

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention
du diplôme de MASTER II en sciences de la nature et de la vie
Spécialité : Biologie des interactions plantes – microorganismes

LA DETECTION SEROLOGIQUE ET BIOLOGIQUE DU VIRUS PPV
(SHARKA)

Présenté par :

M^{elle} Smaili Rahma et M^{elle} Medjouz Kheira

Devant le jury composé de :

Mme Krimi Z.	Professeur	USDB1	Présidente
Mme Belkahla H.	Professeur	USDB1	Promotrice
M. Idir I.	Magister	USDB1	Examineur
Mme Sabri K.	MAA	USDB1	Invitée

Année Universitaire 2016-2017

Remerciements

Tout d'abord, nous rendons grâce à Dieu, Le Tout Puissant, Le Clément et le Miséricordieux qui nous 'a aidé à terminer ce mémoire de Master.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de virologie de département biotechnologie.

Nous tenons à remercier spécialement notre promotrice de mémoire madame Benkahla pour le temps et la patience qu'elle nous a accordé durant cette durée. Nous garderons dans notre cœur sa générosité, sa compréhension et son efficacité. Pour tout ce qu'elle nous a appris, nous la remercions très sincèrement.

Nous tenons à témoigner notre reconnaissance au Mme Krimi pour avoir accepté de présider le jury de soutenance.

Nous tenons à remercier également Monsieur Idir pour ses conseils, son aide spontané et amicale. Et aussi pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous adressons un remerciement particulier à Madame Salhi qui nous a fait l'honneur d'accepter sans hésitation d'examiner ce travail.

Nos remerciements et reconnaissances vont à Walid ingénieur du laboratoire virologie qui nous a aidé dès notre arrivée au laboratoire, sa femme aussi et à Mme Djamila pour son aide spontanée et amicale.

Nous remercions chaleureusement Mme Yamina qui nous a aidés pour l'identification des pucerons dans laboratoire de zoologie et son mari également.

Nous remercions chaleureusement nos collègues de l'étude : Amina, Nesrine, Mohamed et Hamza.

Dédicaces

En reconnaissance à ceux qui m'ont appuyée et encouragée à réaliser mon mémoire de Master :

- *À mon très cher père pour son soutien moral et pour tous les sentiments d'affection et d'amour qui représentent pour moi le pilier de tous mes efforts,*
- *A la mémoire de ma mère, Puisse Dieu l'accueillir dans son infinie Miséricorde,*
- *A tous mes frères et sœurs,*
- *À tous les membres de ma famille sans aucune exception,*
- *A tous ceux et celles qui me sont chers,*

Je dédie ce travail.

Dédicaces

En reconnaissance à ceux qui m'ont appuyée et encouragée à réaliser mon mémoire de Master :

- *À mes chers parents pour son soutien moral et pour tous les sentiments d'affection et d'amour qui représentent pour moi le pilier de tous mes efforts,*
- *À tous mes frères Abderazzak et Abdelhalim. A mes sœurs Amina, Soumia et Kenza.*
- *À tous les membres de ma famille sans aucune exception,*
- *À tous ceux et celles qui me sont chers,*

Je dédie ce travail.

Liste des abréviations

1. Virus

ACLSV: Apple chlorotic leaf spot virus: Virus des taches chlorotiques du pommier.

PDV: Prune dwarf virus : Virus du nanisme du prunier.

PPV: Plum pox virus : Virus de la Sharka.

PNRSV: Prunus necrotic ring spot virus : Virus des taches annulaires nécrotiques des prunus.

2. Divers

P1-Pro: Clivage de polyprotéine (protéinase de type sérine).

Hc-Pro: Clivage de polyprotéine (protéinase de type sérine).

P3: Réplication

Nib: Réplication de l'ARN viral.

CI: Réplication (hélicase, liaison à l'ARN).

Nla-Pro: Clivage de polyprotéine (protéinase de type cystéine).

PPV-Rec: recombinant

PPV-W: Winona

PPV-C: Cherry

PPV-EA: El-Ammar

PPV-D: Dideron

Liste des figures

	Page
Figure 1: Distribution géographique de la maladie de la <i>sharka</i>	7
Figure 2 : Symptômes du <i>PPV</i> sur feuilles et fruits d'abricotier	9
Figure 3 : Anneaux marron clair à jaune présent dès le durcissement du noyau de l'abricotier	10
Figure 4 : Altération de la chaire	10
Figure 5 : Symptômes du <i>PPV</i> sur fleurs et feuilles du pêcher	12
Figure 6 : Symptômes du <i>PPV</i> sur fruits et rameaux du pêcher	12
Figure 7 : Symptômes du <i>PPV</i> sur feuilles et fruits de nectarine	14
Figure 8 : Symptômes du <i>PPV</i> sur les feuilles du prunier	15
Figure 9: Symptômes du <i>PPV</i> sur fruits de prunier	16
Figure 10 : Coloration rouge brunâtre de la chaire du prunier	16
Figure 11: Virion du <i>Plum pox virus</i> observé au microscope électronique (19 000 ×)	17
Figure 12: Représentation schématique du génome du <i>Plum pox virus</i> . Le nom des différentes protéines codées par le virus sont indiquées sur le schéma	18
Figure 13 : Transmission du virus de la Sharka par puceron.....	19
Figure 14 : <i>Puceron vert du pêcher (Myzus persicae)</i>	21
Figure 15 : <i>Puceron vert du prunier (Brachycaudus helichrysi)</i>	22
Figure 16 : <i>Puceron noir du pêcher (Brachycaudus persicae)</i>	23
Figure 17: <i>Puceron brun du pêcher (Brachycaudus schwartzi)</i>	24
Figure 18 : <i>Puceron farineux du prunier (Hyalopterus pruni)</i>	25

Figure 19 : <i>Puceron noir du cerisier (Myzus cerasi)</i>	26
Figure 20 : <i>Puceron vert des citrus (Aphis spiraecola)</i>	27
Figure 21 : Verger échantillonné de l'exploitation de la station expérimentale du département de biotechnologie végétale, université Blida 1	28
Figure 22 : Parcelles échantillonnées de l'exploitation de Guerrouaou -1-	29
Figure 23 : Parcelles échantillonnées de l'exploitation de Guerrouaou -2-	30
Figure 24 : Parcelle échantillonnée de l'exploitation de Soumaa	30
Figure 25 : Parcelle échantillonnée de l'exploitation de Meftah	31
Figure 26 : Parcelle échantillonnée de l'exploitation de Ben chicao	32
Figure 27 : Parcelle échantillonnée de l'exploitation de Mouzaia	33
Figure 28 : Schéma représentatif du protocole de collecte des pucerons (La diagonale).....	34
Figure 29 : Méthode de Bos	35
Figure 30 : Méthode de conservation des échantillons	37
Figure 31 : Etapes du test de montage	38
Figure 32 : Etapes de préparation des plantes indicatrices	39
Figure 33 : Etapes de la transmission non persistante	40
Figure 34 : Kit complet de DAS-ELISA de BIOREBA	41
Figure 35 : Broyage des feuilles à l'aide d'un broyeur	42
Figure 36 : Sacs de broyage	43
Figure 37 : Fixation des anticorps polyclonaux	43
Figure 38 : Lavage de la plaque	44
Figure 39 : Dépôt de l'extrait des feuilles « antigène »	45
Figure 40 : Dépôt de l'anticorps conjugués à l'enzyme	45

Figure 41 : Addition du substrat de l'enzyme	46
Figure 42 : Lecteur ELISA utilisé	47
Figure 43 : Symptômes du <i>Sharka</i> observés sur abricotier	49
Figure 44 : Symptômes du <i>Sharka</i> observés sur prunier	50
Figure 45 : Symptômes du <i>Sharka</i> observés sur prunier	51
Figure 46 : Individus du puceron <i>Hyalopterus pruni</i> observé sous loupe (G10 × 2.5n).....	53
Figure 47 : Individu adulte de <i>Brachycaudus cardui</i> observé sous loupe (G 10×2.5).....	53
Figure 48 : Individus du puceron <i>Myzus persicae</i> observé sous loupe (G 10× 2.5)	54
Figure 49 : Individus du puceron <i>Myzus variant</i> observé sous loupe (G 10× 2.5).	54
Figure 50 : Individu du puceron <i>Brachycaudus Schautzi</i> (puceron brun de pêcher) observé sous loupe (G 10× 2.5)	55
Figure 51 : Symptômes du <i>PPV</i> sur les plantules de pois inoculés par les pucerons	56

Liste des tableaux

	Page
Tableau 1 : Production arboricole (en tonnes) dans le monde et principaux pays producteurs.....	4
Tableau 2 : Production de l'arboriculture fruitière en Algérie	5
Tableau 3 : Principaux virus signalés en Algérie sur les rosacées à noyaux.....	6

SOMMAIRE

	Page
Introduction	1
Chapitre 1 : Données bibliographiques	
1. Importance économique de l'arboriculture fruitière.....	3
2. Principaux virus affectant les arbres fruitiers à noyau en Algérie.....	4
3. Sharka.....	5
4. Présentation du virus.....	17
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	
1. Prospection et échantillonnage.....	28
2. Détection de virus de la Sharka.....	39
Chapitre 3 : Résultats et discussion	
1. Analyse symptomatologique sur terrain.....	48
2. Distribution des pucerons vecteurs de la Sharka.....	52
3. Détection biologique de la Sharka	56
4. Résultats de détection sérologique de virus de la Sharka	57
Conclusion	58
Références bibliographiques	
Annexe	

LA DETECTION SEROLOGIQUE ET BIOLOGIQUE DU VIRUS *PPV*

Résumé

L'objectif de notre travail est de dépister *la Sharka*, maladie virale de quarantaine, dans trois sites d'arboriculture fruitière à noyaux (pêcher, abricotier et prunier) dans la wilaya de Blida et Médéa. Les prospections effectuées sur ces cultures ont révélé la présence de différents types d'infections, et l'identification des différents pucerons- vecteurs responsables de la transmission selon le mode non-persistant qui sont : *Brachycaudus carui*, *Aphis spiraecola*, *Myzus persicae*, *Brachycaudus schwatzi*, *Hyalopterus pruni*. Les résultats de l'observation sur terrain ont montré la présence des symptômes typiques de *la sharka* : des taches chlorotiques, des enroulements sur feuilles, des décolorations et des déformations, des jaunissements, des nécroses. L'espèce *aphidienne* la plus dominante dans tous les sites inspectés était *Hyalopterus pruni* (100%). La majorité des plantules de petit pois inoculées par les deux espèces de pucerons vecteurs du *PPV* ont exprimé des symptômes rappelant ceux de *la Sharka*. Le test sérologique DAS-ELISA a révélé des résultats négatifs pour tous les échantillons testés.

Mots clés : Variole du prunier, *PPV*, arbres fruitiers à noyaux, Dépistage, pucerons vecteurs.

SEROLOGICAL AND BIOLOGICAL DETECTION OF VIRUS *PPV*

Summury

The objective of our work is to screen the quarantine viral disease *Sharka* in three sites of fruit tree cultivation (*peach, apricot and plum*) in the wilaya of Blida and Medea. The surveys carried out on these crops revealed the presence of different types of infections, and identification of the different aphids responsible for transmission in the non-persistent mode: *Brachycaudus carui*, *Aphis spiraecola*, *Myzus persicae*, *Brachycaudus schwatzi*, *Hyalopterus pruni*. The results of the field observation showed the presence of the typical symptoms of the *sharka*: *chlorotic spots, leaf rolls, discolourations and deformations, yellowings, necroses*. The most dominant aphid species at all sites inspected was *Hyalopterus pruni* (100%). The majority of the pea seedlings inoculated by the two *PPV* aphid vectors expressed *Sharka*-like symptoms. The serological DAS-ELISA test revealed negative results for all samples tested.

Key words: *Plum pox, PPV*, stone fruit trees, Screening, vector aphids.

الكشف السير ولوجي والبيولوجي للفيروسات PPV

⊖

الهدف من عملنا هذا هو البحث عن مرض جذري البرقوق، مرض فيروسي خطير، و هذا على مستوى ثلاث مواقع للأشجار المثمرة ذات النواة (الخوخ، المشمش و البرقوق) في ولاية البليدة والمدية. أظهرت المعاينة الميدانية للأشجار المثمرة وجود عدة أعراض مماثلة لجذري البرقوق وكذلك وجود ثلاث أنواع من حشرات المن الناقلة لفيروس PPV. والتعرف على مختلف ناقلات المن المسؤول عن الإرسال في الوضع غير المستمر والتي هي:

Brachycaudus carui, *Aphis spiraecola*, *Myzus persicae*, *Brachycaudus schwatzi*,
Hyalopterus pruni.

وأظهرت نتائج الملاحظة الميدانية وجود الأعراض النموذجية Sharka البقع الداكنة، لفائف الأوراق، تغير لونها وتشوهاتها، اصفرارها، نخرات. كانت نسبة الإصابة بالمرض و نسبة وجود حشرات المن مختلفة من نوع إلى آخر و من صنف إلى آخر. أكبر نسبة إصابة سجلت على الخوخ بجليدة *Hyalopterus pruni* كان الصنف السائد من حشرات المن (100%). أبدت أغلبية نباتات البازلاء الملقحة بواسطة ثلاث أصناف من حشرات المن الناقلة أعراض مشابهة لجذري البرقوق. كانت نتائج التحليل السير ولوجي DAS-ELISA سلبية بالنسبة لكل العينات المختبرة.

كلمات مفتاحية: جذري البرقوق، PPV، أشجار مثمرة ذات النواة، بحث، حشرات المن الناقلة

INTRODUCTION

Introduction

Les arbres fruitières forme une famille botanique qui compte environ 3 370 espèces réparties en plus d'une centaine de genres. Elle est représentée par deux groupes: les rosacées à pépins (pommier, poirier, cognassier) et les rosacées à noyaux (amandier, abricotier, prunier, pêcher et cerisier). Ce sont des plantes bien connues avec une grande importance socio-économiques, utilisées pour l'ornementation et l'alimentation, voire la médication (Janick J. 2005).

Malheureusement, ces rosacées et particulièrement celles à noyaux sont sujettes à plusieurs ennemis naturels dont les plus fréquents sont les insectes (cochenilles, capnodes, pucerons, ...), les champignons (*Monilia laxa*, *Taphrina deformans*, ...), les bactéries (*Pseudomonas syringae*, *Agrobacterium tumefaciens*,) et les virus (Prune Dwarf Virus ou virus du nanisme du prunier, Prunus Necrotic Ring Spot Virus ou virus des taches annulaires nécrotiques des Prunus et le Plum Pox Virus. Ce dernier provoque la variole du prunier qui présente la plus dangereuse et la plus redoutable maladie des rosacées à noyaux (Rouag N. 2009).

La *Sharka*, est classée maladie de quarantaine liste A2 (OEPP .2010) en raison de son impact socio-économique très élevé et de ces pertes économiques considérables sur les fruits infectés en les déformant complètement jusqu'à les rendre impropres à la commercialisation. Elle a été observée pour la première fois sur des pruniers en Bulgarie en 1912, d'où lui est venu son nom de *Sharka* ou variole du prunier (Celetti et al. 2002) (INRA. 2016).

Plusieurs travaux sur la variole du prunier ont été réalisés sur de nombreux sites arboricoles en Algérie et ils ont tous révélé sa présence importante (Mohamed Bouziane R. 2002); (Bouafia L. 2003);(Rebhi R. (2004); (Rouag N. 2009); (Benhoucine A., Mansouri M. 2013) au laboratoire de virologie.

Afin de poursuivre ces recherches et de dépister la *Sharka* dans d'autres régions arboricoles ainsi de recenser les pucerons vecteurs responsables de

Introduction

l'épidémiologie dans ces régions, nous nous sommes proposées de réaliser ce travail au niveau sur trois cultures fruitières à noyaux en l'occurrence le pêcher, le prunier et l'abricotier. Cette étude avait comme plan de travail :

1. Prospections visuelles et description des symptômes au niveau des 3 sites arboricoles.
2. Prélèvements des échantillons (feuilles) avec et sans symptômes caractéristiques de la *Sharka*.
3. Inventaire et collecte des pucerons vecteurs du virus de la *Sharka*.
4. Identification des pucerons prélevés des sites prospectés par test de montage.
5. Caractérisation biologique de la *Sharka* par inoculation des plantules de petits pois par pucerons vecteurs du *PPV* provenant des sites prospectés.
6. Caractérisation sérologique par la technique DAS-ELISA et évaluation de l'incidence de la *Sharka*.

CHAPITRE I :

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

1.1. Importance économique de l'arboriculture fruitière

1.1.1. Production arboricole fruitière dans le monde

La production mondiale en arboriculture fruitière était estimée à plus de 13845 millions de tonnes en 2013. 42% de la production mondiale vient d'Asie, 14% d'Europe, 13% d'Amérique du Sud, 12% d'Amérique du Nord, 12,5% d'Afrique et enfin 6% est produit en Océanie (Anonyme 1. 2015).

Concernant les principaux pays producteurs, la Chine vient en première position avec environ 36% de la production mondiale, alors que l'Inde a produit 12% de la production mondiale. D'autres pays sont considérés comme de grands pays producteurs tel que l'Italie, l'Espagne, les États-Unis, la Turquie et l'Iran (Tableau 1).

Tableau 1 : Production arboricole (en tonnes) dans le monde et principaux pays producteurs (Anonyme 1. 2015).

Fruits	Production (tonnes)	Principaux pays producteurs
Abricots	3322703	Turquie-Iran
Amandes	296894	EA-Espagne
Cerises	1981403	Turquie-EA
Pêches Nectarines	21638953	Chines-Italie
Poires	25203754	Italie-Espagne
Pommes	80822521	Italie-Inde
Prunus et prunelles	2521222	Roumanie-Iran

1.1.2. Production arboricole fruitière en Algérie

L'arboriculture fruitière est très diversifiée. Elle est constituée essentiellement d'olivier, figuier, vigne, agrume, poirier, pommier, abricotier, pêcher, cerisier, amandier, grenadier, néflier (Chouaki et al. 2006). Elle occupe une place très importante en Algérie avec une superficie de 245807 ha donnant un rendement de 889,5 qx /ha (Tableau 2).

Tableau 2 : Production de l'arboriculture fruitière en Algérie 2015 (Anonyme2 .2015).

Fruits	Superficie (ha)	Productions (Qx)	Rendements (Qx/ha)
Abricots	45863	2933702	75,5
Cerises	5059	89487	32,6
Nèfles	2537	249397	105,6
Pêches	22871	1778820	97,4
Poires	29413	2553438	101,9
Pommes	47355	4514717	110,1
Prunes	20593	1177208	73,1
Autres	6125	330000	61,5

1.2. Principaux virus affectant les arbres fruitiers à noyaux

Les rosacées à noyaux (*Prunus sp*) sont infectées par de nombreux virus. Les principaux virus qui affectant les arbres fruitiers à noyaux en Algérie sont : *PPV*, *PDV*, *PNRSV*, *ACLSV* (Tableau 3).

Tableau 3: Principaux virus signalés en Algérie sur les rosacées à noyaux (Bouriah S., Souaber A. 2013).

Agents pathogènes	Maladies	Espèces	Régions	Références
<i>PPV</i>	<i>Sharka</i> du prunier	Abricotier Prunier Pêcher Amandier Cerisier	Blida Tipaza Alger Médéa et Tizi-Ouzou	Bouzianee (2002) Bouafia (2003) Rabhi (2004) Benyoussef (2006) Abbas, Boutebba (2011) Bouafia, Abbad (2012) Bouriah, Souaber (2013)
<i>PNRSV</i>	Taches annulaire nécrotiques des <i>Prunus</i>	Abricotier Pêcher Prunier	Ain Defla Blida Alger (Batna) Guelma	Belhadj (1990) Mahfoud (1991) Karboua (1992) Boumcied (1994) Koumad (1996)
<i>PDV</i>	Rabougrissement des <i>Prunus</i>	Pêcher	Blida Alger	Bousalem (1992) Mahfoud (1991) Karboua (1992) Boumcied (1994)
<i>ACLSV</i>	Fausse variole du prunier.	Abricotier Pêcher	Alger	Bousalem (1992) Boumcied (1994)

1.3. Sharka

La Sharka est une maladie incurable qui altère la qualité des fruits des arbres contaminés jusqu'à les rendre impropres à la consommation, elle peut provoquer des déformations importantes des fruits et des modifications de leurs qualités organoleptiques. Du fait de sa gravité, son agent causal est classé comme pathogène de quarantaine dans la plupart des pays producteurs (Decroocq V., Cadresse T. (2007).

