réduire le taux d'infection des plants traités avec respectivement (D1 et D2), dont

l'analyse par la DAS-ELISA avait montré que les échantillons issus des plants témoins (D0) étaient tous positifs, alors que les échantillons issus des plants traités avaient répondu négativement.

En se référant aux résultats précédents qui avait montré l'effet positif du jus de vermicompost sur le nombre de pucerons, il a été supposé que la diminution du taux d'infection des plants peut être attribuée à la réduction de la densité des vecteurs et par conséquent sur la transmission non-persistante du *PVY* d'un plant à un autre dans la même parcelle et que l'infection des plants a pour origine la semence de pomme de terre plantée au départ, appartenant à la classe E (Élite) (Anonyme b, 2016)

Conclusion générale et perspectives

Le PVY est le représentant non seulement le plus répandu, mais potentiellement un des plus dommageables pour la production de pommes de terre. Pour la région de Guellal (Sétif) les résultats sérologiques sur les tubercules récoltés avait permis de constater que l'usage de l'huile minérale peut réduire l'infection dans les parcelles d'environ 85% si on la compare à celle constatée dans des parcelles sans protection. Cette étude a démontré que la protection des semences de pomme de terre par l'utilisation des huiles minérales parafiniques, peut être considérer comme un élément positif dans le processus de production.

Pour la région de Boualem (El Bayadh) les résultats sérologiques obtenus ont permis de constater que l'usage du jus de vermicompost peut réduire la densité des populations de pucerons vecteurs de virus ; diminuer le taux d'infection des tubercules de pomme de terre et aussi améliorer le rendement. Il a été conclue que la richesse du jus de vermicompost en éléments fertilisants avait permis une bonne nutrition minérale des plants par la voie foliaire. Le recours aux biostimulants et aux biofertilisants naturels constitue une voie qui pourrait remplacer la lutte chimique contre les ennemis des cultures. Dans cette stratégie se trouvent les stimulateurs des défenses naturelles des plantes, une solution qui peut être intéressante dans l'avenir sur les plans scientifiques et agronomiques (Kaufmannet *et al.*, 2001).

Dire que la production de pomme de terre serait pratiquement impossible sans l'application de mesures de protection Il s'agit de l'emploi intensif des produits de protection, comme les insecticide les produits naturels comme l'huile minéral et le jus de vermicompost. Ce comportement est en outre, souvent exacerbé parce que des règles essentielles comme l'isolement des cultures, la qualité sanitaire parfaite des lots de plants entrant dans le processus de multiplication ne sont pas toujours respectée. Si l'on ajoute, à ce constat, l'utilisation fréquente de variétés sensibles au virus Y, on peut conclure qu'il existe encore, dans ce domaine, une marge de manœuvre significative pour améliorer le système de production.

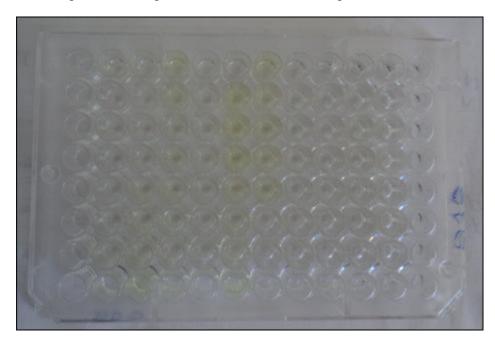
Appendice ADonnées climatiques (2014) de la région d'El-Bayadh

	P(mm)	m (°C)	M (°C)	Moy (°C)	V (m/s)	Insolation (h/jrs)	Gelée (jrs)
Jan.	27	1,4	10,9	6,15	2,9	136	11
Fév.	30	2,1	12,3	7,2	3,7	177	7
Mars	34	3	13,5	8,25	3,8	220	8
Avr.	8	1,9	22	12	2,8	199	0
Mai	36	12,8	26,9	19,85	2,9	328	0
Jn.	11	15,5	28,9	22,2	3,4	327	0
Jt.	5	20,2	35,2	27,7	2,7	320	0
At.	15	20,7	34,9	27,8	2,6	298	0
Sep.	15	17,3	29,5	23,4	3,4	221	0
Oct.	6	12	24	18	2,7	252	0
Nov.	85	7,1	15,1	11	4,2	122	0
Déc.	43	0,8	8,4	4,6	2,4	125	12
Cumul	315	-	-	-	-	-	-
Moy	-	9,567	21,8	15,68	3,125	-	-