La Sharka est une maladie dont l'agent causal *Plum Pox Virus (PPV)* est connu depuis le début du 19ème siècle. Elle a été observée pour la première fois en 1917 en Bulgarie sur prunier, mais n'a été décrite officiellement qu'en 1932. Elle s'étend progressivement sur le continent européen et au Proche Orient pour atteindre la France en 1970 (Anonyme 4 .2017).

1.3.1. Répartition géographique

Des travaux réalisés en 1994 ont distingué trois zones: (i) les pays centraux et orientaux dans lesquels *PPV* s'est disséminé de manière précoce où les niveaux d'infection sont généralement élevés (Bosnie-Herzégovine, Bulgarie, Croatie, Hongrie ,Moldavie, Pologne, République tchèque, Roumanie, Serbie, Slovaquie, Slovénie, Ukraine);(ii) les pays méditerranéens dans lesquels la dissémination est récente et où il y a un fort risque de progression de la dissémination (Albanie, Chypre, Egypte, Espagne, Grèce, Italie ,Portugal, Syrie, Turquie); (iii) les pays nordiques et occidentaux dans lesquels les niveaux d'infection de *PPV* sont inégaux (assez répandu en Allemagne, Autriche et Royaume-Uni (Angleterre), très localisé en Belgique, France et Luxembourg. Eradiqué au Danemark, Pays-Bas et en Suisse. *PPV* ne s'est disséminé dans le sud de la Russie. Il a été signalé mais ne s'est pas établi en Estonie. Asie: Azerbaïdjan (non confirmé), Chypre, Géorgie (non confirmé), Inde (Himachal Pradesh), Syrie, Turquie, Afrique (Egypte),(Roy A S., Smith I M. 1994).

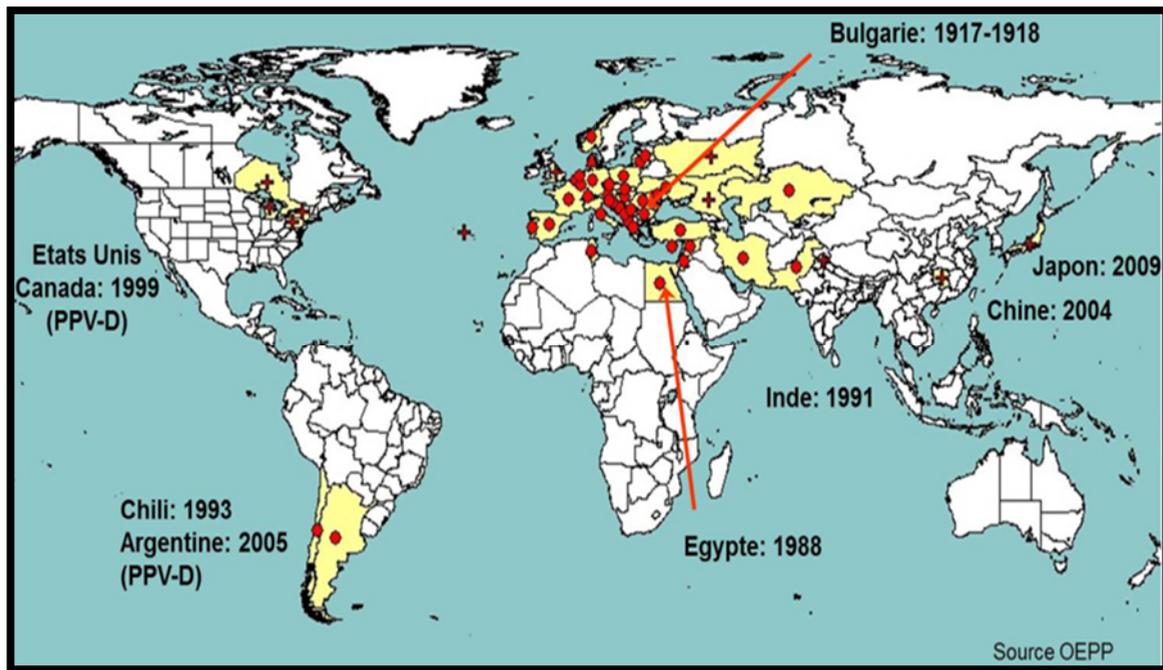


Figure 1.: Distribution géographique de la maladie de *la sharka* (Anonyme 1.2013).

1.3.2. Impact économique

Environ 100 millions d'arbres de rosacées à noyaux sont actuellement infectés en Europe et les cultivars susceptibles peuvent subir des pertes de rendement allant de 80-100% (Kegler H., Sutic D.1991). Selon les mêmes auteurs, *le PPV* est un virus endémique dans les pays méditerranéens du nord, en Albanie et dans l'ex Yougoslavie (principalement sur le prunier), en Grèce (pêcher et abricotier), sur pêcher en France et en Italie.

1.3.3. Principales plantes hôtes

Dans des conditions naturelles, *le PPV* infecte directement les arbres fruitiers du genre *Prunus* sp qui sont cultivées, dont : *P. armeniaca*, *P. cerasifera*, *P. davidiana*, *P. domestica*, *P. mahaleb*, *P. marianna*, *P. mume*, *P. persica*, *P. salicina*. Aussi les hybrides issus de croisements entre ces espèces *P. avium*, *P. cerasus* et *P. dulcis* peuvent être infectés occasionnellement. Le virus infecte aussi de nombreuses espèces de *Prunus* sauvages et ornementales comme *P. besseyi*, *P. cistene*, *P. glandulosa*, *P. insititia*, *P. laurocerasus*, *P. spinosa*, *P. tomentosa* et *P. triloba* (Barba N. 2011).

1.3.4. Plantes hôtes herbacées

En plus des espèces du genre *Prunus*, un grand nombre d'espèces herbacées est sensible au *PPV* telles que *Trifolium. Pratense*, *Trifolium.repens*, *Lepidium sativum*, *Zinnia. Elegans*, *Ranunculus repens* et *Medicago lupulina* (Wang et al. 2006) (Manachini et al. 2007). L'importance des adventices sensibles en tant que réservoir du *PPV* en Amérique du nord fait actuellement l'objet d'études. D'après de nombreuses études faites en Europe, les adventices jouent un rôle appréciable dans la propagation de la maladie.

1.3.5. Symptômes macroscopiques :

L'expression des symptômes varie selon l'hôte, le cultivar, la souche du *PPV*, l'âge de l'arbre infecté et l'environnement. Les symptômes de la maladie peuvent apparaître sur les fleurs, les feuilles ou les fruits (Anonyme .2014).

1.3.5.1. Sur l'abricotier

Les symptômes se caractérisent par des décolorations foliaires en taches, en anneaux situées le long des nervures (Fig.2.1) (Anonyme 2011) et même une décoloration en anneaux des fruits (Fig.2.2) à maturité (Anonyme 1 2012).

Certaines variétés très sensibles sont déformées au point d'empêcher de reconnaître la forme générale du fruit. La chaire de l'abricot est généralement décolorée sous la tache : soit sous tout la tache, soit sur le pourtour uniquement. La décoloration descend très souvent jusqu'au noyau et correspond à une tache sur celui-ci (Anonyme 1. 2012).

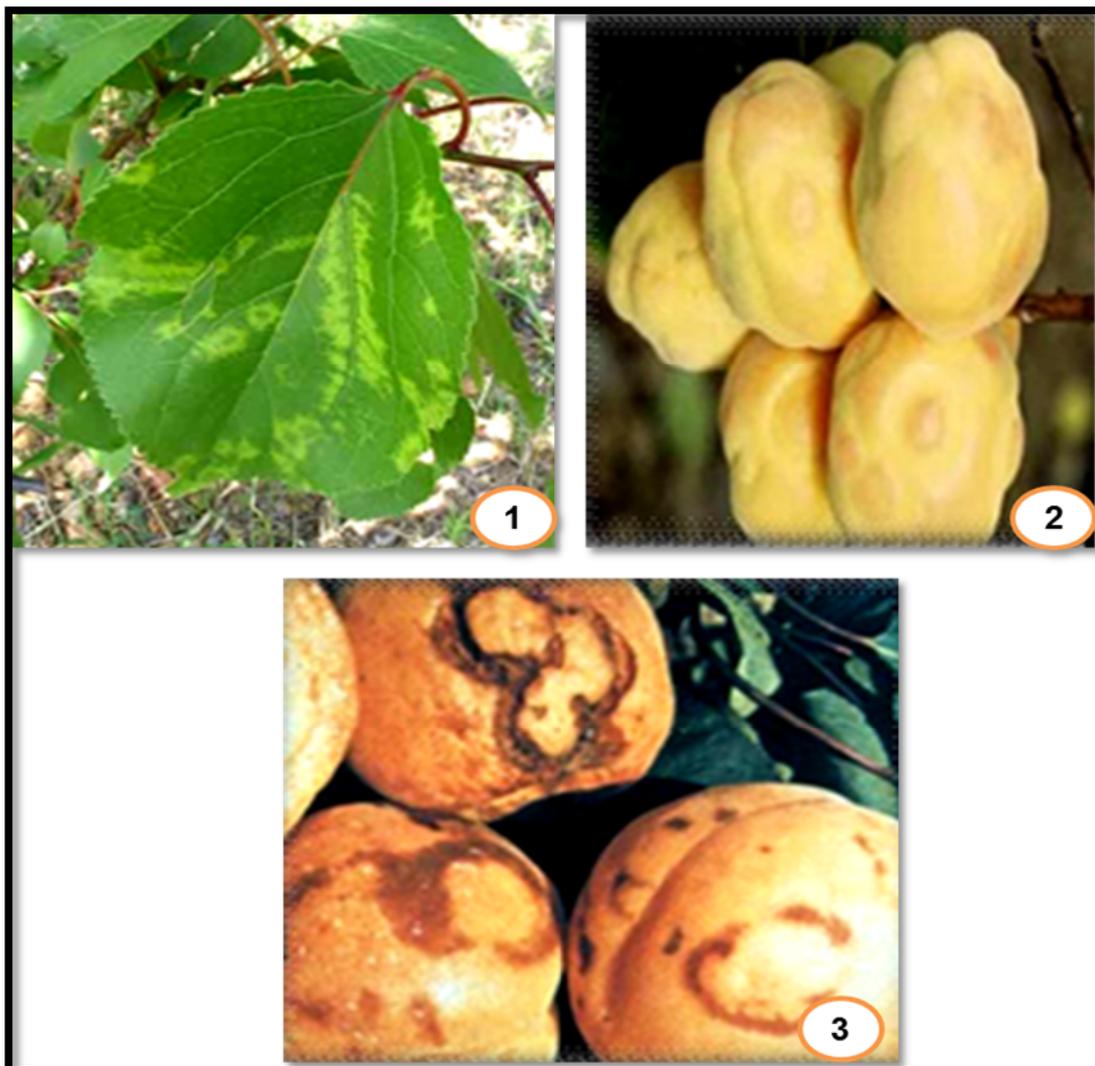


Figure 2 : Symptômes du *PPV* sur feuilles et fruits d'abricotier (Dallot et al. 2012).

1 : Arabesques et halos chlorotiques dispersée autour des nervures secondaires. **2**: Anneaux jaunâtres, déformations et dépression des fruits. **3** : Fruits avec nécroses.



Figure 3 : Anneaux marron clair à jaune présent dès le durcissement du noyau de l'abricotier (Anonyme 2. 2013).

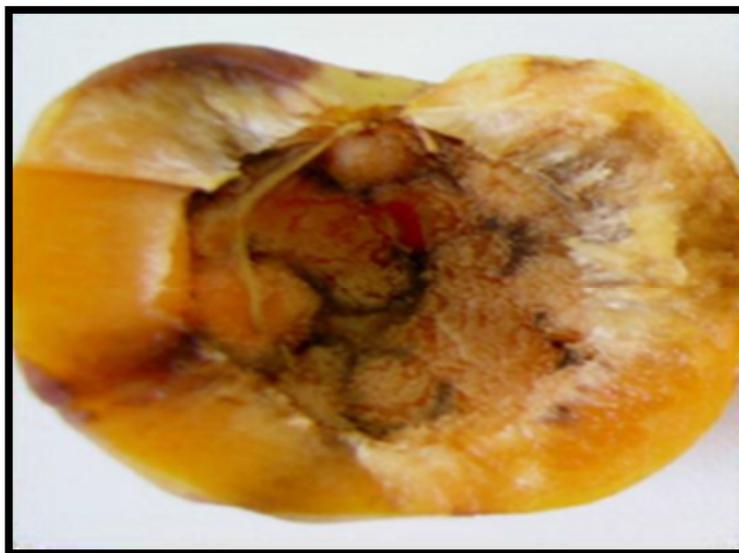


Figure 4 : Altération de la chaire (Dallot et al. 2012).

1.3.5.2. Sur pêcher

1.3.5.2.1. Sur fleurs

Des petites flammes violacées suivant les nervures des pétales (Fig.5₁) ; risque de confusion avec des taches variétales sur certaines variétés (Anonyme 2011).

1.3.5.2.2. Sur fruits

Une décoloration de l'épiderme en anneaux parfois confluent ou par plages larges ou en arabesques (Fig.5₃ ; 6₁). La variabilité des symptômes est très importante sur les pêchers (Anonyme 1. 2012).

1.3.5.2.3. Sur rameaux

Les symptômes se manifestent sous forme de taches ou d'anneaux sur rameaux (Fig.6₂) (Anonyme 2. 2013), l'écorce est fendillée, l'intensité varie selon les cultivars (Celetti et al. 2006).

1.3.5.2.4. Sur feuilles

Les symptômes se présentent sous forme de décolorations à partir des nervures (Fig.5₂) visibles du printemps au début de l'été. Ces symptômes s'atténuent au cours du temps et finissent par s'estomper dans le courant de l'été sous l'effet des fortes chaleurs (Anonyme 2. 2013).

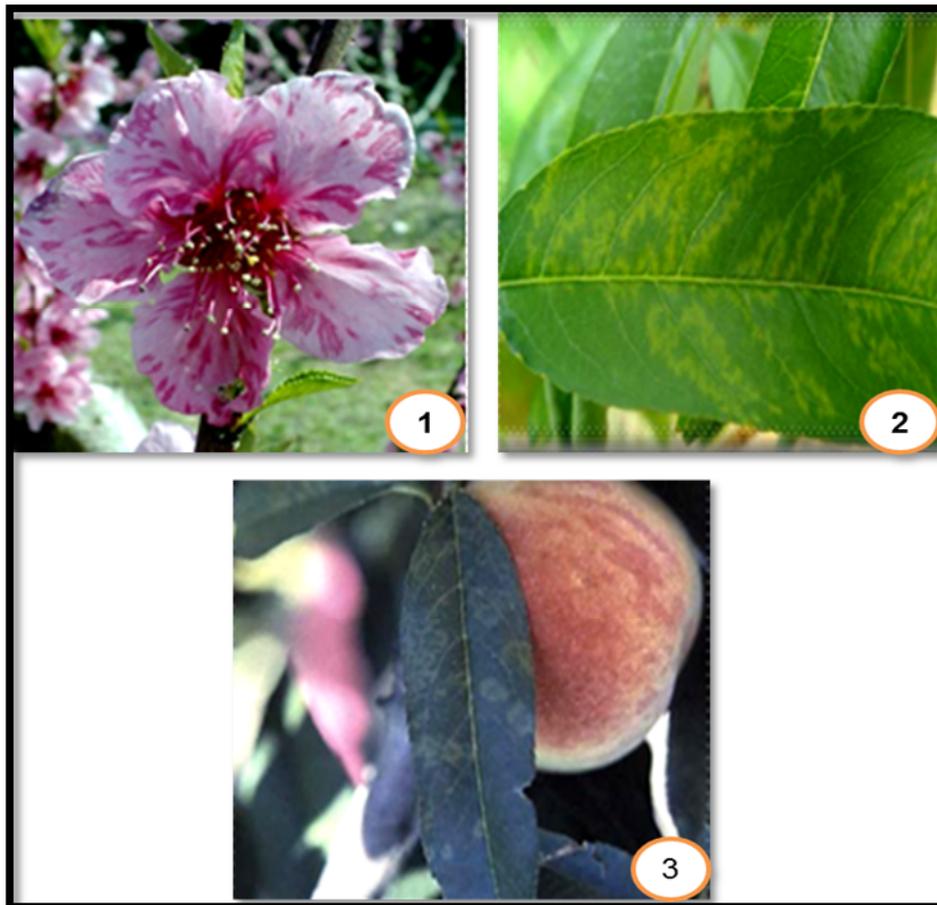


Figure 5 : Symptômes du *PPV* sur fleurs et feuilles du pêcher (Anonyme 2 .2013)
(Celetti et al. 2006).

1 : Stries rosées sur les pétales rosacés qui contiennent des pigments anthocyaniques rouge. **2 :** Réseaux jaunâtres le long des nervures, nervures décolorées. **3 :** Taches rondes, ponctuations chlorotiques pales ou jaunes.

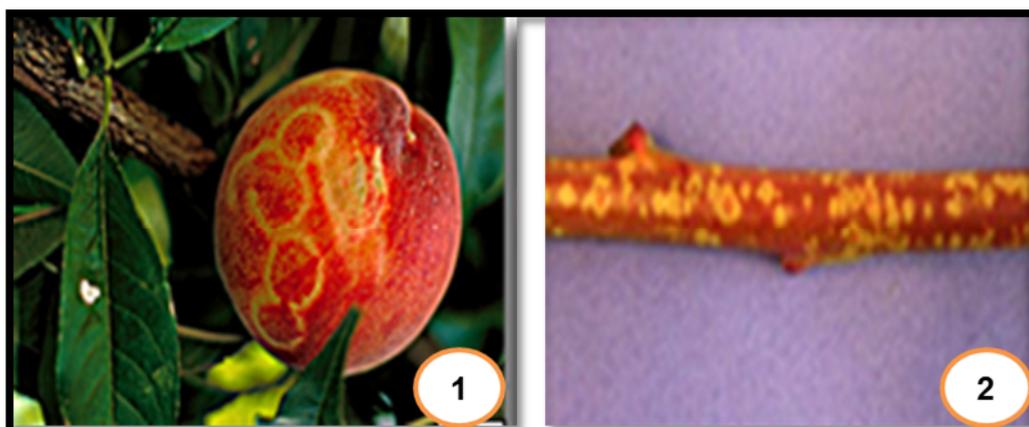


Figure 6 : Symptômes du *PPV* sur fruits et rameaux du pêcher (Anonyme 2 .2013).

1 : Décoloration en anneaux de l'épiderme du fruit du pêcher. **2** : Taches ou anneaux décolorés sur le bois de l'année.

1.3.5.3. Sur le Nectarines

Les symptômes se caractérisent par des décolorations foliaires (Fig. 7₁) en taches jaunâtre (Anonyme .2014). Les fruits (Fig. 7₂) présentent des déformations ainsi que des décolorations en forme de taches ou d'anneaux (Anonyme 2 .2013). La chaire (Fig. 7₃) présente des zones rougeâtres ou des inclusions de gomme (Anonyme .2014).

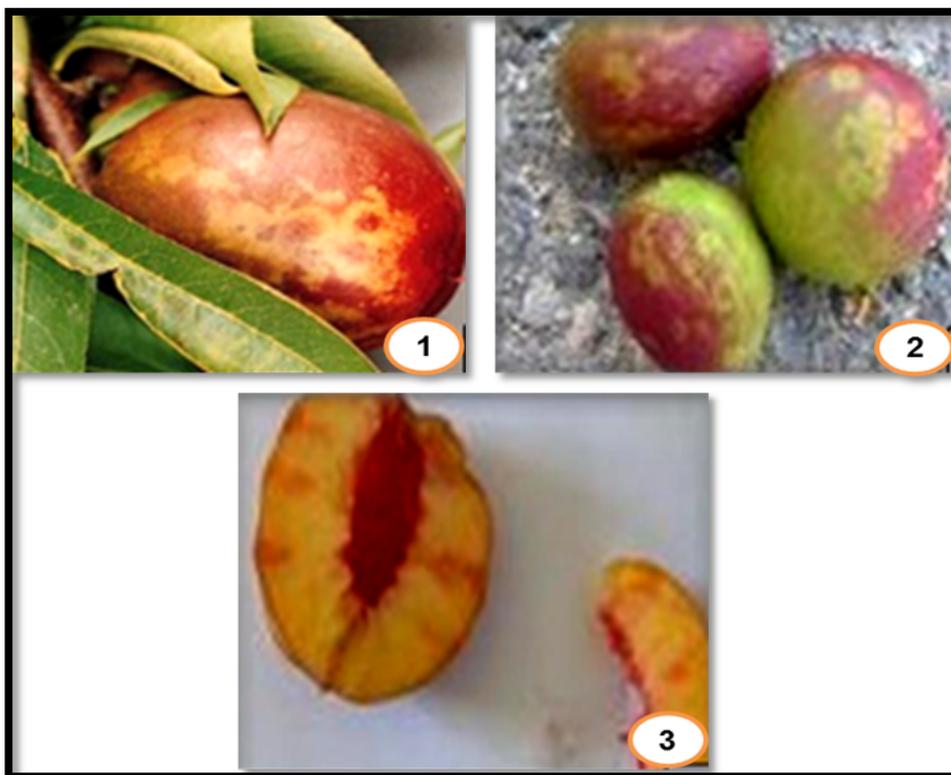


Figure 7 : Symptômes du *PPV* sur feuilles et fruits de nectarine (Anonyme .2014)
(Anonyme 2 .2013).

1: Tâches jaunâtres sur les feuilles. **2**: Décoloration en anneaux de l'épiderme du fruit de la nectarine.
3: Décoloration de la chaire.

1.3.5.4. Sur Prunier

Sur le feuillage, les symptômes se manifestent juste après la floraison et restent en général visibles jusqu'à l'automne, sous forme des taches ou anneaux de couleurs jaune à brunâtre (Fig.8₁ et 2), voir nécrotiques (Fig. 8₃). La délimitation de ces taches vers l'intérieur est plus nette que sur le bord extérieur du dessin (Gugerli P., Hasler T. 2005).

Les fruits présentent une décoloration à maturité par taches, avec dépression de l'épiderme (Anonyme 1.2012). Des nécroses superficielles provoquant une atrophie des fruits, qui tombent prématurément, et deviennent moins sucrés, flasques, fades et sont impropres à la vente. La chaire présente des zones brunes ou des inclusions de gomme (Fig. 10) qui atteignent même le noyau. Les noyaux eux-mêmes présentent souvent des taches et des anneaux plus sombres (Gugerli et al. 2005).

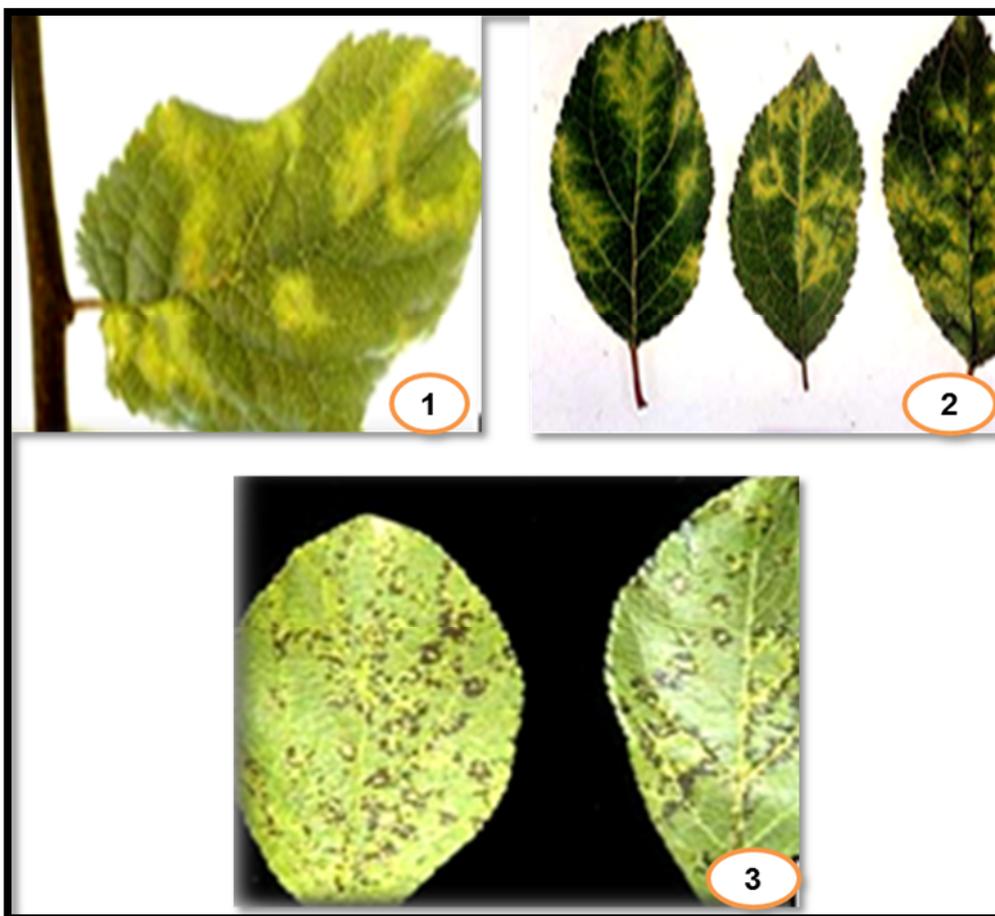


Figure 8 : Symptômes du *PPV* sur les feuilles du prunier (Gugerli et al. 2005),

1 : Dessins en forme d'anneaux chlorotique. 2 : Coloration rougeâtre sur feuilles du prunier.
3: Feuilles présentant des nécroses.



Figure 9 : Symptômes du *PPV* sur fruits de prunier: (Brault et al. 2009).

1 : Déformation et décoloration des fruits. 2 : Dépressions irrégulières ou en forme d'anneaux.



Figure 10 : Coloration rouge brunâtre de la chair du prunier (Brault et al. 2009).

1.3.6. Symptômes microscopiques

Dans le cytoplasme des cellules infectées des inclusions amorphes corps X en forme d'aiguille qui sont des protéines paracristallines, ne contenant pas de virions

ainsi que des invaginations de l'enveloppe nucléaire externe et des chloroplastes sont observées (Bovey R. 1971). La synthèse de nucléoprotéine et le nombre de ribosomes augmente. Des inclusions protéiques de type pin wheel (roues à aubes) sont présentes dans le cytoplasme des feuilles et des fruits infectés par le *PPV* (Ravelonandro. 1988).

1.4. Présentation du Virus

1.1.4. Morphologie

Le *PPV* appartient au genre *Potyvirus*, de la famille des *Potyviridae*. Les particules virales sont filamenteuses, habituellement flexueuses mesurant 660-770 nm de long et 12,5-20nm de diamètre (Kegler H., Sutic D. 1991), elles sont composées d'une molécule d'ARN linéaire simple brin positif constituée de près de dix milles nucléotides recouvert par un maximum de 2000 sous-unités d'une protéine d'enveloppe unique ayant une masse moléculaire de 36000 daltons (Cambra et al. 2006). Ces sous unités protéiques sont arrangées selon une symétrie hélicoïdale (Ravelonandro M., M Dunez. 1995).

Le virion est instable, se réplique de façon cyclique, souvent inégalement distribué dans les différents organes, peu concentré et sensible à la chaleur (Desvignes et al. 1999).



Figure 11: Virion du *Plum Pox Virus* observé au microscope électronique

(19 000 ×) (Putallaz et al. 2010).

1.4.2. Génome

La particule virale contient 5% d'ARN, de polarité positive, comportement à son extrémité 5', une protéine Vpg (Protéine liée au génome) et à son extrémité 3' (Fig.

1.12), une queue polyadénylée (Ravelonandro M., M Dunez. 1995). La traduction de l'ARN génomique conduit à la synthèse d'une *polyprotéine* d'environ 330 kilo dalton (Kda). La maturation de ce précurseur est réalisée par l'action conjointe de 3 protéases virales elles même encodées sur la polyprotéine (Candresse T. 1994).

Cette *polyprotéine* est découpée par trois protéases d'origine virale (P1-Pro, Hc-Pro et Nla-Pro), en 10 protéines; P1, Hc, P3, deux polypeptides 6K qui flaquent le CI, Vpg, Nla, Nib, et CP (Garcia et al.1994).

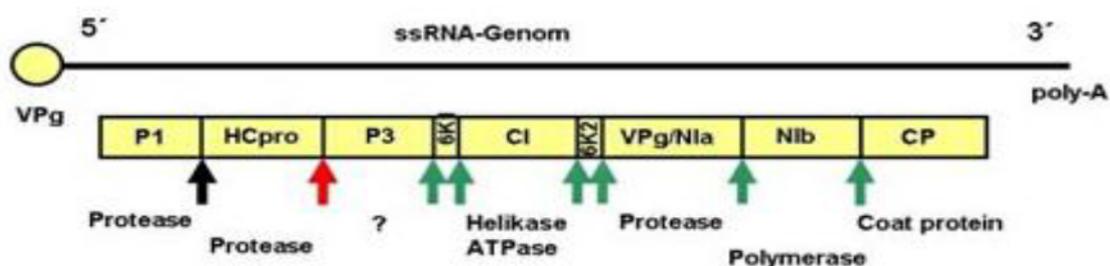


Figure 12: Représentation schématique du génome du *Plum Pox Virus*. Le nom des différentes protéines codées par le virus sont indiquées sur le schéma (Dolja et al. 2014).

1.4.3. Les souches

Les travaux récents confirment l'existence d'au moins 7 souches virales dont particulièrement fréquentes en Europe : souches **PPV-Markus** et **PPV Dideron** (seules souches détectées en France) et souche **PPV-Rec** dont le génome est une mosaïque des 2 souches précédentes. A ce jour, il est établi que la souche **PPV-M** (Markus) est particulièrement épidémique notamment sur pêcher alors que les souches **PPV-D (Dideron)** et **PPV-Rec** sont essentiellement à l'origine d'épidémies sur abricotiers et pruniers (Dallot et al. 2012).

Les autres souches présentent une distribution géographique plus restreinte : souche **PPV-T**, recombinante présente en Turquie, **PPV-W** détectée en Lettonie, Russie et sur du matériel importé au Canada, **PPV-C** présente en Moldavie, Russie, Biélorussie et de façon sporadique dans quelques pays d'Europe Centrale. Et enfin

PPV-EA, connue seulement en Egypte. Le potentiel épidémique de ces souches autres que **M** et **D** est largement inconnu, à l'exception de **PPV-C**, seule souche capable d'infecter et de se propager dans les cerisiers (Dallot et al.2012).

1.4.4. Les voies de transmission

1.4.4.1 Par vecteur (Pucerons)

Le virus utilise ces fabuleux moyens de transport que sont les insectes vecteurs "les pucerons" Pour se maintenir dans la nature et se propager de plante à plante. Bien que les processus d'acquisition des virus dans une plante infectée et de transmission à une plante saine soient liés au comportement alimentaire commun à tous les pucerons, les virions, une fois ingérés, vont suivre des routes variées et utiliser des mécanismes différents pour se maintenir dans le puceron. Le devenir des virions dans le vecteur dépend d'interactions intimes qui s'établissent entre des protéines du puceron (récepteurs) et les composants des particules virales (Brault et al. 2009).

La transmission du *PPV* s'effectue selon le mode « non persistant » (Celetti et al. 2002).

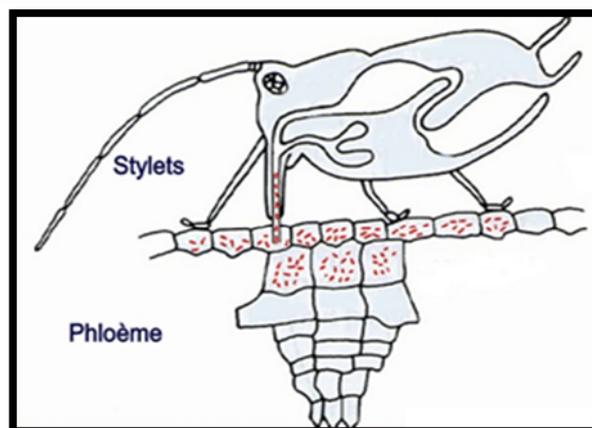


Figure 13 : Transmission du virus de *la Sharka* par puceron (Dallot et al. 2012).

1.4.4.2. Anastomoses racinaires

Lorsque la distance de plantation est faible (2 m et moins) des soudures peuvent se faire entre les racines des arbres contigus. Ce greffage naturel peut permettre la transmission du virus d'arbre en arbre par le système racinaire (Anonyme. 2016).

1.4.4.3. Voie végétative

Le virus se propage de région en région à la faveur des transports de matériel de multiplication infecté (greffons, porte-greffes ou jeunes arbres). Des morceaux de plantes infectées peuvent parcourir ainsi de longues distances et franchir des barrières naturelles comme des chaînes de montagnes, des forêts et des océans (Celetti et al. 2002).

1.4.4.4. Par semence et pollen

Nemeth (1986) résume les résultats de divers travaux réalisés sur la transmission du virus par les graines et le pollen; il confirme que ce mode de transmission existe bel et bien, mais que son succès varie selon l'hôte.

1.5. Pucerons vecteurs potentiels du PPV

1.5.1. Puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*)

1.5.1.1. Description

Ce puceron est très *polyphage*, il est d'une longueur de 1,2 à 2,5 mm. L'aptère est de couleur vert clair à vert jaunâtre, tubercules frontaux convergents, cornicules très légèrement renflées, assez longues et claires (Fig. 1.14). L'ailé est vert clair avec une plaque sombre sur l'abdomen échancrée latéralement et perforée, tubercules frontaux proéminents et convergents, antennes longues et pigmentées sauf à la base de l'article III, cornicules longues, sombres et renflées (sur hôtes secondaires), cauda en forme de doigt (Holman J. 2009).

1.5.1.2. Biologie

Hôtes primaires : *Prunus persica* (pêcher) et d'autres *Prunus*. **Hôtes secondaires** : environ 50 familles dont les *Solanaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Apiaceae*, *Cucurbitaceae*. Il est Holocyclique dioécique et anholocyclique (par absence d'hôte primaire ou en région à climat doux en hiver) (Holman J. (2009).



Figure 14 : Puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*) (Anonyme 2. 2012).

1.5.2. Puceron vert du prunier (*Brachycaudus helichrysi*)

1.5.2.1. Description

L'adulte aptère (Fig. 15.1) mesure 1,4 à 2 mm de long, il est de forme ovoïde, avec une coloration variable, généralement vert à vert jaunâtre tirant parfois sur le brun. Les extrémités des tibias et les tarsi sont noirs. Ses antennes sont courtes, égales à la moitié de la longueur du corps. Les cornicules sont également courtes et tronconiques et la cauda est arrondie. **L'adulte ailé** (Fig. 15.2) est plus petit que l'aptère. La tête et le thorax sont brun foncé et l'abdomen présente une large tache pigmentée à contour irrégulier (Anonyme 2 .2013).

1.5.2.2. Biologie

Hôte primaire : Prunier et divers *Prunus* ainsi que, en serre, les Chrysanthèmes (*Chrysanthemum*) et les Cinéraires (Senecio).hôte secondaire: Composées

(Tournesol, Artichaut), des Boraginacées, des Scrofulariacées et le Trèfle. C'est une espèce diécique (Anonyme 2 .2013).

Les œufs d'hiver sont déposés à la base des bourgeons et sur les jeunes rameaux de différentes espèces de *Prunus*. Ils éclosent au départ de la végétation et les pucerons pullulent à la face inférieure des feuilles. 3

5 générations de fondatrices peuvent se succéder sur l'hôte primaire. Les formes ailées apparaissent en Avril-Mai et émigrent sur les hôtes secondaires.

A l'automne, les ailés apparaissent et retournent sur les plantes-hôtes primaires où ils donnent naissance aux femelles ovipares, alors que des mâles, nés sur les hôtes secondaires viennent rejoindre pour engendrer la génération sexuée (Anonyme 2. 2013).



Figure 15 : *Puceron vert du prunier (Brachycaudus helichrysi)* (Anonyme 2 .2013).

1 : Individus aptère, 2 : Individu ailés

1.5.3. *Puceron noir du pêcher (Brachycaudus persicae)*

1.5.3.1. Description

L'aptere mesure entre 1,5 à 2,2 mm, entièrement noir, brillant et globuleux (Fig. 1.16), les larves sont brunes. Ailé : antennes de taille moyenne avec un aspect bosselé, plaque très sombre sur l'abdomen, cornicules noires et droites, cauda courte et arrondie (Turpeau E-M., Chaubet B. 2013).

1.5.3.2. Biologie

Hôtes primaires : *Prunus sp* (pêcher, abricotier, prunier). Hôtes secondaires : *Scrofulariaceae*. Il est *holocyclique dioécique Monœcique* sur *Prunus persica*, *anhocyclique* sur racines de *Prunus sp* (Turpeau E-M., Chaubet B. 2013).



Figure 16 : *Puceron noir du pêcher (Brachycaudus persicae)*
(Anonyme 2. 2012).

1.5.4. *Puceron brun du pêcher (Brachycaudus schwartzi)*

1.5.4.1. Description

Les adultes aptères mesurent de 1.5 à 2.1 mm. Leur corps est de forme ovale, et d'une couleur allant du brun pâle au rose jaunâtre. L'abdomen porte des bandes transversales noires et interrompues (Fig.1.17). Les adultes ailés mesurent de 1.5 à 2 mm. Leurs antennes sont un peu plus courtes que le corps. L'abdomen de couleur jaune orangé porte une plaque noire discontinue (Anonyme 1. 2017).

1.5.4.2. Biologie

Ce puceron réalise tout son cycle sur pêcher. Les œufs éclosent au moment de l'éclatement des bourgeons. Les colonies se développent sur les mois de mai et de juin. Sur cette période les ailés apparaissent et se déplacent vers d'autres pêchers. La génération sexuée apparaît sur les arbres, à la fin du mois d'août. Les œufs sont pondus à l'automne sur des bourgeons des rameaux âgés (Anonyme 1. 2017).



Figure 17 : *Puceron brun du pêcher (Brachycaudus schwartzi)* (Anonyme 2 .2012)

1.5.5. Puceron farineux du prunier (*Hyalopterus pruni*)

1.5.5.1. Description

Les adultes aptères mesurent de 1.5 à 2.6 mm. Ils ont un corps allongé de couleur vert pâle, recouvert d'une pruinosité blanche d'aspect farineux (Fig. 1.18). Les adultes ailés mesurent de 1.5 à 2.6 mm. La longueur des antennes est celle de la moitié du corps. L'abdomen est allongé et pâle (Anonyme 1. 2017).

1.5.5.2. Biologie

Hôtes primaires : pêche, prunier, abricotier, amandier Les œufs éclosent juste avant floraison, courant avril. Les colonies se développent sur la face inférieure des feuilles ou des jeunes pousses, sans causer de déformation. Les colonies les plus importantes s'observent en juin-juillet. Les formes ailées apparaissent de juin à août, et migrent sur phragmite où les colonies se développent sur la face supérieure des feuilles. Cependant quelques colonies persistent tout l'été sur les pruniers. Dès la fin d'août, les mâles ailés et les gynopares ailées retournent sur les arbres fruitiers. Les œufs sont pondus à la base des bourgeons ou dans les anfractuosités des rameaux. Les œufs sont recouverts de courts filaments blanchâtres (Anonyme 1. 2017).