Données climatiques (2015) de la région d'El-Bayadh (- données manquantes)

	P(mm)	m (°C)	M (°C)	Moy (°C)	V (m/s)	Insolation (jrs)	Gelée (jrs)
Jan.	25	-0,5	9,8	4,65	2,7	164	19
Fév.	26	0	8,2	4,1	3,7	138	11
Mars	14	2,7	15,5	9,1	2,1	276	13
Avr.	1	10,5	23,6	17,1	-	279	0
Mai	25	13,5	27,7	20,6	-	273	0
Jn.	6	14,9	29,1	22	-	317	0
Jt.	2	20,5	34,9	27,7	-	348	0
At.	41	19,9	32,9	26,4	-	246	0
Sep.	38	15,7	28,5	22,1	-	257	0
Oct.	51	11,6	21,9	16,8	-	253	0
Nov.	9	3,4	16	9,7	-	248	15
Déc.	0,3	1,4	14,6	8	2	243	19
Cumul	238,3	-	-	-	-	-	-
Moy	-				-	-	-

Appendice BPlaques ELISA après 5mn d'incubation à température ambiante



Plaques ELISA après 1h d'incubation à température ambiante



Résultats de l'analyse immuno-enzymatique

Traitement		nge immuno- zymatique	Traitement	Dosage immuno- enzymatique		
Trantement	DO	Observation		DO	Observation	
	-0.018	-	+	0.834	+1	
	-0.016		=	0.850	+1	
	-0.033		+	0.889	+1	
	-0.029		=	0.834	+1	
	0.031	-	-	0.738	+1	
	-0.013	-	-	0.801	+1	
	0.456	+1	-	0.918	+1	
	0.414	+1	†	1.055	+1	
	0.201	+1	1	0.897	+1	
	0.166	+1	1	0.894	+1	
D_0	0.080	-	-	0.975	+1	
	0.075	-	1	0.937	+1	
	0.088	-	†	-0.014	-	
	0.050	-	1	0.005	-	
	0.351	+1	1	0.033	-	
	0.360	+1	1	0.068	_	
	0.020	-	1	0.030	_	
	-0.026	-	1	0.031	_	
	0.029	-	1	-0.008	_	
	0.083	-	D_2	-0.020	_	
	0.138	+1	1	-0.046	_	
	0.197	+1	-	-0.017	_	
	0.298	+1	-	-0.019	_	
	-0.005	-		0.007	-	
	-0.011	-		-0.024	-	
	-0.013	-		-0.022	-	
	0.646	+1		-0.014	-	
	0.474	+1		-	Négatif	
	0.541	+1		+1	Positif	
D_1	0.634	+1				
	0.892	+1				
	0.763	+1				
	0.524	+1	7			
	0.659	+1	7			
	0.652	+1	7			
	0.184	+1				
	0.470	+1				
	0.527	+1				
	0.047	-				
	0.010	-				
	0.016	-				
	0.086	-				
	0.092	-				
	0.044	-				
	0.003	-				
	0.025	-				
	0.023	-				

CHAPITRE 4 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Références bibliographiques

- 1. **Abdelouaheb, H.B. (2009)**. "Enquête sur la situation de la filière viande rouge à El-Bayadh", Mém. Mag., Univ. Mentouri de Constantine, 59 p.
- 2. **Agrios, G. N.** (1997). "Plant pathology". 4th Ed., Aca. Press Inc., San Diego California, 635p.
- 3. Ahmed, R.Z.; Ibrahim, I.A.M.; Hassan, H.M.S. and El-Wakil, D.A. (2013). «Incidence of virus Y Strains and Effect of Infection on the Productivity of Potato Tubers». J. Agricul. Vet. Sci., 2 (4), 58-64.
- 4. **Alyokhin, A., Sewell, G., and Groden, E**. (2002). "Aphid abundance and potato virus *Y* transmission in imidacloprid-treated potatoes", Am. J. Potato Res., 79, 255–262.
- 5. **Anonyme**, (1990). "Principales maladies, insectes et nématodes de la pomme de terre", Lima, Pérou, 95 p.
- 6. Anonyme, (1998). Maladies de la pomme de terre. Edition I.T.C.F. Paris. p48
- 7. **Anonyme**, (1998). Maladies de la pomme de terre. Edition. I.T.C.F. Paris. 48p.
- 8. **Anonyme, (2005)**. (Institut Technique des Cultures et Industrielles) *la production* de la pomme de terre en Algérie. Agriculture et développement. Ed. INVA, Alger, p. 8-10.
- 9. Anonyme, (2008). Annuaire statistique de la FAO.
- 10. **Anonyme, (2010).** "Fiche technique valorisée des cultures maraîchères et Industrielles, la culture de pomme de terre",10 p.
 - 11. **Anonyme**, (2012a). "la production de pomme de terre devrait atteindre 4 million de tonnes en 2012. Radio Algérienne 119 326, Rédaction Radionet-Lundi, 25 Juin 2012 09 :56. File:///C:/Users/13/Desktop/pomme6.htm
- 12. **Anonyme, (2013).** "Profil de la culture de la pomme de terre au Canada, 2011", Agricul. Agroalim. Canada, 83 p.
- 13. **Anonyme, (2013).** -http://www.cde.int/documents/Production Pomme de terre PDF: 72Pp.
- 14. **Anonyme**, (2014). "Plants de pomme de terre, Guide de la CEE-ONU sur les maladies, parasites et défauts des plants de pomme de terre" 108p.
- 15. **Anonyme, (2016 b).** http://plantdepommedeterre.org/index/normesfrancaises-et-europeennes
- 16. **Anses, (2011).** Agence Nationale de sécurité sanitaire d'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la demande d'extension mineur de la préparation phytopharmaceutique VAZYL-Y.
- 17. **Baldauf, Ph.M**. (2008). "Studies on the epidemiology of potato viruses in the northeastern USA and the biology of potato virus *Y*". Phd. Th., Cornell Univ., 172 p.
- 18. **Baldauf, Ph.M**. (2008). "Studies on the epidemiology of potato viruses in the northeastern USA and the biology of potato virus *Y*". Phd. Th., Cornell Univ., 172 p.
- 19. **Bamouh, A.** (1999). "Techniques de production de la pomme de terre au Maroc", I.A.V. Hassan II, C.N.T.T.A, 4 p.

- 20. **Basky, Z. and Almási, A.** (2005). "Differences in aphid transmissibility and translocation between PVY^N and $PVY^{O''}$, J. Pest. Sci. 7867–75.
- 21. **Beczner, L.; Horvath, H.; Romhanyi, L. and Forster, H. (1984)**. "Studies on the Etiology of tuber ring spot disease in potato", Potato Res., 27(3), 339-352.
- 22. **Blackman, R.L. &Eastop, V.F.** (2000). -Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide. 2ième ed. Wiley, Chichester: 476Pp.
- 23. **Blackman, R.L. &Eastop, V.F.** (2007). -Taxonomics Issues. Invan Emden H.F. & Harrington R. (ed.), Aphids as Crop PestsCAB International, Cambridge, Massachusetts: 1-3.
- 24. **Blackman, R.L. and V.F.Eastop.** (1984). Aphids on the world's crops: an identification guide. JohnWiley& Sons Limited. New York: 704 Pp.
- 25. **Blanc, S. and Jacquot, E. (2007)**. "How aphids transmit virus diseases to plants", Biofutur **Brault, V.**, (279), 40-48.
- 26. **Bokx J, Hunttinga H**. (**2004**). *Potato virus Y. AAB/CMI Descriptions of plant viruses*. 1981p. 242. from potatoes grown in the United States. *Phytopathology*; 94: 1368-75.
- 27. **-Bokx J, Kratchanova B, Maat D. (1975).** Some properties of a deviating strain of potato virus Y. *Potato Res*; 18: 38-51.
- 28. **Boufares K., (2012).** Comportement de trois variétés de pommes de terre (Spunta, Désirée et Chubak) entre deux milieux de culture substrat et hydroponique, Thèse Magistère en Agronomie « Amélioration de la production végétale et biodiversité », Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. P3, P5-6, P8, P10, P12.
- 29. **Boukaya N.** (2016). "essai d'efficacite d'un biofertilisant dans la lutte contre la dissemination du virus y de la pomme de terre". Mem. Mag. Univ. Saad Dahleb Blida;188p.
- 30. **Bruyer J., (2008).** Les maladies de la pomme de terre. Ed. Fredon Nord Pas-de Calais, 67p.
- 31. **Carrington J.C., Dougherty W.G.** (1987) Small nuclear inclusion protein encoded by a plant potyvirus genome is a protease. *J. Virol.*; 61: 25-40
- 32. **Christelle, L. (2007)** ."Dynamique d'un système hôte-parasitoïde en environnement
- 33. **Chung BYW, Miller W.A., Atkins J.F.** (2008). An overlapping essential gene in the Potyviridae. *Proc. Natl. Acad. Sci.*; 105: 58-97.
- 34. **Dixon, A.F.G.** (1998) "Aphid ecology, an optimization approach", 2nd Ed., Chapman and Hall, London, 300 p.Ed. Tech, Doc. Lavoisier, Paris, (25): 575 p.
- 35. **El-Zerry, W.**; **Bouiadjra, S.E.B.**; **Benslimane, M. et Mederbal, Kh.** (2009) "L'écosystème steppique face à la désertification : cas de la région d'El Bayadh, Algérie". Rev. Sci. Environ., 9 (2), 1-12
- 36. **Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J,** *ET al.* (2004). Virus taxonomy: VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.
- 37. **Fauquet, C.M.; Mayo, M.A.** *et al.* (2005). "Virus Taxonomy, Eighth Report of the I.C.T.V.", Elsv. Aca. Press, San Diego, CA, USA, 118 p.
- 38. **Gauthier, J. (1991).** De la logique interne, Paris, Librairie philosophique **J**. Vrin, collection Mathesis : 140 Pp.