Figure 18 : *Puceron farineux du prunier (Hyalopterus pruni)* (Anonyme 1. 2017)

1.5.6. Puceron noir du cerisier (*Myzus cerasi*)

1.5.6.1. Description

Les pucerons aptères mesurent 1,5 à 2,6 mm. Ils sont de couleur brun foncé à noir brillant (Fig. 1.19) (Anonyme 2.2017)

1.5.6.2. Biologie

L'hivernation se fait à l'état d'œuf pondu sur le tronc, les branches ou à la naissance des bourgeons. Les femelles fondatrices apparaissent en mars-avril. Plusieurs générations se succèdent à l'extrémité des pousses du Cerisier ou à la face inférieure des feuilles, rassemblant le feuillage en paquets compacts au milieu desquels circulent de nombreuses fourmis (Anonyme 2.2017).



Figure 19 : *Puceron noir du cerisier (Myzus cerasi)* (Anonyme 2. 2012).

1.5.7. Puceron vert des citrus (*Aphis spiraecola*)

1.5.7.1. Description

Les aptères mesurent 1.2 à 2.2 mm de longueur (Fig. 20.1), petit puceron jaune à vert pomme avec cauda et cornicules noires de taille moyenne et plus longues que chez les ailés (Fig. 20.2) Les ailés ont un corps vert à vert jaunâtre, les antennes courtes et une cornicules et cauda noire (Anonyme 2 .2013).

1.5.7.2. Biologie

En Amérique du Nord, *A. spiraecola* est holocyclique sur spirée, son hôte primaire. Au Japon, il est holocyclique avec comme hôte primaire les *Citrus*. En Europe et en particulier dans les régions méditerranéennes où il a été introduit vers 1960, *A. spiraecola* est anholocyclique. C'est une espèce polyphage (Hullé et al. 1998).

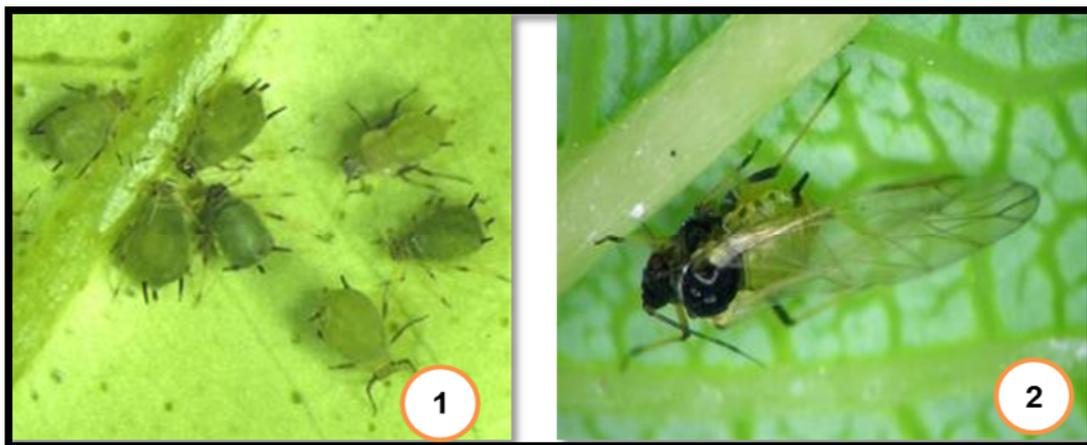


Figure 20 : Puceron vert des citrus(*Aphis spiraecola* (Anonyme 2 .2013).

(1) colonie d'individus aptères , (2) individu ailé.

CHAPITRE II :

MATERIELSET METHODES

2.1. Prospection et échantillonnage

2.1.1. Site prospectés

Les prospections ont été effectuées sur les vergers d'abricotiers, pêchers, pruniers, et cerisiers durant la campagne arboricole 2016-2017 (Avril- Juin), dans les stations suivantes :

Station n°1

Le verger échantillonné se localise dans la station expérimentale du département de biotechnologie végétale (ex Agronomie), université Blida 1, qui se trouve à 7km de l'Est du chef-lieu de la wilaya de Blida à 195 m d'altitude et 6 ans d'âge. Il occupe une superficie de 1.5 ha d'abricotier variété Belinda, conduite en non irriguée (Figure 2.21).



Figure 21 : Verger échantillonné de l'exploitation de la station expérimentale du département de biotechnologie végétale, université Blida 1 (Anonyme 3. 2017).

Station n°2

Cette exploitation se trouve à Guerrouaou à 7.5 km à l'Est du chef-lieu de Blida à 195 m d'altitude.

Parcelle n°1 : Composée d'abricotier de superficie est 2 ha, conduite en non irriguée avec présence de l'avoine en culture intercalaire (Fig.2.22).



Figure 22 : Parcelles échantillonnées de l'exploitation de Guerrouaou -1- (Anonyme 3. 2017).

Parcelle n°2 : composé de pêcher (Fig 2.23), sa surface est de 5 ha. L'irrigation est conduite par goutte à goutte. Dans cette parcelle des traitements contre les pucerons ont été utilisés.

Parcelle n°3 : composée de nectarine (Fig 2.23) sur une superficie de 6 ha, avec une irrigation goutte à goutte. Des traitements anti pucerons ont été effectués.

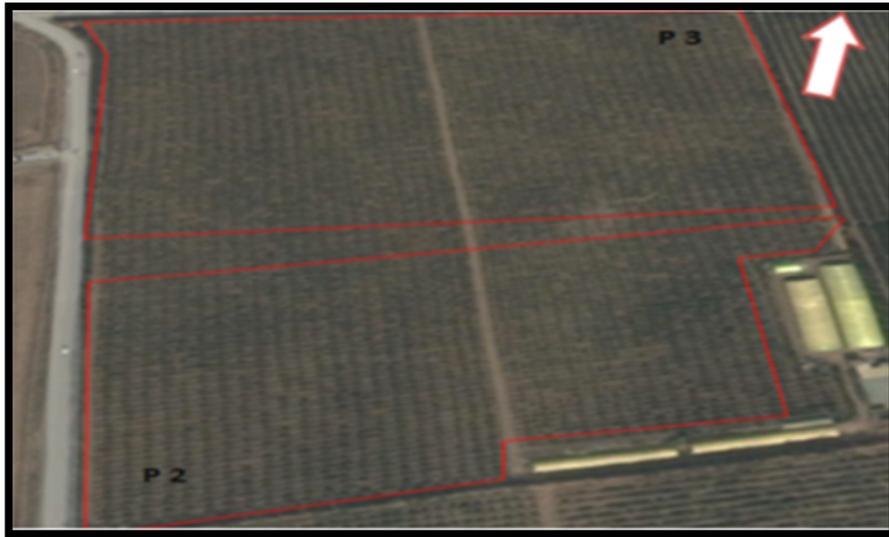


Figure 23: Parcelles échantillonnées de l'exploitation de Guerrouaou -2- (Anonyme 3. 2017).

Station n°3 : Soumaa

La commune de Soumaa est située au centre de la wilaya de Blida, à environ 8 km au nord-est de Blida et à environ 44 km au sud-ouest d'Alger et à environ 35 km au nord-est de Médéa, Soumaa à Altitude 153 m,

Ce verger occupe une superficie de 1 ha de prunier, variété Santa Maria et âgé 5 ans avec une irrigation goutte à goutte (Fig 2.24).



Figure 24 : Parcelle échantillonnée de l'exploitation de Soumaa. (Anonyme 3. 2017).

Station n°4: Meftah

Est située à 26 km de la ville d'Alger à 30 km de la ville de Boumerdes et à 41 km de la ville de Blida avec une altitude de 195 m.

Parcelle n°1 : composé du pêcher de variété chaire Blanche (Fig. 2.25), sa surface est de 1 ha. L'irrigation est conduite par goutte à goutte.

Parcelle n°2 : Sa superficie est de 2 ha de Nectarine (Fig. 2.25), et âgé 12 ans, l'irrigation est basée sur le système goutte à goutte.



Figure 25 : parcelle échantillonnée de l'exploitation de Meftah. (Anonyme 3. 2017).

Station n°5: Ben chicoa

Se situé dans la station de L'ITAFV de Ben Chicoa à 20km au sud-ouest du chef-lieu de la wilaya de Médéa à 966m d'altitude.

Parcelle n°1 : Occupée par cerisier (Fig 2.26) avec une superficie de 0.5 ha de Duroncina, B.Moreau, Giorgia, Stella, Sunburst, New star, B.Napoleon et B.Burlat; greffé sur le port greffe Mahaleb en sec et âgé 16 ans.

Parcelle n°2 : Composée d'abricotier sa superficie de 1.5 ha de louzi et belechaur et âgé 9ans, en sec (Fig 2.26).

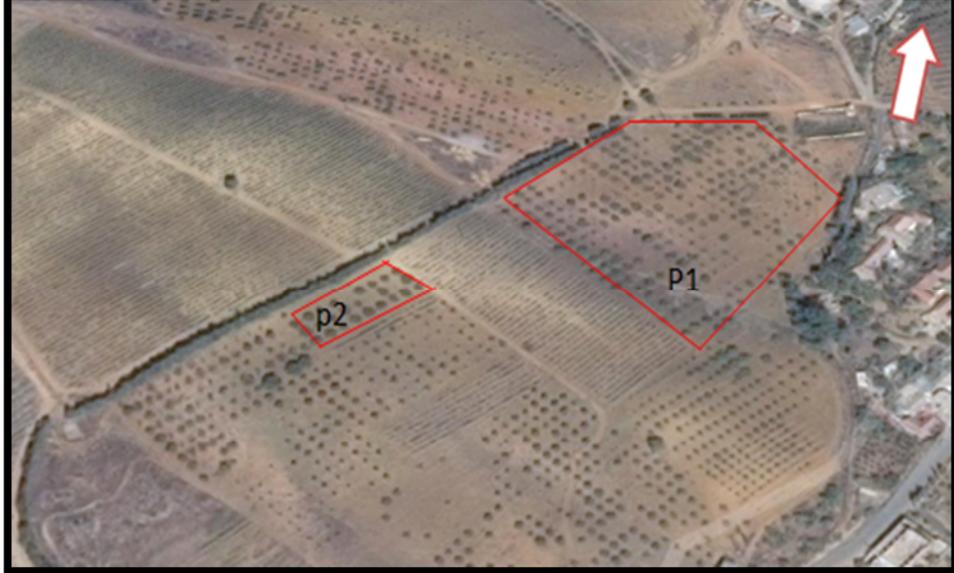


Figure 26 : Parcelle échantillonnée de l'exploitation de Ben chicoa. (Anonyme 3. 2017).

Station n°6 : Mouzaia

La commune de Mouzaia est située d'environ 14 km à l'ouest de Blida, d'environ 59 km au sud-ouest d'Alger et à environ 22 km au nord de Médéa, Altitude 100m. Se verger composé de pécher, variété Cardinal, âgé 10 ans avec une irrigation par rigole (Fig 2.27).



Figure 27 : Parcelle échantillonnée de l'exploitation de Mouzaia. (Anonyme 3. 2017).

2.2. Méthode d'échantillonnage

La technique d'échantillonnage suivit pour la détection de cette maladie. Il s'agit de la méthode de la diagonale aléatoire.

Dans cette méthode d'échantillonnage, chaque prélèvement correspond à un seul plant prélevé. Cinq ou multiple de 5 échantillons de feuille selon l'importance de la parcelle visitée et la sévérité des symptômes; sont prélevé.

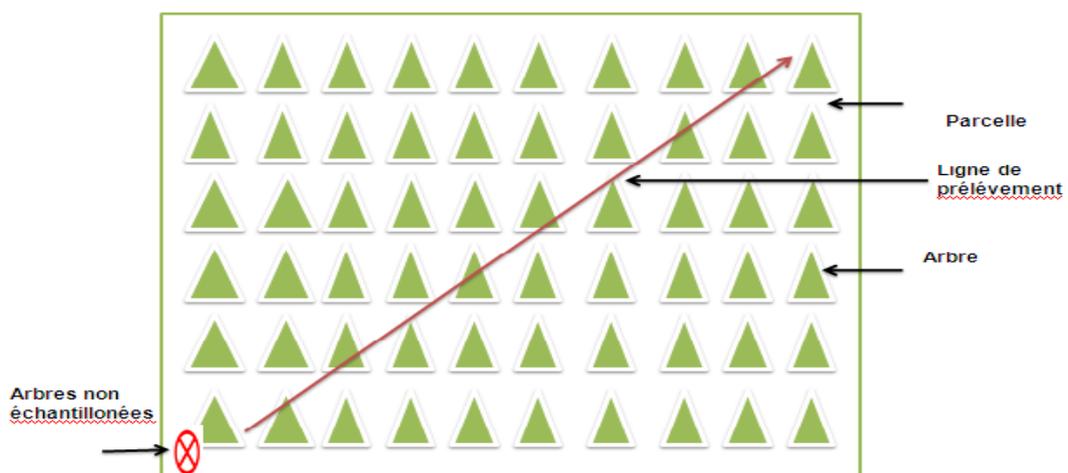


Figure 28 : Schéma représentatif du protocole de collecte des pucerons (La diagonale).

Le prélèvement des échantillons a été fait au printemps (Avril- Mai-Juin) avant la période des chaleurs, sur feuilles.

Deux méthodes de prélèvement peuvent être utilisées :

-Cas d'absence de symptômes clairs : le mieux serait de prendre une dizaine de feuilles venant de différents points de la couronne de l'arbre pour former un échantillon composite.

-Cas de présence de symptômes : des fleurs symptomatiques peuvent être prélevées. Et également un échantillon composite mais moins complexe (2, 3,4 feuilles avec symptômes)

2.2.1. Conservation des échantillons

2.2.1.1. La méthode de Bos

Les échantillons sont conservés par déshydratation selon la méthode de **MC Kinney et al. (1965)**, simplifiée par **Bos (1969)**. Les feuilles sont finement découpées et réparties en échantillons de 1g de tissu frais dans des coupelles de papier filtre. Celle-ci sont disposées sur une couche de chlorure de calcium (CaCl_2) dans une boîte de Pétri fermée hermétiquement par un parafilm. Ces boîtes sont conservées à 4°C.

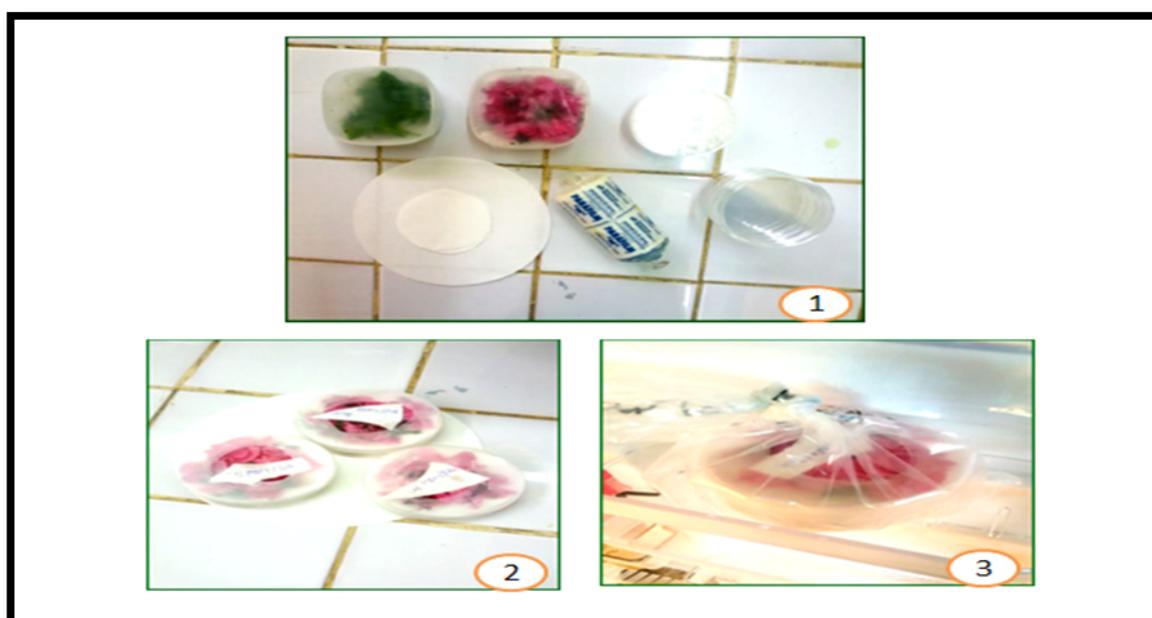


Figure 29: Méthode d'échantillonnage (Personnelle, 2017).

1: les échantillons de la conservation, **2:** boites de Pétri contenant les échantillons,

3: conservation à 4°C.

2.2.1.2. La méthode classique

Après le prélèvement les échantillons sont mis dans des sacs et conservés à 4°C pour éviter toute dénaturation du virus jusqu'à leur utilisation pour le test sérologique.

2.2.2. Collecte des pucerons

Durant la campagne arboricole (2016-2017) la collecte des pucerons a été faite selon la méthode de diagonale. Dans ce protocole uniquement 10 échantillons sont prélevés par parcelle.

Les pucerons vivantes collectés sont mis dans des boites de Pétri contenant du papier buvard humecté.

2.2.3. Identification des pucerons

Après leurs prélèvement ; les pucerons sont mis dans des eppindoffs contenant 30% d'eau distillée et 70% d'éthanol pour la conservation. L'identification été faite au niveau du laboratoire de zoologie à l'aide de docteur Haronne.



Figure 30 : Méthode de conservation des échantillons (Personnelle, 2017).

2.2.4. Méthode de montage

A▪ Après avoir piqué les pucerons à l'aide d'une épingle entomologique sur la face abdominale, entre le 4^{ième} et le 6^{ième} sternite abdominale (Fig 31.1), les pucerons sont plongés dans une solution de potasse à 10% à chaud pendant 3 à 4 mn selon leur taille et leur couleur (Fig 31.2).

B▪ Nettoyer ou dégraisser les pucerons avec de l'eau distillée.

C▪ Transférer les pucerons dans une solution de chloral phénol à chaud pendant 3 à 4 mn afin de rendre les spécimens plus transparents (Fig 31.3 et 4).

D▪ Monter les pucerons dans une lame contenant le milieu de montage (Fig31.5,6) à l'aide d'une épingle et les étaler sur la face ventrale pour une observation à l'aide d'une loupe binoculaire (Fig31.7 et 8). la fixation des pucerons sur les lames et leurs identifications (Fig31.9).