- 39. **Girousse, Ch.**; **Moulia, B.**; **Silk, W. and Bonnemain, J.L.** (2005) ."Aphid infestation causes different changes in carbon and nitrogen allocation in Alfalfa stems as well as different inhibitions of longitudinal and radial expansion", Plant Physiol., 137, 1474-1484.
- 40. **Girousse, Ch.**; **Moulia, B.**; **Silk, W.** and **Bonnemain, J.L.** (2005). "Aphid infestation causes different changes in carbon and nitrogen allocation in Alfalfa stems as well as different inhibitions of longitudinal and radial expansion", Plant Physiol., 137, 1474-1484.
- 41. **Hammi, A**. (2003). "Caractérisation de populations de *Phytophthora infestans* (*mont.*) *De Barry* dans la région de Saïs", Th. Doc. Univ. Sidi Mohammed Ibn Abdallah, Fès, 272 p.
- 42. http://www.faostat3.fao.org/home/E.
- 43. **Hullé M.**; **Ighil, E.T.A.**; **Robert Y. et Monnet, Y. (1999).** "Les pucerons des plantes maraichères : Cycles biologiques et activités de vol", Quae, Paris, 134 p.
- 44. Islam, A. K. M. S.; Akanda, A. M. Wazed, M. A.; Chewdhery, M. R. A. and Rahman, M. J. (2014). «Performance of fifth generation seed potato against *Potato virus Y* (PVY) », Scholar. J. Agric. Sci., 4(2), 74-81.
- 45. **Kauffmann, S.**; **Dorey, S.** et Fritig, B. (2001). "Les stratégies de défense", Pour la Science, 116-121.
- 46. **Kerlan, C.et Moury, B. (2008).** -Potato Viruses. Ency. Virol. (Third Edition) 37: 296 -309.
- 47. **Khattou, A et Kouar, B. (2014).** "Méthodes d'extraction de la roche en carrière à ciel ouvert. Exemple Entreprises de granulats, la STARR (Sidi Abdelli, Tlemcen) et l'ENCOTREB (PK70, El Bayadh)", Mémoire d'ingéniorat, Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, 67p.
- 48. **Kleinkopf G.E., (1983).** Potato in crop-Water relation. TEARE ID: 287-305.
- 49. **Kosako, Y.; Oyaizu, H.** *et al.* (**1992**). "Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni & Holmes 1981) comb. nov.", Microbiol. Immuno., 36, , 1251-1275.
- 50. Lambert, D. H. and Loria, R. (1989). "Streptomyces acidiscubres sp." J. Sys. Bac., 3, 393 396
- 51. **Larousse agricole**, (2002). Larousse Agricole. Ed. Larousse, Paris, P498-501.
- 52. **Laumonnier, R. (1979).** Cultures légumières et maraichères. Tome 3. Haut feuille, Paris : 274p.
- 53. **Mani, F.**; **Mhamdi, M.**; **Bettaieb, T.**; **Hannachi, C.** (2012). "Effet du saccharose sur la tubérisation in vitro de la pomme de terre (Solanum tuberosum L.)", Nat. & Tech., (7), 38-43.
- 54. **Marchoux, G.**; **Gognalons, P. et Sélassié, K.G.** (2008). "Virus des Solanacées: Du génome viral à la protection des cultures", Quae, Paris, France, 843p.
- 55. **Meziane, D.** (1991). -Histoire de la pomme de terre .Detitique Notions d'agriculture; le sol, les cultures, les élevages, l'économie et la gestion.