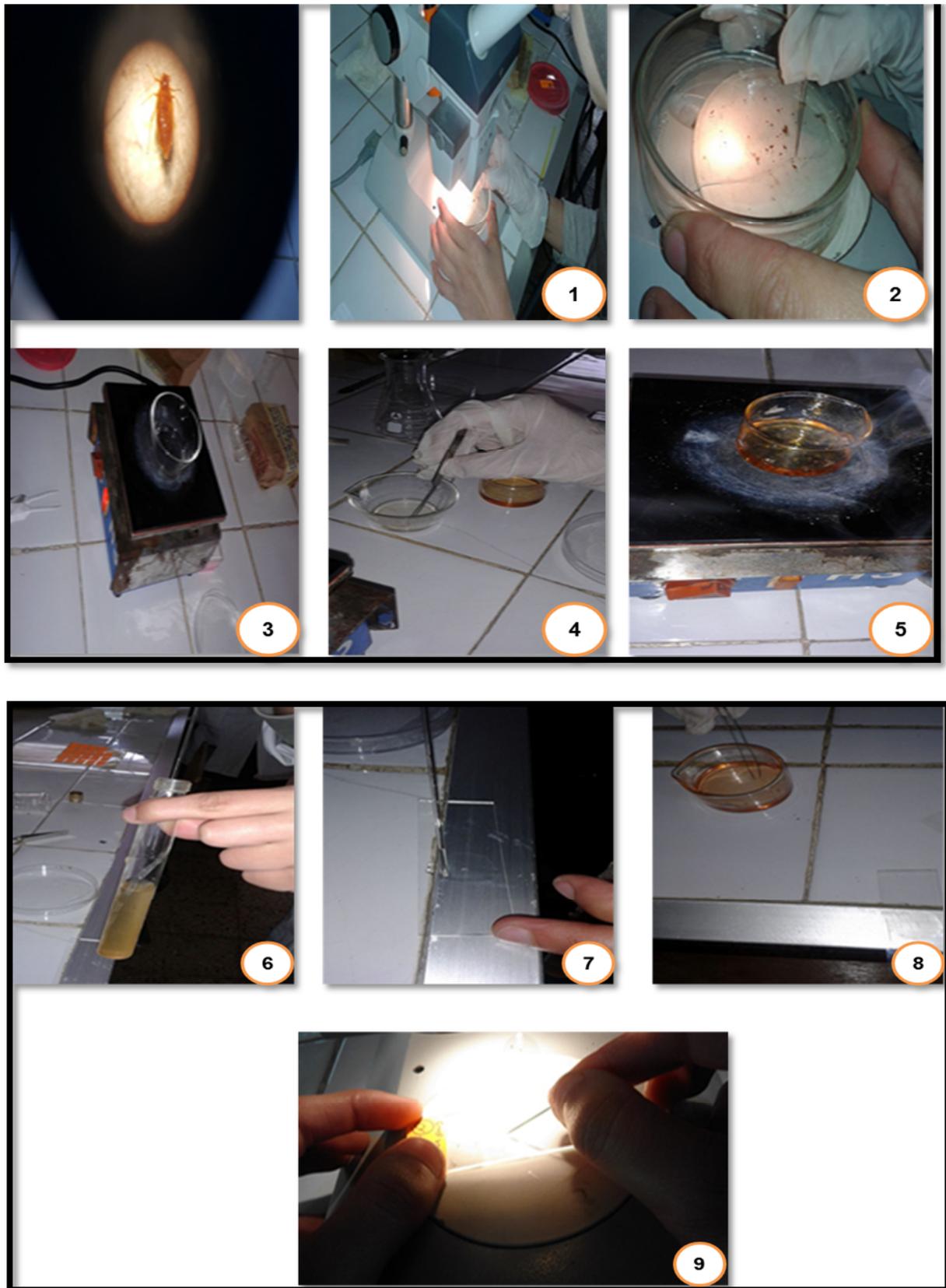


Figure 31 : Etapes du test de montage (Personnelle, 2017).

2.3. Méthode d'inoculation mécanique

2.3.1. Préparation des plantes indicatrices

Les semences de pois sont trempées dans une solution contenant 25 ml de l'eau javel à 32° et 225 ml de l'eau distillée pendant 20 min, puis rincée à l'eau distillée. Les semences ont subis une pré-germination de 3 à 4 jours à l'étuve (25°C) (Fig32.1). Par la suite elles sont déposées à raison de 1 grain par pot (Fig32.2), dans un mélange de 1/3 de tourbe et 2/3 de terre. Les plantules sont élevées à une température de 25° à 30°C à la serre de virologie (Fig32.3), l'irrigation des plantules a été effectuée tous les jours.



Figure 32 : Etapes de préparation des plantes indicatrices (Personnelle, 2017).

2. Transmission non persistante

Les pucerons aptères soupçonnés virulifères , sont déposés pour une période d'incubation sur les plantules de pois au stade 3 à 4 feuilles. Le nombre de plantules

utilisées pour chaque espèce de pucerons est de 10 et sa pour chaque répétition complété d'un témoin négatif comme référence. Pour chaque répétition 8 à 10 pucerons collectés sont déposés à l'aide d'un pinceau légèrement humecté (Fig33.1). Puisque, la transmission est selon le mode non persistant après quelque minutes les pucerons doivent être éliminés mécaniquement. Les plantules sont maintenues sous serre jusqu' à l'apparition des symptômes (Fig33.2).



Figure 33 : Etapes de la transmission non persistante (Personnelle, 2017).

2.4. Détection immuno enzymatique

2.4.1. Principe de test ELISA

Le test Elisa (Enzyme Linked Immuno Sorben tAssay) est une réaction sérologique entre antigène et anticorps « sérum » couplée à une enzyme phosphatase alcaline avec un substrat le pNPP (para-nitrophényl phosphate) par une réaction d'hydrolyse.

Il existe deux variantes de la méthode Elisa, la DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-ELISA) et la TAS-ELISA (Triple Antibody Sandwich). Dans notre travail la DAS-ELISA a été utilisée. L'anticorps spécifique est conjugué à une enzyme, la phosphatase alcaline qui est en mesure de déclencher la réaction colorée du substrat. Cette technique permet de détecter de très petites quantités de virus, elle est très sensible et rapide. Le sérum utilisé est un Kit BIOREBA AG.



Figure 34 : Kit complet de DAS-ELISA de BIOREBA (Personnelle 2017).

2.4.2. Technique DAS-ELISA direct

Le protocole ELISA qui est utilisé le plus souvent est appelé ELISA sandwich à 2 anticorps (DAS-ELISA). Dans ce cas de figure, l'antigène se trouve entre 2 anticorps spécifique. L'utilisation de la DAS-ELISA nécessite de posséder 2 anticorps (polyclonaux) reconnaissant des épitopes différents sur l'antigène.

2.4.3. Extraction des virus

Les fleurs et les feuilles collectées peuvent servir pour les analyses. Les feuilles les mieux adaptées au dépistage viral sont de jeunes feuilles prélevées au printemps.

Tous les échantillons de feuilles prélevés du terrain sont pesés individuellement, 1g de feuilles fraîches sont broyées séparément à l'aide d'un broyeur dans 5 ml de solution tampon d'extraction spécial « PPV » dans les sacs d'extraction. On dilue l'extrait végétal au 1/20 dans le tampon d'extraction (la nature du tampon d'extraction ainsi que le taux de dilution peut varier selon les échantillons ; on se reporte à la fiche « information produit » du réactif).



Figure 35 : Broyage des feuilles à l'aide d'un broyeur (Personnelle, 2017).

Les jus des échantillons sont conservés dans les sacs d'extraction à froid à une température 4°C.



Figure 36 : Sacs de broyage (Personnelle, 2017).

2.4.4. Protocole

La première étape « Coating » : Sensibilisation des microplaques avec un anticorps spécifiques

On dilue au 1/1000 les anticorps de coating (IgG) dans le tampon de coating (Fig37.1) ; i.e. 20 μ IgG dans 20 ml de tampon. On ajoute 200 μ l de la solution obtenue dans chaque puits de la plaque de microtitration (Fig37.2).



Figure 37 : Fixation des anticorps polyclonaux (Personnelle, 2017).

Les plaques de microtitration sont recouvertes de parafilm et incubées 4 h à 30°C dans l'étuve (Fig38.1).

Les plaques de microtitration sont vidées et lavées au moins 3 fois avec le tampon de lavage (Fig38.2). On élimine tout le liquide en tapant les plaques sur du papier absorbant.



Figure 38 : Lavage de la plaque (Personnelle, 2017).

Deuxième étape « Echantillon » : incubation de l'extrait de plante (antigène)

Un volume de 200 μ l est déposé par puits dans la plaque de microtitration (Fig 2.39). Ces dernières sont recouvertes par du parafilm et conservées à 4°C pendant une nuit.

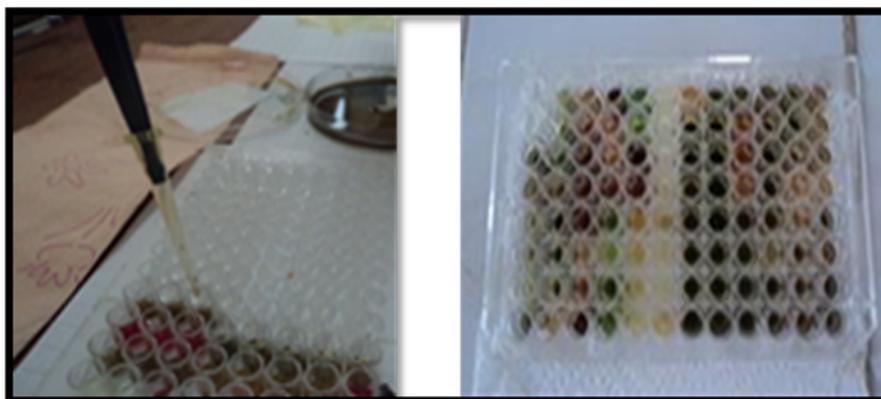


Figure 39 : Dépôt de l'extrait des feuilles « antigène » (Personnelle, 2017).

Le lendemain un deuxième lavage est effectué.

Troisième étape « conjugués » : Incubation avec les anticorps conjugués à l'enzyme (conjugate)

On dilue au 1/1000 les anticorps conjugués dans le tampon de conjugué (Fig40.1). On ajoute 200 μ l de la solution obtenue par puits (Fig40.2).



Figure 40 : Dépôt de l'anticorps conjugués à l'enzyme (Personnelle, 2017).

Les plaques de microtitration sont recouvertes de parafilm est incubées 5 h à 30 °C. Un troisième lavage plaques de microtitration doit être effectué.

Quatrième étape « Substrat » : une réaction colorée indique la présence d'un échantillon infecté

On dilue les pastilles de substrat PNPP à 1 mg/ml dans le tampon de substrat (Fig 41.1). On ajoute 200 μ l de la solution obtenue par puits (Fig 41.2).

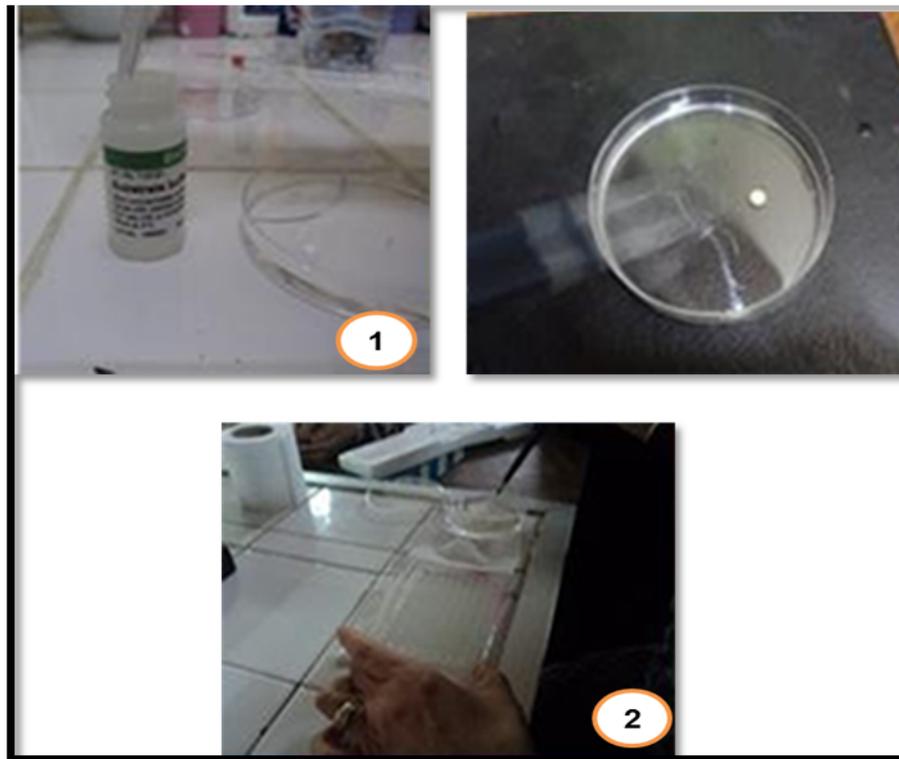


Figure 41 : Addition du substrat de l'enzyme (Personnelle, 2017).

Les plaques de microtitration sont incubées à une température ambiante (20 et 25°C) à l'obscurité.

2.4.5. Lecture des résultats

On observe la réaction de l'hydrolyse du substrat et on note le développement de la coloration entre 30 et 120 minutes visuellement et en utilisant un spectrophotomètre à 405 nm.

La lecture par le lecteur ELISA donne les densités optiques (DO) de chaque échantillon. Un échantillon est considéré positif quand sa DO est supérieure ou égale 2 fois la DO du témoin sain.



Figure 42 : Lecteur ELISA utilisé (Personnelle, 2017).

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

$$\text{Taux d'infection} = \frac{\text{Nombre de plants positifs}}{\text{Nombre de plants testés}} \times 100$$

CHAPITRE III :

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Symptômes observés sur terrain:

Lors de notre expérimentation sur le terrain on a observé des symptômes similaires à ceux de *la Sharka*, ainsi que l'intensité, le type et aussi la dispersion de ces symptômes peut varier d'un site à un autre.

3.1.1. Symptômes sur abricotier:

Les symptômes observés dans les stations prospectées (les stations de Guerrouaou, département de Blida) présentaient des décolorations foliaire (Fig 43,1), gomme sur feuille (Fig 43,2), des enrroulements (Fig43,3), des taches nécrotiques (Fig43,4), des éclaircissements internervaires (Fig43 ,5), éclaircissements des nervures (Fig43,6), des jaunissements (Fig43,7).

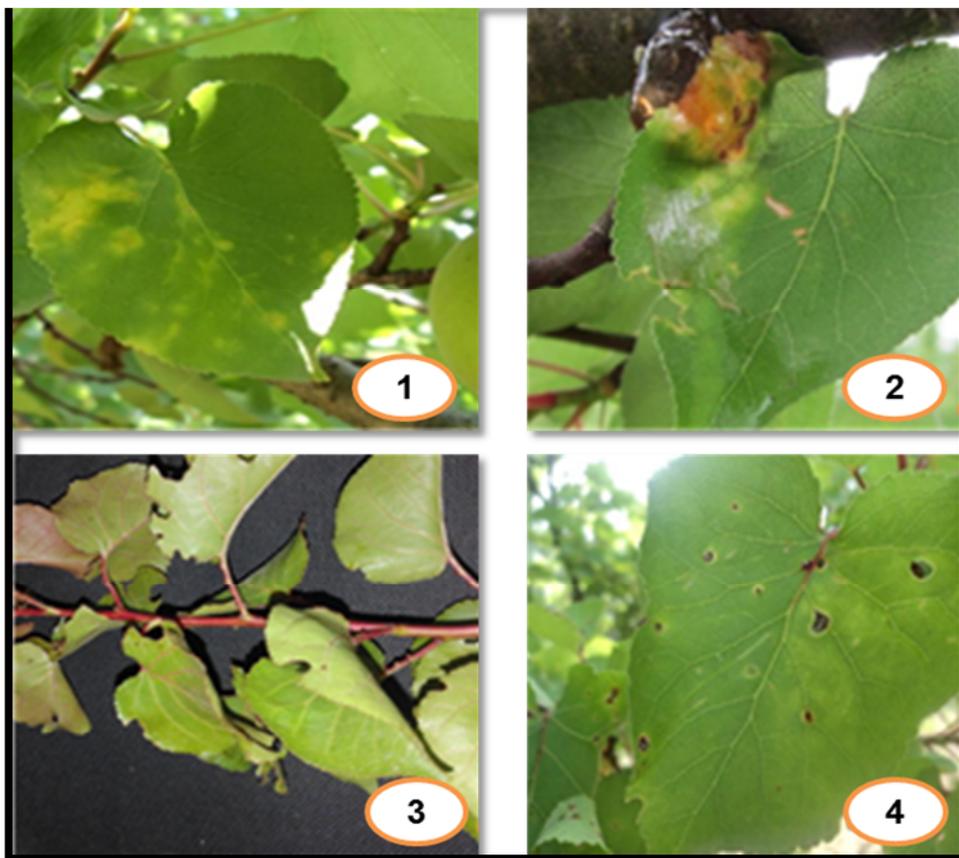


Figure 43: Symptômes du Sharka observés sur abricotier (Personnelle ; 2017).

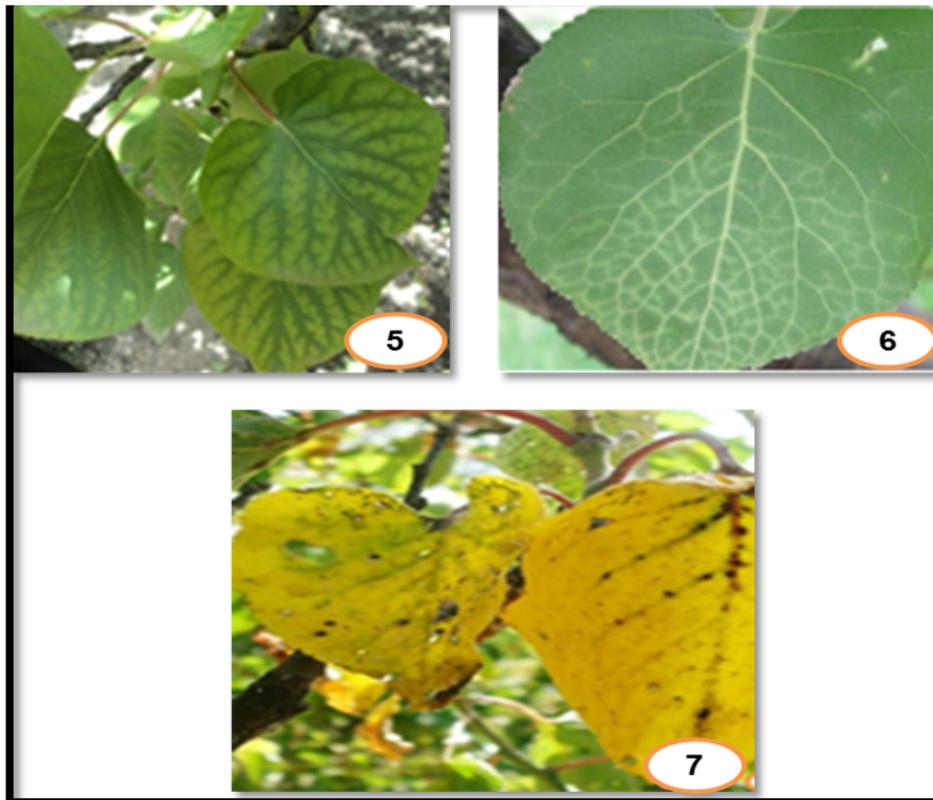


Figure 43: Symptômes du Sharka observés sur abricotier (Personnelle ; 2017).

1 : décolorations foliaire .2 : gomme sur feuille. 3 : enroulements. 4 : taches nécrotiques. 5 : des éclaircissements internervaires. 6 : éclaircissements des nervures. 7 : jaunissements.

3.1.2. Symptômes sur prunier :

Les symptômes observés dans les stations Soumaa département de Blida, ben chicoa présentaient des taches nécrotiques (Fig 44.1), des enroulements des feuilles (Fig 44.2), des brûlures sur les côtés des feuilles (Fig 44,3) , anneaux et bandes chlorotiques sur feuilles (Fig 44,4), Eclaircissements internervaires (Fig 44,5), déformation des fruits (Fig 44,6).

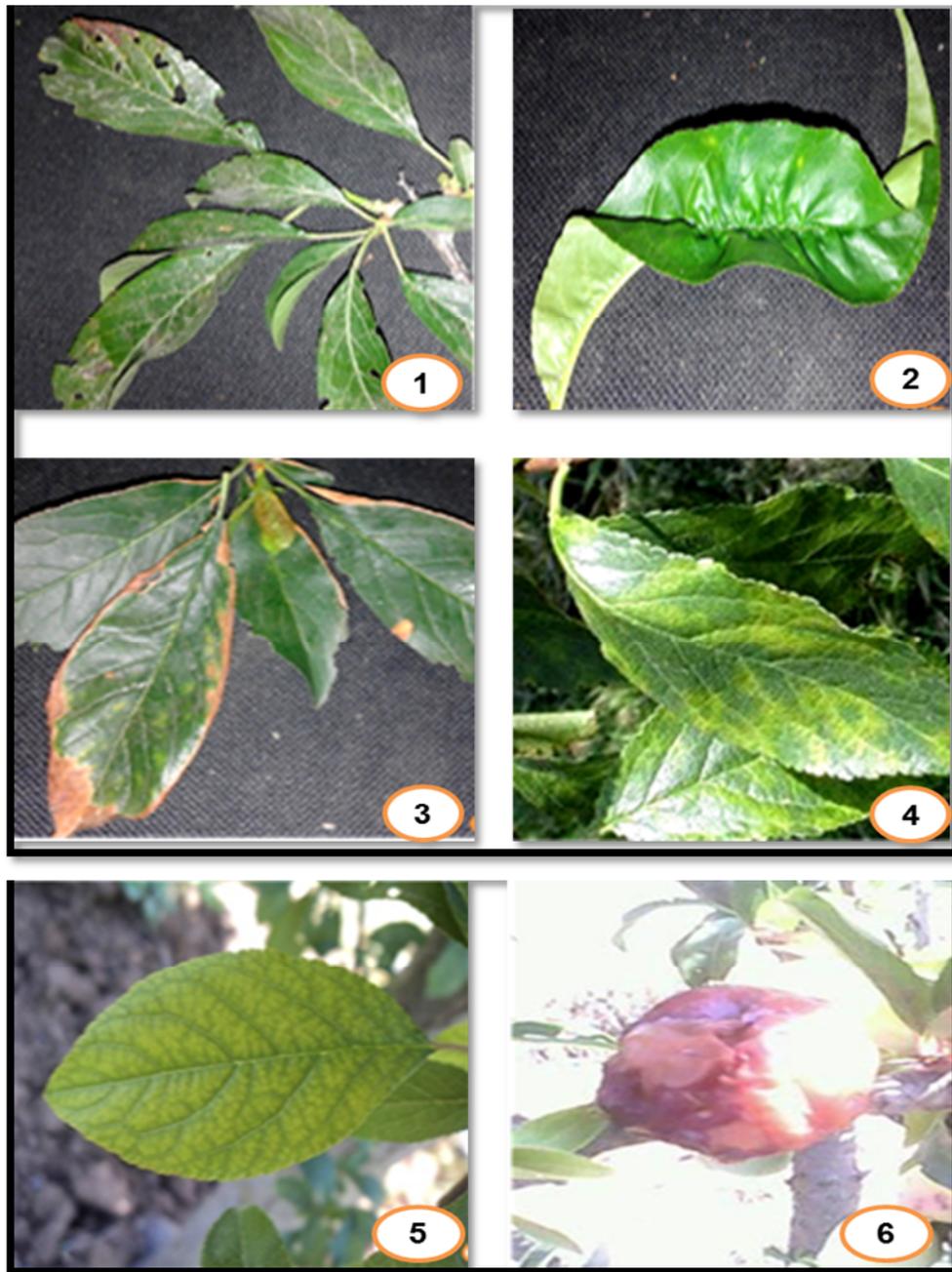


Figure 44: Symptômes du *Sharka* observés sur prunier (Personnelle; 2017).

1 : des taches nécrotiques. 2 : des enrroulements des feuilles. 3 : des brulures sur les côtés des feuilles. 4 : anneaux et bandes chlorotiques sur feuilles. 5 : Eclaircissements internervaires. 6 : déformation des fruits.

3.1.3 Symptômes sur pêcher et nectarine

Les prospections effectuées dans les stations de Meftah, Mouzaia, Guerrouaou, révélaient la présence des symptômes suivants : des Jaunissement éclaircissement des nervures (Fig 45, 1), Mosaïque jaune (Fig 45.2),

Rétrécissement du limbe (Fig 45.3), Enroulement des feuilles (Fig 45.4), Eclaircissements internervaires (Fig 45.5).

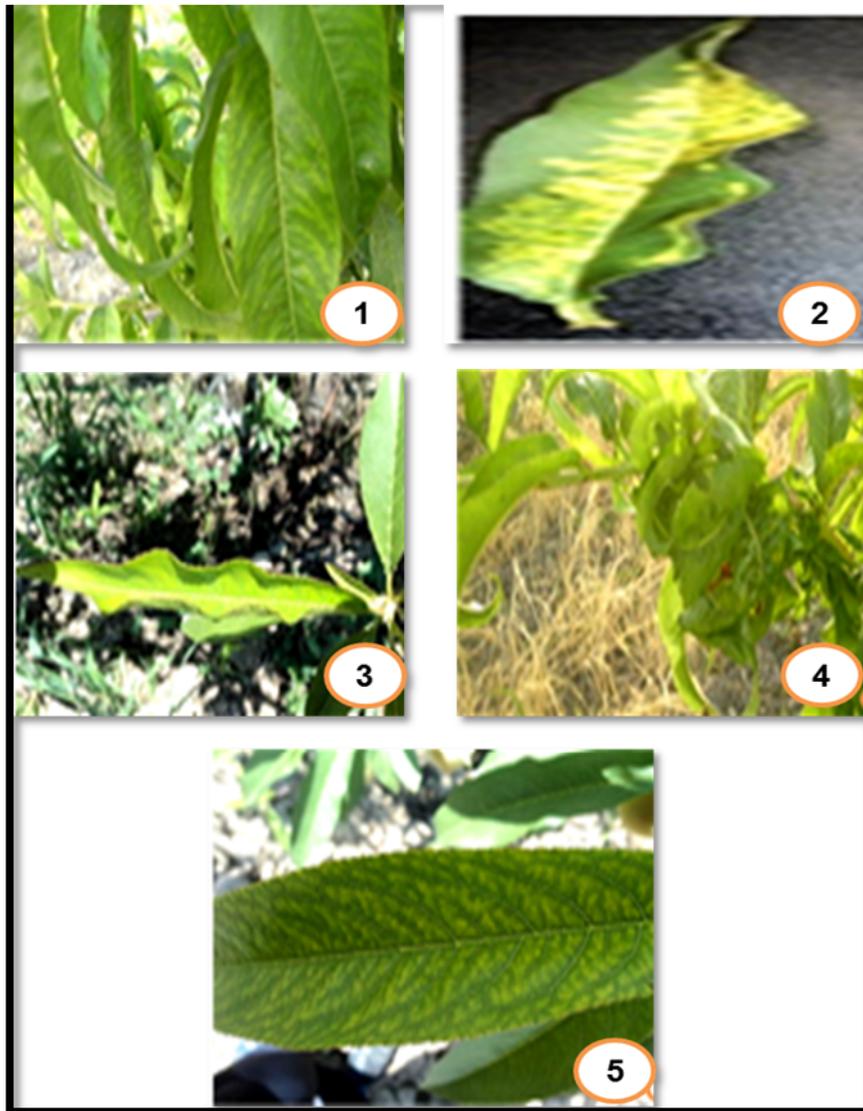


Figure 45: Symptômes du Sharka observés sur prunier (Personnelle ; 2017).

1 : des Jaunissement éclaircissement des nervures. 2 : Mosaïque jaune. 3 : Rétrécissement du limbe. 4 : Enroulement des feuilles. 5 : Eclaircissements internervaires .

3.2. Discussion:

Les symptômes observés sur pêcher, prunier et abricotier étaient similaires à ceux cités en bibliographie et rappelaient ceux de la Sharka. Et aussi sont identiques à ceux déjà observés par Mohamed Bouziane (2002); Bouafia (2003); Rabhi (2004); Ben youssef (2006); Boutebba (2011); Bouafia et Abbad (2012); Bouriah et Souaber (2013) où les symptômes étaient des chloroses suivies de nécroses, des rétrécissements, des jaunissements, des éclaircissements nervaires et

internervaires, des arabesques, des mosaïques jaunes et des enroulements sur feuilles. Des décolorations, des déformations des fruits. Des gommages sur feuilles, et fruits

L'apparition de ces symptômes est le résultat de la réplication et la dissémination du *PPV* dans ces cultures fruitières.

Les symptômes étaient variables d'une espèce fruitière à une autre selon leur sensibilité aux pucerons vecteurs et par la suite au *PPV*. De même, ils ont été différents d'un site à un autre

Par les résultats obtenus dans les travaux cités ci-dessus (Mohamed Bouziane 2002), Rabhi (2004), Ben youssef (2006), Abbas moussa; Boutebba (2011), Bouafia; Abbad (2012) et Bouriah et Souaber (2013) et par nos résultats de la campagne en cours il ressort que les vergers du pêcher présentant les symptômes les plus clairs de la Sharka se trouvent dans les sites suivants: la station expérimentale du département biotechnologie ex. Agronomie de Blida1, Soumaa, Chebli, Guerouaou. Tandis que sur l'abricotier les symptômes étaient très sévères au niveau des vergers de la station expérimentale du département biotechnologie ex. Agronomie de Blida1, et Soumaa. Sur prunier, les symptômes étaient dommageables au niveau de Guerouaou.

3.2. Distribution des pucerons vecteurs de la Sharka

Les résultats d'identification des pucerons ont montré la présence de 5 espèces dont *Hyalopterus pruni*, *Brachycaudus cardui*, *Myzus persicae*, *Myzus varians* connues vectrices secondaires du *PPV* et une nouvelle espèce *Brachycaudus schwartzi*.

3.2.1. Pucerons vecteurs secondaires

3.2.1.1. *Hyalopterus pruni*

Ce puceron observé sur l'abricotier de la station expérimentale du département biotechnologie (Agronomie de Blida 1), Guerrouaou sur prunier à Soumaa et Ben chicao (Fig3.46) ; avec un nombre considérable dans la plupart des vergers surtout au niveau de la station expérimentale.



Figure 46 : Individus du puceron *Hylapterys pruni* observé sous loupe

(G10 × 2.5) (Personnelle 2017).

3.2.2. *Brachycaudus cardui*

Ce puceron a été observé sur pêcher à la station de Meftah et Mouzaia (Fig, 3.47) à la fin du moi mai avec une forte densité de population sur les arbres ce qui a causé des enrroulements prononcés sur les feuilles.



Figure 47 : Individu adulte de *Brachycaudus cardui* observé sous loupe (G 10×2.5)

(Personnelle ; 2017).

3.2.3. *Myzuspersicae*

Ce puceron a été observé sur prunier de la station de Soumaa (Fig, 3.48). La forte densité de sa population a causé l'enroulement sur les feuilles ce qui a arrêté la maturité de certains arbres.



Figure 48 : Individus du puceron *Myzuspersicae* observé sous loupe (G 10× 2.5)
(Personnelle ; 2017).

3.2.4. *Myzus variant*

Ce puceron observé sur prunier à Soumaa (Fig, 3.49) la forte densité de la population de ce puceron a causé l'enroulement sur les jeunes feuilles.

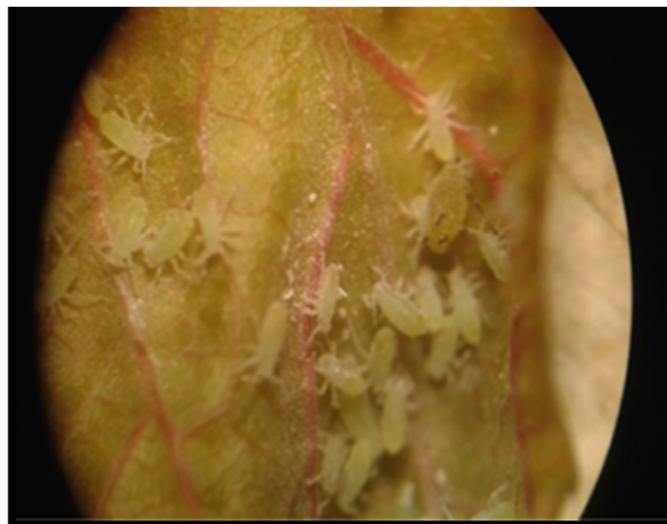


Figure 49 : Individus du puceron *Myzus variant* observé sous loupe (G 10× 2.5)
(Personnelle, 2017).

3.2.5. *Brachycaudus Schautzi*

Ce puceron observé sur pêcher à la station expérimental du département biotechnologie (Agronomie de Blida 1) (Fig 3.50), avec un nombre considérable dans la plupart des arbres.



Figure 50 : Individu du puceron *Brachycaudus Schautzi* (*Puceron brun de pêcher*) observé sous loupe (G 10× 2.5) (Personnelle ; 2017).

3.2. Discussion

D'après les résultats d'identification des pucerons et par la comparaison avec des études faites durant les campagnes arboricoles Mohamed Bouziane (2002), Rabhi (2004), Ben yousef (2006), Abbas moussa et Boutebba (2011), Bouafia et Abbad (2012), Bouriah et Souaber (2013), on remarque que *H. pruni*, *M. persicae* étaient pratiquement présente et avec des densité considérables. Donc on peut conclure que ces deux pucerons sont des vecteurs potentiels du *PPV* en Algérie.

La sévérité de ces espèces vectrices est variable d'une année en année et d'une station à une autre. Cette variation est due aux plusieurs facteurs en citant les changements climatiques (température, précipitation), l'utilisation des produits phytosanitaires et les traitements anti-pucerons qui peuvent selon leurs efficacités jouer la densité des pucerons mais on peut enregistrer aussi des cas où les pucerons peuvent développer une résistance contre ces traitements. Mais et elle peut varier selon l'hôte, le cultivar, la souche du *PPV* et l'âge de l'arbre infecté (Anonyme 1. 2013).

3.3. Détection biologique de *la Sharka*

3.3.1. Résultats de la transmission non persistants

Après 15 jours d'inoculation, les plantules de pois ont exprimée des symptômes de types : enrroulement, nanisme, jaunissement, déformation et dépérissement (Fig3.51).

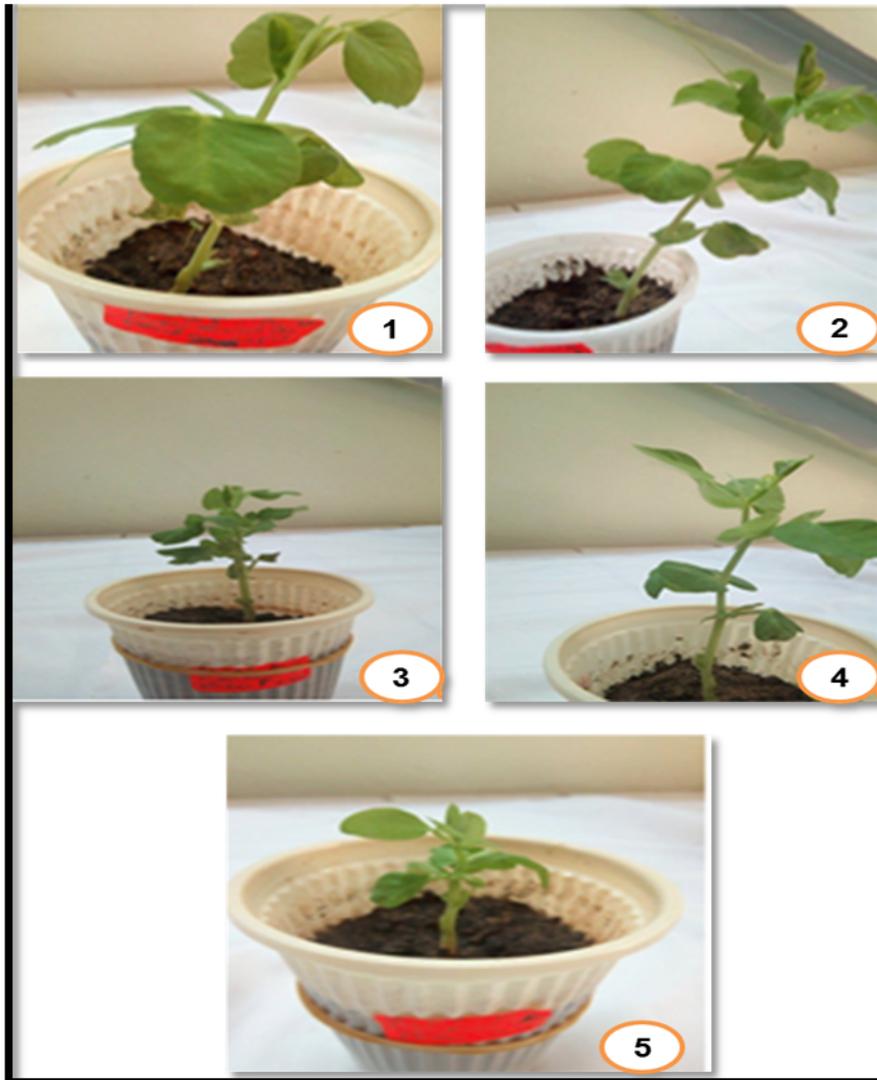


Figure 51 : Symptômes du *PPV* sur les plantules de pois inoculés par les pucerons (Personnelle ; 2017).

1: Jaunissement, déformation de limbe. 2: Nécrose, Eclaircissement du nervure et début de jaunissement. 3: Déformation foliaire. 4: Jaunissement partielle. 5: Dépérissement.

3.3.2. Discussion :

Des symptômes caractéristiques du *PPV* ont été observés sur les plants du pois utilisés pour la transmission, ces symptômes sont de types Jaunissement, Nécrose, Eclaircissement, Déformation et Dépérissement. Ces symptômes ont été déjà observés pendant les travaux (2004), (2011), (2012), (2013) et (2016). Le *PPV* est biologiquement caractérisé par un panel standard de symptômes induits sur plantes indicatrices comme rapporté par Bousalem M (1995).

Par les différents symptômes observés sur les plants du pois, on remarque que le Jaunissement et la déformation étaient les plus prononcés.

3.4. Résultats de détection sérologique de virus de la Sharka

3.4.1. Résultat du test ELISA

Concernant les résultats du test sérologique DAS-ELISA, sur 94 échantillons prélevés de différentes stations (Ben chicao, mouzaia, Meftah, Soumaa, Guerrouaou, département de Blida) et différentes variétés : Belinda (abricotier), Chèr Blanche (pêcher), Néctarine, Santamaria (prunier), Duroncina, B.Moreau, Giorgia, Stella, Sunburst, New star, B.Napoleon et B. Burlat (cerisier) aucun échantillon n'a répondu positivement au test de même que le témoin positif. Vu la non disponibilité du sérum il nous a été impossible de refaire la manipulation pour pallier à ce problème.

3.1. Symptômes observés sur terrain:

Lors de notre expérimentation sur le terrain on a observé des symptômes similaires à ceux de *la Sharka*, ainsi que l'intensité, le type et aussi la dispersion de ces symptômes peut varier d'un site à un autre.

3.1.1. Symptômes sur abricotier:

Les symptômes observés dans les stations prospectées (les stations de Guerrouaou, département de Blida) présentaient des décolorations foliaire (Fig 43,1), gomme sur feuille (Fig 43,2), des enrroulements (Fig43,3), des taches nécrotiques (Fig43,4), des éclaircissements internervaires (Fig43 ,5), éclaircissements des nervures (Fig43,6), des jaunissements (Fig43,7).

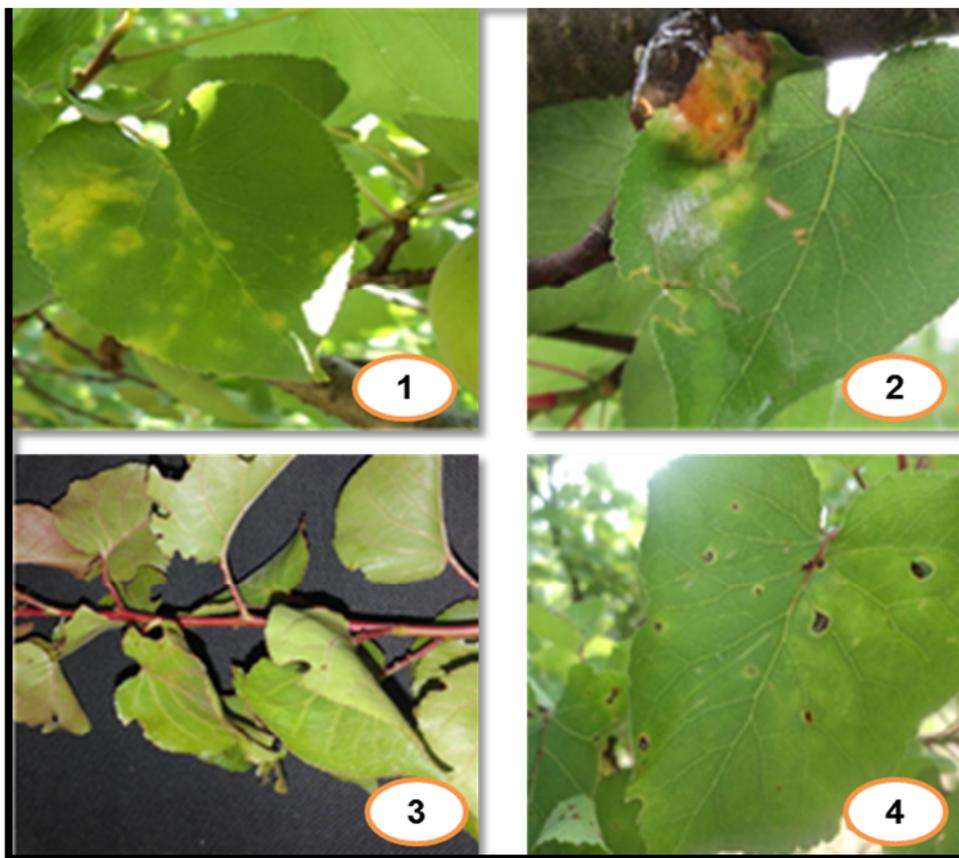


Figure 43: Symptômes du Sharka observés sur abricotier (Personnelle ; 2017).