- 56. **Mih, M. And Atiri, G.I.** "Overview of Irish potato viruses and virus diseases", Plant Virol. Sub-Sah. Afri. (2004), 334-341.
- 57. **Nedjimi, B.**; **Homida, M.** (2006). "Problématique des zones steppiques Algériennes et perspectives d'avenir", Rev. Sci., (5), 13-19.
- 58. **Negadi, M.**; **Hassani, A.**; **Bounacuer, F. et Azzaoui, M-E.** (2014). "Étude de la diversité floristique de la région d'El Bayadh (Algérie) «flore rare et menacée»", Rev. Écol.Envir. 10, 50-55.
- 59. **Nouad M.A., (2009).-**Problématique sur la pomme de terre. Rev. FILAHA INNOVE, 03, 5-6.
- 60. Nouri-Ellouz, O.; Gargouri-Bouzidb, R.; Sihachakrc, D.; Trikid, M.A.; Ducreuxe, G.; Driraf, N. and Lakhouag. L., (2006). "Production of potato intraspecific somatic hybrids with improved tolerance to PVY and *Pythium aphanidermatum*", J. Plant Physiol., 1631321-1332.
- 61. **Nyabyenda, P.** "Les plantes cultivées en région tropicales d'altitude d'Afrique", Lavoisier, (2005), 223p.
- 62. **Oswaldo, T**. (2011). "Hommage à la pomme de terre", Genève, 11 p.
- 63. **Pegadaraju, V., Knepper, C., Reese, J. and Shah, J. (2005).** "Premature leaf senescence modulated by the Arabidopsis PHYTOALEXIN DEFICIENT4 gene is associated with defense against the phloem-feeding peach aphid", Plant Physiol., 139, , 1927-1934.
- 64. **Pépin, G**. (**2004**). «Résistance au virus *Y* de la pomme de terre (*PVY*) chez des lignées transgéniques de pomme de terre exprimant un inhibiteur de protéases de type cystéine», Mém. Maitre-ès Sci., Univ. Laval, Québec, 93 p.
- 65. **Piffaretti, J. (2012).** "Différenciation génétique et écologique des populations du puceron *Brachycaudus helichrysi* (Hemiptera : *Aphididae*) : mise en évidence de deux espèces sœurs aux cycles de vie contrastés", Th. Doc., Montpellier, SupAgro, , 260 p.
- 66. **Prévost, P.** (1999)."Les bases de l'agriculture", Paris, Tech. & Doc243p.
- 67. **RaKtonindraina T.F.** (2012). -Analyse et modélisation des effets des pratiques culturales sur les épidémies de mildiou de la pomme de terre. Adaptation du modèle SIPPOM (Simulator for Integrated Pathogen Population Management) au pathosystème. Th. Doc. Agrosystem, Ecosystèmes et Environnement, Univ. Toulouse, 160 P.
- 68. **Regagba, Z. (2012).** "Dynamique des populations végétales halophytes dans la région Sud-est de Tlemcen, Aspects phytoécologiques et cartographiques", Th. Doc. Univ. Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, 169 p.
- 69. **Rolland, M.; Lacroix, C.; Blanchard, A.** *et al.* **(2008).** "Le virus *Y* de la pomme de terre (*PVY*): de la première description aux derniers épisodes d'émergence", Virologie, 12 (4), 261-273.
- 70. **Rousselle, P.Robert, Y. Crosnier, J. C.** (1996). -La pomme de terre Production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. 1^{ère} éd. Paris : INRA Editions : 278Pp.