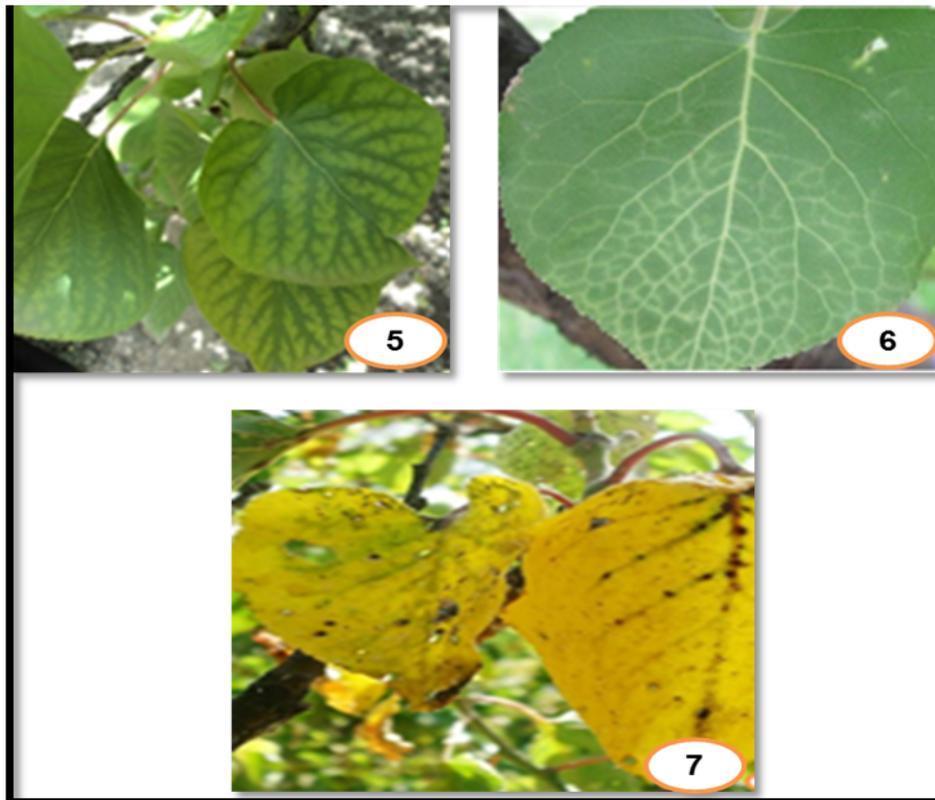


Figure 43: Symptômes du Sharka observés sur abricotier (Personnelle ; 2017).

1 : décolorations foliaire .2 : gomme sur feuille. 3 : enroulements. 4 : taches nécrotiques. 5 : des éclaircissements internervaires. 6 : éclaircissements des nervures. 7 : jaunissements.

3.1.2. Symptômes sur prunier :

Les symptômes observés dans les stations Soumaa département de Blida, ben chicoa présentait des taches nécrotiques (Fig 44.1), des enroulements des feuilles (Fig 44.2), des brûlures sur les côtés des feuilles (Fig 44,3) , anneaux et bandes chlorotiques sur feuilles (Fig 44,4), Eclaircissements internervaires (Fig 44,5), déformation des fruits (Fig 44,6).

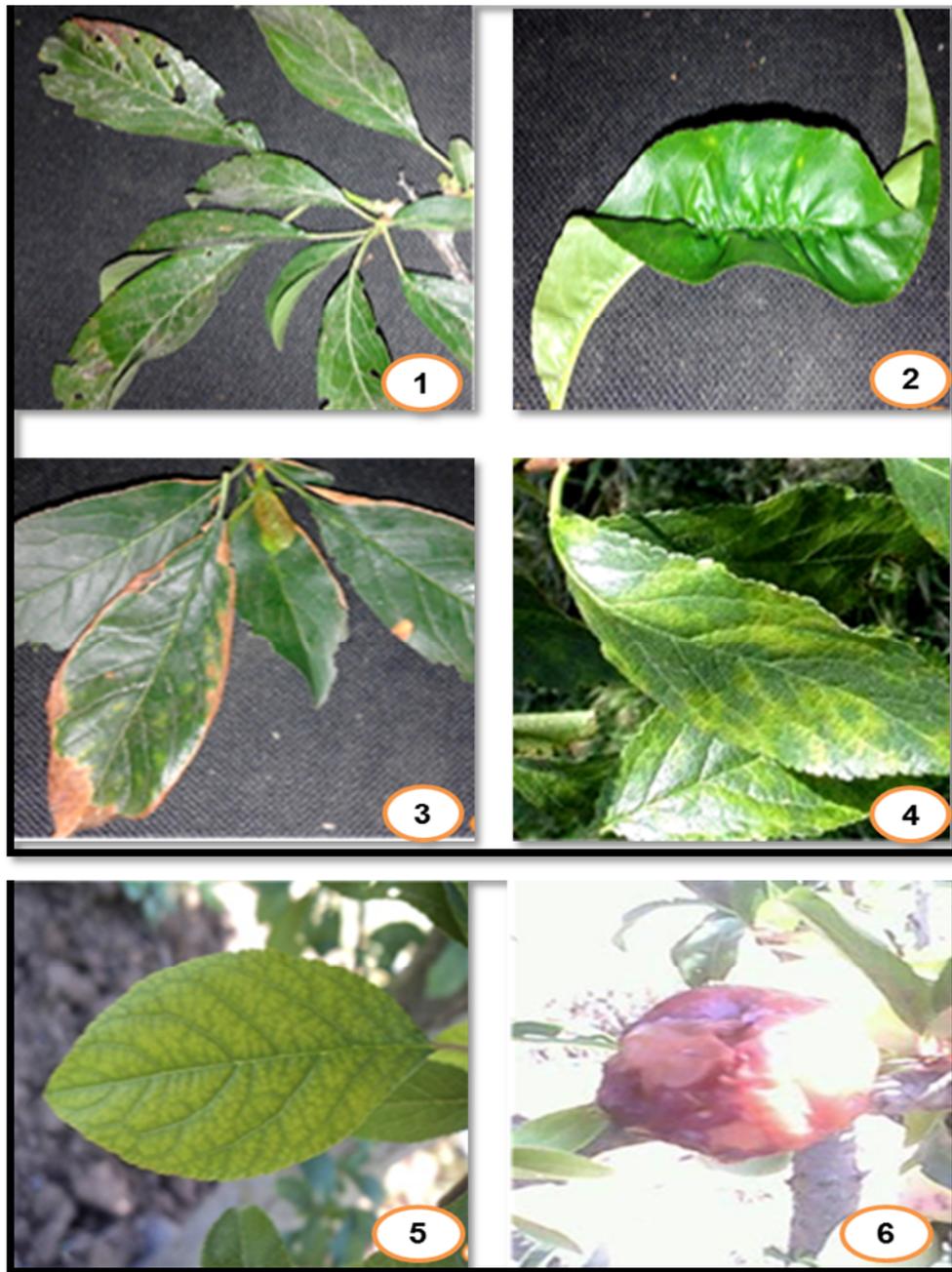


Figure 44: Symptômes du *Sharka* observés sur prunier (Personnelle; 2017).

1 : des taches nécrotiques. 2 : des enroulements des feuilles. 3 : des brûlures sur les côtés des feuilles. 4 : anneaux et bandes chlorotiques sur feuilles. 5 : Eclaircissements internervaires. 6 : déformation des fruits.

3.1.3 Symptômes sur pêcher et nectarine

Les prospections effectuées dans les stations de Meftah, Mouzaia, Guerrouaou, révélait la présence des symptômes suivants : des Jaunissement éclaircissement des nervures (Fig 45, 1), Mosaïque jaune (Fig 45.2),

Rétrécissement du limbe (Fig 45.3), Enroulement des feuilles (Fig 45.4), Eclaircissements internervaires (Fig 45.5).

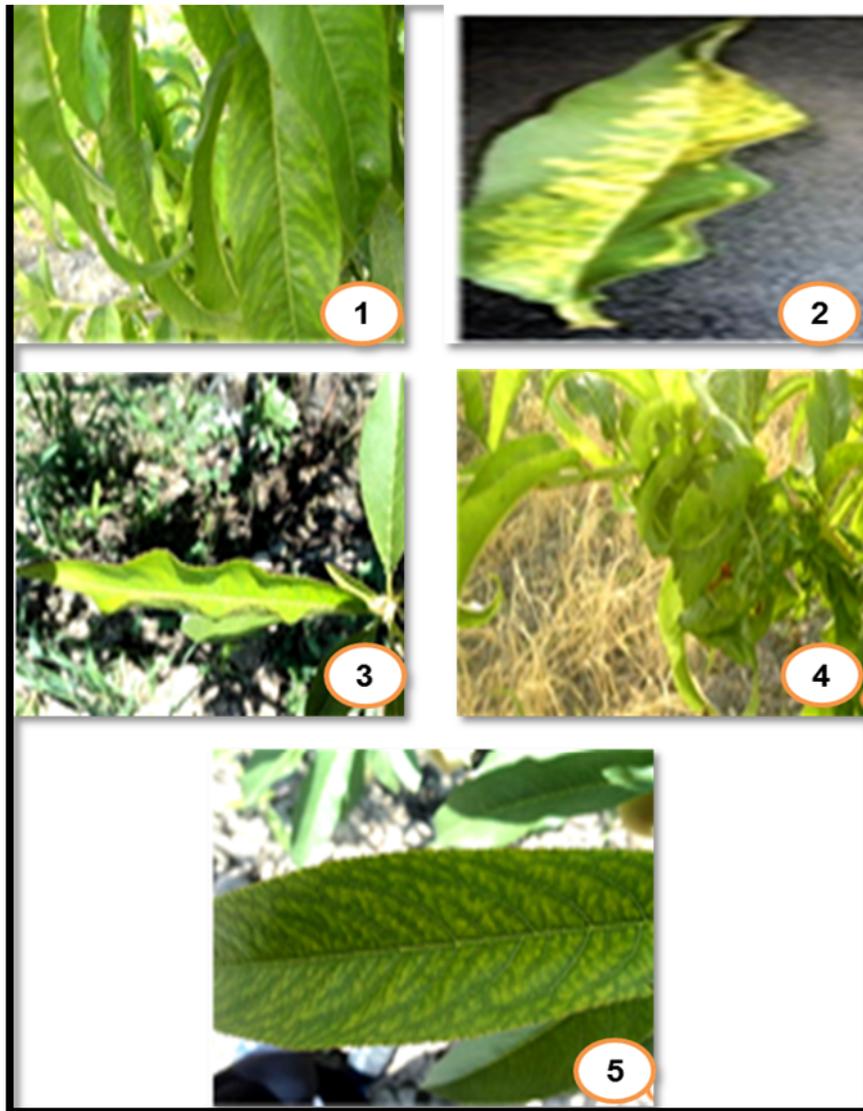


Figure 45: Symptômes du Sharka observés sur prunier (Personnelle ; 2017).

1 : des Jaunissement éclaircissement des nervures. 2 : Mosaïque jaune. 3 : Rétrécissement du limbe. 4 : Enroulement des feuilles. 5 : Eclaircissements internervaires .

3.2. Discussion:

Les symptômes observés sur pêcher, prunier et abricotier étaient similaires à ceux cités en bibliographie et rappelaient ceux de la Sharka. Et aussi sont identiques à ceux déjà observés par Mohamed Bouziane (2002); Bouafia (2003); Rabhi (2004); Ben youssef (2006); Boutebba (2011); Bouafia et Abbad (2012); Bouriah et Souaber (2013) où les symptômes étaient des chloroses suivies de nécroses, des rétrécissements, des jaunissements, des éclaircissements nervaires et

internervaires, des arabesques, des mosaïques jaunes et des enroulements sur feuilles. Des décolorations, des déformations des fruits. Des gommages sur feuilles, et fruits

L'apparition de ces symptômes est le résultat de la réplication et la dissémination du *PPV* dans ces cultures fruitières.

Les symptômes étaient variables d'une espèce fruitière à une autre selon leur sensibilité aux pucerons vecteurs et par la suite au *PPV*. De même, ils ont été différents d'un site à un autre

Par les résultats obtenus dans les travaux cités ci-dessus (Mohamed Bouziane 2002), Rabhi (2004), Ben youssef (2006), Abbas moussa; Boutebba (2011), Bouafia; Abbad (2012) et Bouriah et Souaber (2013) et par nos résultats de la campagne en cours il ressort que les vergers du pêcher présentant les symptômes les plus clairs de la Sharka se trouvent dans les sites suivants: la station expérimentale du département biotechnologie ex. Agronomie de Blida1, Soumaa, Chebli, Guerouaou. Tandis que sur l'abricotier les symptômes étaient très sévères au niveau des vergers de la station expérimentale du département biotechnologie ex. Agronomie de Blida1, et Soumaa. Sur prunier, les symptômes étaient dommageables au niveau de Guerouaou.

3.2. Distribution des pucerons vecteurs de la Sharka

Les résultats d'identification des pucerons ont montré la présence de 5 espèces dont *Hyalopterus pruni*, *Brachycaudus cardui*, *Myzus persicae*, *Myzus varians* connues vectrices secondaires du *PPV* et une nouvelle espèce *Brachycaudus schwartzi*.

3.2.1. Pucerons vecteurs secondaires

3.2.1.1. *Hyalopterus pruni*

Ce puceron observé sur l'abricotier de la station expérimentale du département biotechnologie (Agronomie de Blida 1), Guerrouaou sur prunier à Soumaa et Ben chicao (Fig3.46) ; avec un nombre considérable dans la plupart des vergers surtout au niveau de la station expérimentale.



Figure 46 : Individus du puceron *Hylapterys pruni* observé sous loupe

(G10 × 2.5) (Personnelle 2017).

3.2.2. *Brachycaudus cardui*

Ce puceron a été observé sur pêcher à la station de Meftah et Mouzaia (Fig, 3.47) à la fin du moi mai avec une forte densité de population sur les arbres ce qui a causé des enrroulements prononcés sur les feuilles.



Figure 47 : Individu adulte de *Brachycaudus cardui* observé sous loupe (G 10×2.5)

(Personnelle ; 2017).

3.2.3. *Myzuspersicae*

Ce puceron a été observé sur prunier de la station de Soumaa (Fig, 3.48). La forte densité de sa population a causé l'enroulement sur les feuilles ce qui a arrêté la maturité de certains arbres.



Figure 48 : Individus du puceron *Myzuspersicae* observé sous loupe (G 10× 2.5)
(Personnelle ; 2017).

3.2.4. *Myzus variant*

Ce puceron observé sur prunier à Soumaa (Fig, 3.49) la forte densité de la population de ce puceron a causé l'enroulement sur les jeunes feuilles.

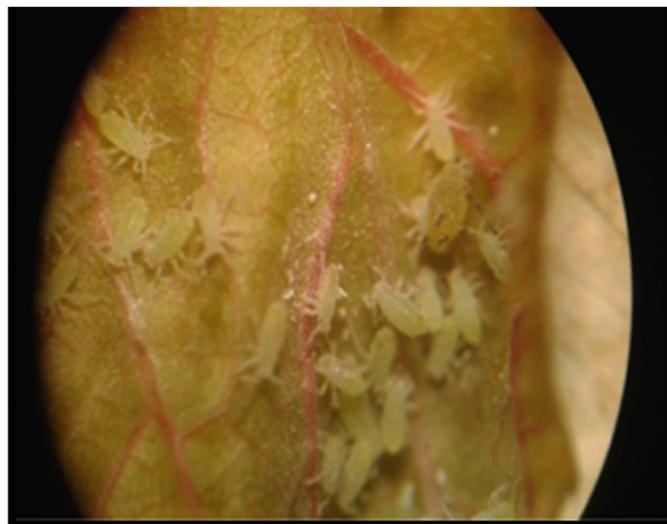


Figure 49 : Individus du puceron *Myzus variant* observé sous loupe (G 10× 2.5)
(Personnelle, 2017).

3.2.5. *Brachycaudus Schautzi*

Ce puceron observé sur pêcher à la station expérimental du département biotechnologie (Agronomie de Blida 1) (Fig 3.50), avec un nombre considérable dans la plupart des arbres.



Figure 50 : Individu du puceron *Brachycaudus Schautzi* (*Puceron brun de pêcher*) observé sous loupe (G 10× 2.5) (Personnelle ; 2017).

3.2. Discussion

D'après les résultats d'identification des pucerons et par la comparaison avec des études faites durant les campagnes arboricoles Mohamed Bouziane (2002), Rabhi (2004), Ben youssef (2006), Abbas moussa et Boutebba (2011), Bouafia et Abbad (2012), Bouriah et Souaber (2013), on remarque que *H. pruni*, *M. persicae* étaient pratiquement présente et avec des densité considérables. Donc on peut conclure que ces deux pucerons sont des vecteurs potentiels du *PPV* en Algérie.

La sévérité de ces espèces vectrices est variable d'une année en année et d'une station à une autre. Cette variation est due aux plusieurs facteurs en citant les changements climatiques (température, précipitation), l'utilisation des produits phytosanitaires et les traitements anti-pucerons qui peuvent selon leurs efficacités jouer la densité des pucerons mais on peut enregistrer aussi des cas où les pucerons peuvent développer une résistance contre ces traitements. Mais et elle peut varier selon l'hôte, le cultivar, la souche du *PPV* et l'âge de l'arbre infecté (Anonyme 1. 2013).

3.3. Détection biologique de *la Sharka*

3.3.1. Résultats de la transmission non persistants

Après 15 jours d'inoculation, les plantules de pois ont exprimée des symptômes de types : enrroulement, nanisme, jaunissement, déformation et dépérissement (Fig3.51).

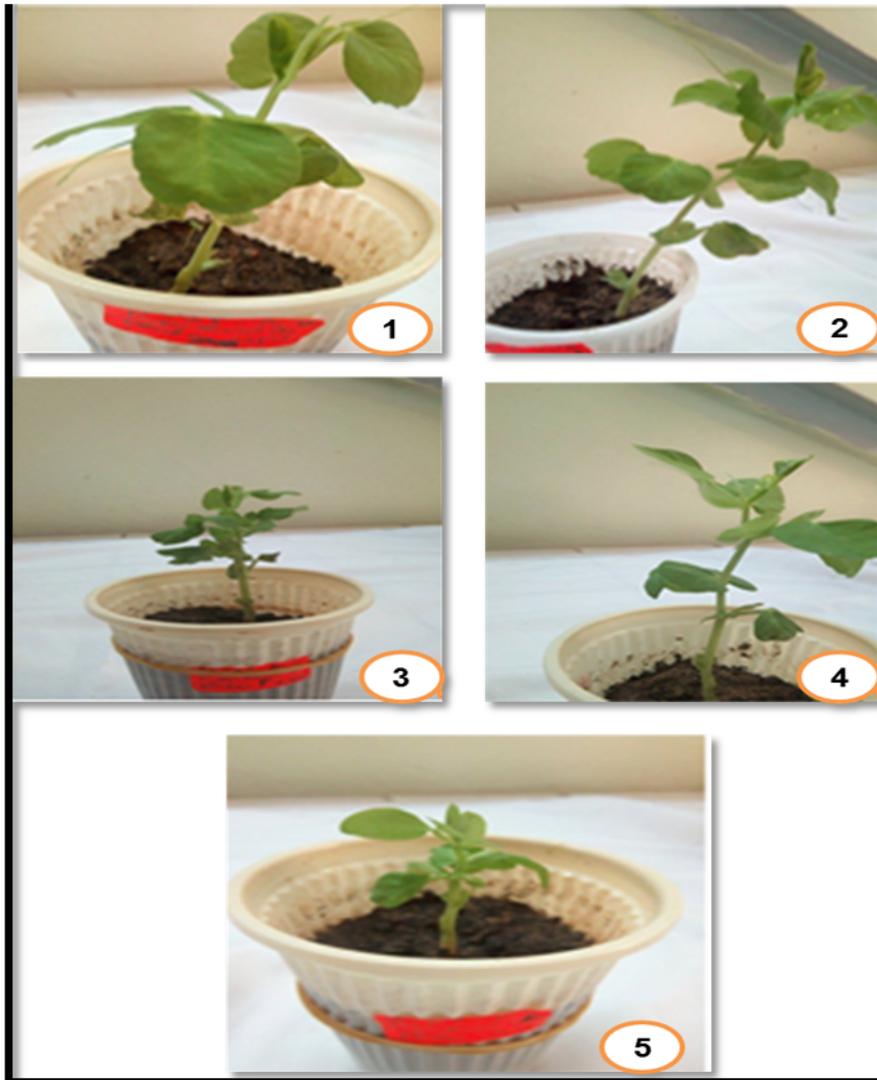


Figure 51 : Symptômes du *PPV* sur les plantules de pois inoculés par les pucerons (Personnelle ; 2017).

1: Jaunissement, déformation de limbe.2: Nécrose, Eclaircissement du nervure et début de jaunissement.3: Déformation foliaire.4: Jaunissement partielle.5: Dépérissement.

3.3.2. Discussion :

Des symptômes caractéristiques du *PPV* ont été observés sur les plants du pois utilisés pour la transmission, ces symptômes sont de types Jaunissement, Nécrose, Eclaircissement, Déformation et Dépérissement. Ces symptômes ont été déjà observés pendant les travaux (2004), (2011), (2012), (2013) et (2016). Le *PPV* est biologiquement caractérisé par un panel standard de symptômes induits sur plantes indicatrices comme rapporté par Bousalem M (1995).

Par les différents symptômes observés sur les plants du pois, on remarque que le Jaunissement et la déformation étaient les plus prononcé.

3.4. Résultats de détection sérologique de virus de la Sharka

3.4.1. Résultat du test ELISA

Concernant les résultats du test sérologique DAS-ELISA, sur 94 échantillons prélevés de différentes stations (Ben chicoa, mouzaia, Meftah, Soumaa, Guerrouaou, département de Blida) et différentes variétés : Belinda (abricotier), Chèr Blanche (pécher), Néctarine, Santamaria (prunier), Duroncina, B.Moreau, Giorgia, Stella, Sunburst, New star, B.Napoleon et B. Burlat (cerisier) aucun échantillons n'a répondu positivement au test de même que le témoin positif. Vu la non disponibilité du sérum il nous a été impossible de refaire la manipulation pour pallier à ce problème.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Au terme de notre étude, la première partie a consisté en une prospection qui s'est déroulée dans 6 sites sur divers cultivars à savoir: le pêcher, l'abricotier, le prunier, les cerisiers. L'observation effectuée concerne les délais d'apparition des symptômes sur les plants et la présence des pucerons vecteurs de *la Sharka*, celle-ci a permis de soupçonner la présence de *la Sharka*, dont les symptômes sont de type nécroses, chloroses, jaunissement, mosaïques, éclaircissement internervaires, réduction du calibre, et chute précoce des fruits, le dépérissement et nanisme. Le virus de *la Sharka* a été diagnostiqué sur des échantillons récoltés sur pêcher, sur abricotier, prunier et sur les cerisiers par l'inoculation biologique des plantules du pois par des espèces de pucerons identifiés étaient: *H. pruni*, *B. cardui* L, *M. persicae*, *M. varians*, avec une nouvelle espèce; *B. schwartzi* prélevés de tous les sites prospectés. Tous les pucerons vecteurs collectés étaient virulifères, et *H. pruni*, *M. persicae* étaient des vecteurs efficaces de la *Sharka*. Par ce travail on peut dire que la sévérité de cette maladie augmente d'année en année. Pour cela une infection quasi-totale dans les prochaines années et la perte définitive du verger n'est pas à exclure.

En perspectives il faut prévoir une lutte efficace afin d'éviter leur propagation dans des nouvelles régions agrumicoles, il serait essentiel d'arracher les arbres atteints, aussi d'entamer une lutte préventive plus que curative qui doit être basée sur la sélection, la multiplication par filiation, et la diffusion organisée de matériels fruitiers sans virus (greffons, semences, boutures...) et complétée par une lutte contre les vecteurs. De même que l'importation de l'étranger, de nouvelles variétés, si elles sont incontrôlées, vont favoriser l'introduction de nouvelles maladies. Dans les zones fortement touchées, certaines variétés tolérantes permettraient d'assurer une production régulière, même si la propagation du virus reste possible. Une autre possibilité consiste à produire des variétés hypersensibles au virus, sur lesquelles le virus ne peut pas se développer, limitant ainsi toute propagation de la maladie (les cellules infectées meurent rapidement, ce qui préserve l'arbre d'une infection systémique). L'application à long terme de cette stratégie nécessiterait alors une diversification de l'assortiment variétal hypersensible pour répondre au besoin du marché, et un renouvellement complet des variétés. Une solution intermédiaire pourrait être l'utilisation de porte-greffe hypersensible cela contribuerait à conserver les variétés traditionnelles tout en empêchant la propagation de la maladie.

Conclusion et perspectives

En outre, des variétés génétiquement modifiées résistantes au virus ont été développées. Enfin, il faut créer des postes de contrôle, de dépistage et de surveillance au niveau des frontières et des zones de grande production.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

Références bibliographiques

▪ **Anonyme** (2011): Fredon: Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles, P 09.

▪ **Anonyme 1** (2012): IPPC : convention internationale pour la protection des végétaux, P 19.

▪ **Anonyme 2** (2012) : Fiches Techniques -5- puceronsFruitsANoyaux, P 1-2.

▪ **Anonyme 1**(2013): <http://www.supagr.fr/ress-tice/plants>

[ued/grain3/co/distribution - geo- de-la-maladie-sharka.html](http://www.supagr.fr/ress-tice/plants/ued/grain3/co/distribution-geo-de-la-maladie-sharka.html)

▪ **Anonyme 2** (2013): Fredon : Fédération Régionale de Défense contre les Organisme Nuisible, P 13.

▪ **Anonyme** (2014): IPPC: convention international pour la protection des végétaux, P 23.

▪ **Anonyme 1** (2015): [http://faostat3.fao.org/download /Q/QC/F](http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/F)

▪ **Anonyme 2** (2015) : Direction des Statistiques Agricoles et des Systèmes d'Information. Cultures fruitières à noyaux et / ou à pepins. Algérie : P7.

▪ **Anonyme** (2016) : [http:// Fdgdan66.com/la sharka FDGDON des Pyrénées orientales en L.R/](http://Fdgdan66.com/la-sharka-FGDON-des-Pyrenees-orientales-en-L.R/) Consulter le 08-03-2017.

▪ **Anonyme 1** (2017): [http://WWW.helioterpen- arboriculture. Fr/ les pucerons- des- arbres- à- noyau/ htm](http://WWW.helioterpen-arboriculture.fr/les-pucerons-des-arbres-a-noyau/htm). Consulter le : 08-03-2017.

▪ **Anonyme 2**(2017) : [http:// wikipedia. org /wiki/ puceron- noir – du- cerisier](http://wikipedia.org/wiki/puceron-noir-du-cerisier).

▪ **Anonyme 3** (2017) : <https://www.google.com/maps/>

▪ **Anonyme 4** (2017): <http://www.fredonpaca.fr/Historique-maladie-sharka-htm>. Consulter le 07-02-2017.

▪ **Barba N., Camarasa E., Vela C.** (2011) : Prunus tomentosa comme un hôte de diagnostic pour la détection du virus de la Sharka, 81 : PP 329-332.

▪ **Benhoucine A., Mansouri M.** (2013). Détection immunoenzymatique (DAS-ELISA) du PPV (Potyvirus) sur pêcher, prunier et cerisier dans la région d'Ain Defla et de Medea, efficacité de la transmission non persistante du PPV sur plante de tabac, Mém. Master, UKM, 60-72P.

▪ **Bouafia L.** (2003). Etude des virus des cultures pérennes: caractérisation immuno-enzymatique du virus de la sharka (PPV) [Plum Pox Virus familles des Potyviridae, genre des Potyvirus]. Thèse. Ing. Agro. Blida, 62P.

▪ **Bouriah S., Souaber A.** (2013) : Enquête sur le virus de la Sharka (PPV) sur les rosacées à noyaux. Mem. Master, Blida : 74 P.

▪ **Bousalem M.** (1995) : Méthodologie d'évaluation de la variabilité chez les potyvirus : application à la caractérisation immunologique, moléculaire et biologique des isolats du Plum pox potyvirus. Th. Doc Montpellier. P 110.

▪ **Bovey R.** (1971) : La défense des plantes cultivées. Payot. Lausanne Paris, P 863.

▪ **Brault V., Uzest M., Monsion B., Jacquot E., Blanc S.** (2009) : Les maladies virales causées par les pucerons : mécanismes de la transmission des virus. Académie d'Agriculture de France .1P.

▪ **Cambra M., Capote N., Cambra M-A., Llacer G., Botella P., & Lopez-Quilez A.** (2006): Epidemiology of sharka disease in Spain. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 36: P271-275.

▪ **Candresse T.** (1994) : Méthodologie moléculaires de détection et de différenciation des souches du virus de la Sharka. 10ième colloque sur les recherches fruitières : P 77-83.

▪ **Celetti M., Fraser H., Carter N. et Llewellyn J.** (2002). Le virus de la Sharka des espèces fruitières et ornementales du genre Prunus Ed. Ontario. Canada sur : [www.Omafra .Gov.On.Ca/Crops/facts /02-2002.Htm](http://www.Omafra.Gov.On.Ca/Crops/facts /02-2002.Htm). PP : 1-18 .

▪ **Chouaki-Bessedik F., Chebouti A., Oumata S.** (2006) : Rapport national sur l'état de ressources phytogénétiques INRAA Algérie : P67.

- **Dallot S., Decroocq V., Thébaud G., Candresse T., Borron S., Labonne G.** (2012): Sharka, mieux comprendre pour mieux gérer en verger. *Phytoma* 654, P 1-2.
- **Decroocq V., Cadresse T.** (2007) : Résistance génétique au virus de la Sharka chez les Prunus : Sélection conventionnelle et nouvelles stratégies. *Innovations Agronomiques* 1 : PP 111-121.
- **Desvignes J., Boyé R., Cornaggia D., Grasseau N.** (1999) : Maladie à virus des arbres fruitiers, Ctifl : PP 28-29.
- **Dolja M., Asensio M., Perez E.** (2014) : The complete nucleotide sequence of plum pox virus RNA. Paris. 128P.
- **Garcia J-A., Riechmann J-L., Lain S., Martin M-T., Guo H., Simon I., Fernandez A., Dominguez E., Cervera M-T.** (1994) : Molecular characterization of Plum pox potyvirus. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 24: P 543-553.
- **Gugerli P., Hasler T.** (2005): Maladies à virus du prunier. *Agroscope RAC* 503: P 1-2.
- **Holman J.** (2009) : Catalogue plante hôte contre les pucerons, la région paléarctique. Springer Science and Business Media BV P 1216.:
- **Hullé M., Tyrpeau E., Leclant F., et Rahn M-J.** (1998) : Les pucerons des arbres fruitiers : cycles biologique et activités de vol. ED : INRA, Paris : P 78.
- **INRA** (institut nationale de la recherche agronomique). (2016). Sharka : identification de marqueurs génétiques de résistance chez l'abricotier cultivé.
- **Janick J.** (2005). The origins of fruits, fruit growing, and fruit breeding. *Plant Breed Rev.* 25, pp: 255–320.
- **Kegler H., Sutic D.** (1991): Obstgehölze 140-315 in: M K likowski. (Ed.), *Planzlich Virology* (3) Acad.Verlag. Berlin. P 320.
- **Manachini B., Casati P., Cinanni L & Bianco P.** (2007): Role of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) and its secondary hosts in Plum pox virus propagation. *Jour. Econ. Entomol.* 100: P1047-1052.
- **Mohamed Bouziane R.** (2002). Etude des maladies virales des arbres fruitiers. Inventaire des pucerons vecteurs de la Sharka; Caractérisation biologique de la Sharka. Thèse. Ing. Agro. Blida, 73P.
- **Nemeth M.** (1986): Virus, Mycoplasme and Rickettsia disease of fruits. *Plum Pox* (Sharka). Boston, Martinus Nijhoff Publishers 841: P 463-479.

▪**OEPP** (2010). Liste A2 des organismes de quarantaine de l'Organisation européenne et méditerranéenne de protection des plantes (OEPP). Adresse: <http://www.eppo.org/QUARANTINE/listA2.htm>.

▪**Putallaz O., Kerautret I., Crausaz P-H., Bunter M., Buschmann B., Balmelli C., & Besse S.** (2010) : la Sharka en Suisse : bilan et perspectives. Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. 42(1) : P 65-67.

▪**Ravelonandro M., M Dunez.** (1995) : Récents progrès dans la lutte contre la Sharka des arbres fruitiers à noyaux. Cahier d'agriculture .9P.

▪**Ravelonandro M., Varveri C., Delbos R., Dunez J.** (1988) Nucleotide sequence of the capsid protein gene of plum pox potyvirus. Jour.Gene Virol. 89, 1509-1516.

▪**Rebhi R.** (2004). Détection biologique et efficacité de transmission par plusieurs espèces de pucerons du virus de la Sharka des Prunus, (Plum Pox Potyvirus (PPV)) dans la Mitidja. Mém. Ing. Blida, 77P.

▪**Rouag N.** (2009). Etude de la fréquence des principaux virus et viroïdes phytopathogènes des Prunus cultivés en Algérie. Université Ferhat Abbas Setif, 1-3P.

▪**Roy A S., Smith I M.** (1994): Plum pox situation in Europe. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 24, P 515-523.

▪**Turpeau E-M., Chaubet B.** (2013) : *Brachycaudus persicae* (Passerini, 1860) : puceron noir du pêcher : P 1.

▪**Wang A., Sanfacon H., Stobbs L.W., James D., Thompson D., Svircev A. M. & Brown D C W.** (2006): Plum Pox Virus in Canada: progress in research and future prospects for disease control. Can. Jour. Plant Pathol. 28: P182-196.

TABLE DES MATIERES

	Page
Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
sommaire	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Introduction.....	1
Chapitre I : Données bibliographiques	
1.1. Importance économique de l'arboriculture fruitière.....	3
1.1.1. Production arboricole fruitière dans le monde	3
1.1.2. Production arboricole fruitière en Algérie	3
1.2. Principaux virus affectant les arbres fruitiers à noyaux en Algérie.....	4
1.3. Sharka.....	5
1.3.1. Répartition géographique	6
1.3.2. Impact économique	7
1.3.3. Principales plantes hôtes.....	7
1.3.4. Plantes hôtes herbacées.....	8
1.3.5. Symptômes macroscopiques	8
1.3.5.1. Sur l'abricotier.....	8
1.3.5.2. Sur le pêcher	10
1.3.5.2.1. Sur les fleurs	11
1.3.5.2.2. Sur fruits	11
1.3.5.2.3. Sur rameaux	11
1.3.5.2.4. Sur feuilles	11
1.3.5.3. Sur nectarines	13
1.3.5.4. Sur prunier	14
1.3.6. Symptômes microscopiques	16
1.4. Présentation du virus	17
1.4.1. Morphologie	17

1.4.2. Génome	17
1.4.3. Souches	18
1.4.4. Transmission	19
1.4.4.1. Par vecteur (Pucerons).....	19
1.4.4.2. Anastomoses racinaires.....	19
1.4.4.3. Voie végétative.....	19
1.4.4.4. Par semence et pollen.....	19
1.5. Pucerons vecteurs potentiels du PPV.....	20
1.5.1. Puceron vert du pêcher (<i>Myzus persicae</i>)	20
1.5.1.1. Description	20
1.5.1.2. Biologie	20
1.5.2. Puceron vert du prunier (<i>Brachycaudus helichrysi</i>).....	21
1.5.2.1. Description.....	21
1.5.2.2. Biologie	21
1.5.3. Puceron noir du pêcher (<i>Brachycaudus persicae</i>).....	22
1.5.3.1. Description	22
1.5.3.2. Biologie.....	22
1.5.4. Puceron brun du pêcher (<i>Brachycaudus schwartzi</i>).....	23
1.5.4.1. Description.....	23
1.5.4.2. Biologie.....	23
1.5.5. Puceron farineux du prunier (<i>Hyalopterus pruni</i>)	24
1.5.5.1. Description.....	24
1.5.5.2. Biologie.....	24
1.5.6. Puceron noir du cerisier (<i>Myzus cerasi</i>)	25
1.5.6.1. Description.....	25
1.5.6.2. Biologie.....	25
1.5.7. Puceron vert des citrus (<i>Aphis spiraecola</i>).....	25
1.5.7.1. Description.....	25
1.5.7.2. Biologie.....	26
Chapitre II : Matériels et méthodes	
2.1. Prospection et échantillonnage.....	28
2.1.1. Site prospectés.....	28
2.2. Méthode d'échantillonnage.....	33

2.2.1. Conservation des échantillons.....	33
2.2.1.1. La méthode de Bos	35
2.2.1.2. La méthode classique.....	36
2.2.2. Collecte des pucerons.....	36
2.2.3. Identification des pucerons.....	36
2.2.4. Méthode de montage.....	37
2.3. Méthode d'inoculation mécanique.....	39
2.3.1. Préparation des plantes indicatrices.....	39
2.3.2. Transmission non persistante	39
2.4. Détection immuno enzymatique.....	40
2.4.1. Principe de test ELISA.....	40
2.4.2. Technique DAS-ELISA direct.....	41
2.4.3. Extraction des virus.....	41
2.4.4. Protocole.....	43
2.4.4.1. Sensibilisation des microplaques avec un anticorps spécifiques.....	43
2.4.4.2. Incubation de l'extrait de plante (antigène).....	44
2.4.4.3. Incubation avec les anticorps conjugués à l'enzyme (conjugate).....	45
2.4.4.4. Une réaction colorée indique la présence d'un échantillon infecté.....	46
2.4.5. Lecture des résultats.....	46

Chapitre III : Résultats et discussion

3.1. Symptomatologie observés sur terrain.....	48
3.1.1. Symptômes sur abricotier.....	48
3.1.2. Symptômes sur prunier.....	49
3.1.3. Symptômes sur pêcher et nectarine	50
3.2. Discussion.....	50
3.2. Distribution des pucerons vecteurs de la Sharka	51
3.2.1. Hylapteurs pruni	52
3.2.2. Brachycaudus cardui	53
3.2.3. Myzus persicae.....	54
3.2.4. Myzus variant	54
3.2.5. Brachycaudus Schautzi.....	55
3.2. Discussion.....	55
3.3. Détection biologique de la Sharka	55

3.3.1. Résultats de la transmission non persistants.....	56
3.3.2. Discussion.....	56
3.4. Résultats de détection sérologique de virus de la Sharka	57
3.4.1. Résultat du test ELISA.....	57
Conclusion et perspectives	58

Références bibliographiques

Annexe