- 71. **Scholthof, K.B.G.; Adkins, S.; Czosnek, H.** *et al.* (2011). "Top 10 plant viruses in molecular plant pathology", Mol. Plant Pathol., 12, 938-954.
- 72. **Shands, W-A.**; **Simpson, G-W. and Wave, H-E.** (1972). "Seasonal population trends and productiveness of the Potato aphid on swamp rose in North-eastern Main", Life Sci. Agricul. Exp. Stat. Tech. Bul., 52, 35 p.
- 73. **Shukla DD, Ward CW, Brunt AA**., (**1994**) *The Potyviridae*. Wallingford UK: CAB International.
- 74. **Soltner, (1979).** Les grandes productions végétales phytotechnie spéciale. $10^{\text{émé}}$. Edi. 427 p.
- 75. **Soltner, D.** (1990). Les grandes productions végétales; céréales, plantes sarclées, prairies. Ed. Saint. Gémmes–sur- Loire, Sciences et techniques agricoles : 464Pp.
- 76. spatialement hétérogène et lutte biologique Application au puceron Aphis gossypii et au parasitoïde *Lysiphlebus testaceipes* en serre de melons", Th. Doc. I.S.I.V.E. Agro Paris Tech, 311 p.
- 77. **Staubli, A.** (2004). -Sensibilité des variétés de pomme de terre au virus Y Nécrogènes, fait marquant à la RAS changins :13p.
- 78. **Urcuqui-Inchima S, Haenni AL, Bernardi F. (2001).** Potyvirus proteins: a wealth of functions. *Virus Res*; 74: 157-75.
- 79. **Valkonen, J-P-T. (2007).** "Viruses: Economical Losses and Biotechnological Potential", In: Vreugdenhil J, eds. Potato Biology and Biotechnology. Elsv., New York619-641.
- 80. **Varma A, Gibbs AJ, Woods RD, Finch JT. (1968).** Some Observations on the Structure of the Filamentous Particles of Several PlantViruses. *JGen Virol*; 2: 107-14.
- 81. **Verchot J, Herndon KL, Carrington JC**. **(1992)** Mutational analysis of the tobacco Etch potyviral 35-Kda proteinase-identification of essential residues and requirements for autoproteolysis. *Virology*; 190: 298-306.

ANNEXE 01 : Résultats des analyses sérologiques de la variété Spunta

			l	PVY	Variété	Bloc	Traitement	échantillon	DAS ELISA PVY
			1	+				41	+
			2	+			Témoin	42	+
		Témoin	3	+				43	+
			4	+				44	+
			5	+				45	+
1			6	+				46	-
			7	+				47	-
		Dose normale	8	-			Dose normale	48	-
			9	-				49	-
			10	-				50	-
4	A		11	-		С		51	-
			12	-				52	-
		Dose double	13	+			Dose double	53	-
			14	-				54	-
			15	-				55	-
			16	+				56	-
			17	+				57	-
		Référence	18	-			Référence	58	-
			19	-				59	-
_			20	-	Spunta			60	+
Spunta –			21	+			Témoin	61	+
			22	+				62	+
		Témoin	23	+				63	+
			24	+				64	+
			25	+				65	-
			26	-				66	-
			27	-				67	-
		Dose normale	28	-			Dose normale	68	+
			29	-				69	-
			30	-	_			70	-
]	В		31	-		D		71	-
			32	-				72	-
		Dose double	33	-			Dose double	73	-
			34	-				74	-
			35	-	1			75	-
			36	-				76	-
			37	-	1			77	-
		Référence	38	-			Référence	78	_
			39	+				79	+
			40	+				80	+

Légende + : Présence du virus Y

-: Absence du virus Y

ANNEXE 02 : Résultats des analyses sérologiques de la variété Désirée

Variété	Bloc	Traitement	N° échantillon	Résultat DAS ELISA PVY	Variété	Bloc	Traitement	N° échantillon	Résultat DAS ELISA PVY
			1	+				41	+
			2	+			Témoin	42	-
		Témoin	3	+				43	+
			4	-				44	+
			5	+				45	+
			6	+				46	-
			7	-				47	-
		Dose normale	8	-			Dose normale	48	-
			9	-				49	-
			10	-				50	-
	A		11	-		С		51	-
			12	-				52	-
		Dose double	13	-	1		Dose double	53	-
			14	+	1			54	-
			15	-				55	-
			16	-			Référence	56	+
			17	-				57	-
		Référence	18	+				58	-
			19	-				59	-
			20	-				60	-
Désirée		Témoin	21	+	- Désirée		Témoin	61	+
			22	+	1			62	-
			23	+	1			63	+
			24	+	1			64	+
			25	-	_			65	+
			26	-	_			66	-
			27	-				67	-
		Dose normale	28	-			Dose normale	68	+
			29	-	_			69	-
			30	-	-			70	-
	В		31	-	-	D		71	-
			32	-	-			72	-
		Dose double	33	-	-		Dose double	73	-
		_ 000 00000	34	-	-		_ 550 454510	74	-
			35	-	1			75	-
			36	+	-			76	+
			37	-	-			77	+
		Référence	38	- -	-		Référence	78	T
		Reference	39	- -	-		Référence	79	- -
			40	- -	-			80	_
	<u> </u>	 résence du viru			Absence d	<u> </u>		00	1 -

Légende + : Présence du virus Y

- : Absence du virus