

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA



FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES
DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du
Diplôme de Master En sciences de la nature et de la vie.
Filière d'Agronomie.
Option : Biotechnologie des plantes aromatiques, médicinales,
Et produits naturels.

Étude de la relation nutritionnelle de la cochenille
***Parlatoria Ziziphi* Lucas 1853 (Homoptéra diaspididae)**
sur les agrumes en Mitidja

Présenté par : NOUALI FATIMA

Devant le jury composé de :

Mme CHOBATA N	MAA	USDB	President
Mme BELGUENDOZ R.	MAA	USDB	Promotrice
Mme ALLALE .L	MCA	USDB	Examinatrice
Mr AROUN.M .	MCA	USDB	Examineur

Promotion 2010-2011

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer mes remerciements et mes respects aux membres du jury de thèse d'avoir accepté d'honorer et d'enrichir mon travail.

Toute ma gratitude à Mme Bel.guendouse R. pour leur encadrement, leur nombreux conseils et leur soutien au long de la réalisation de ma thèse.

J'exprime ma gratitude à tous mes enseignantes Mme Chobata N, Mme Ghanai R, Mme Moumene S et tous mes enseignants, pour leurs soutiens qu'ils n'ont pas cessé de me prodiguer.

Je tiens particulièrement à remercier Mme Houmani Z. de m'avoir donné l'aide de réaliser mon travail.

Je tiens à remercier toutes les étudiantes de la promotion de biotechnologie des plantes aromatiques et médicinales.

Je remercie également tout les techniciennes et les ingénieures des laboratoires du département d'agronomie pour son service précieux.

J'aimerais aussi remercier tous mes amis qui m'ont accompagné et du fond du cœur tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail, à mes très chers parents en témoignage de l'amour, du respect et de ma profonde gratitude que je leurs porte et ma reconnaissance pour leur soutien.

A mes grandes mères.

A mon grand père.

A mes très chers frères Abd El Madjid, M'hamed, Redouane, sedik et Abd El Rahman

A mes sœurs Hafida, Hadjira et Rahma.

A mon neveu.

A toute la famille Nouali et Hideche.

A mes amies et collègues.

A mon marie Mohamed qui me donne le courage pour réaliser ce modeste travail et pour son sacrifice.

Falima

Résumé :

L'infestation des insectes est en relation directe avec la nature de leur support hôte. Il y a des bactéries symbiotiques qui peuvent aider et faciliter la survie des insectes et leur protection. L'étude bactériologique chez la cochenille *Parlatoria Ziziphi* Lucas 1853 (Homoptera diaspididae), nous a permis d'identifier son bactérium qui renferme des bactéries cocciformes et des bacilles du genre gram positif. D'après les tests biochimiques il apparaît que les bactéries cocciformes semblent être des staphylocoques.

L'analyse biochimique du suc des feuilles infestées et non infestées montre que la concentration des acides aminés d'extrait des feuilles saines (2,25 mg/ml) est plus élevée par rapport à ceux des feuilles infectées (0,75 mg/ml). Pour les protéines, la teneur est aussi plus élevée (0,74 mg/ml) chez l'extrait des feuilles saines que chez celui des feuilles infectées (0,62 mg/ml). Cela montre l'impact de l'infestation de *P. ziziphi* sur la physiologie de plante hôte.

Notre travail s'intéresse aussi à l'étude microscopique du mode d'alimentation de la cochenille. La réalisation des coupes histologiques nous a aidé à comprendre le trajet de stylet de la cochenille dans la feuille de citronnier et son site d'alimentation. Le stylet traverse l'épiderme de la feuille jusqu'à atteindre les cellules phloémiennes, ce qui explique que cette cochenille est phloémophage.

Les mots clés : *Parlatoria Ziziphi*, la symbiose bactérienne, histologie, protéine, les acides aminés.

Summary:

The infestation of the insects is in relationship direct to the nature of their support host. There are symbiotic bacteria which can help and facilitate the survival of the insects and their protection. The study bacteriological of the cochineal *Parlatoria Ziziphi* Lucas 1853 (Homoptera diaspididae), enabled us to identify his bacterium which contains bacteria cocciformes and bacilli of the positive gram kind. According to test biochemical it appears that the bacteria cocciformes seem to be staphilococca.

Biochemical analysis of the juice of the infested and not infested sheets watch that the concentration of the amino-acids of extract of the healthy sheets (2,25 mg/ml) is higher compared to those of the infected sheets (0,75 mg/ml). For proteins, the content is also higher (0,74 mg/ml) at the extract of the healthy sheets that at that of the infected sheets (0,62 mg/ml). That shows impacts it infestation of *P. ziziphi* on the physiology of plant host.

Our work is also interested in the microscopic study of the mode of food of the cochineal. Let us build cut histological helped us to include/understand the way of stylet of the cochineal in the sheet of lemon tree and its site of food. The stylet crosses the skin of the sheet until reaching it the cells phloemienne, which explains why this cochineal is phloèmophage.

Key words: *Parlatoria Ziziphi*, bacterial symbiosis, histology, protein, amino-acids.

إن إصابة الحشرات له علاقة مباشرة مع طبيعة العضو المضيف ، هناك بكتيريا تعايشية تستطيع مساعدة و تسهيل عيش هذه الحشرات و حمايتها. الدراسة البكتيريولوجية للحشرة القرمزية *Ziziphi Lucas,1853Homoptera Diaspididae* *Parlatoria* تسمح لنا بتحديد المجموعة البكتيرية التي تبين لنا أنها بكتيريا دائرية الشكل و طويلة الشكل Gram positive

بعد التجارب البيوكيميائية تبين لنا أن البكتيريا دائرية الشكل تنتمي إلى النوع *Staphylocoque*. التحاليل البيوكيميائية لمستخلص الأوراق المصابة و غير المصابة تبين أن تركيز الأحماض الامينية لمستخلص الأوراق السليمة 2,25 مغ/ ملل أكبر من مستخلص الأوراق المصابة 0,75 مغ/ملل ، بالنسبة للبروتينات المحتوى أيضا مرتفع بالنسبة للأوراق السليمة 0,74 مغ/ملل على الأوراق المصابة 0,62 مغ/ملل هذا يبين تأثير إصابة *Parlatoria Ziziphi* على فيزيولوجية النبتة المضيفة .

عملنا يهتم أيضا بالدراسة المجهرية لطريقة تغذية القشري و ذلك باجراء المقاطع النسيجية للورقة التي تساعدنا على ، فهم طريق الخرطوم في نسيج ورقة الليمون و مقر تغذيتها، الخرطوم يقطع الغشاء الخارجي حتى يصل إلى الخلايا اللحائية ، مما يوضح أن هذا القرمزي هو لحائي.

كلمات المفتاح: *Parlatoria Ziziphi*، البكتيريا التعايشية، النسيجي، البروتينات ، الأحماض الامينية، اللحاء،

Liste des tableaux :

Tableau N°1 : Les différents types d'agrumes et les principaux pays producteurs (classement par rapport aux données statistiques de la FAO de 2001-2004).....	04
Tableau 2 : Production d'agrumes en millions de tonnes (FAO, 2005 in Jacquemond <i>et al.</i> , 2009).....	05
Tableau N°03 : classification des principaux agrumes cultivées en méditerrané.....	10
Tableau N°04 : les principaux ravageurs animaux des agrumes.....	12
Tableau N°05 : les principales cochenilles des agrumes.....	13
Tableau N°06 : Relevés mensuels des données climatiques de la région (ITAFV., 2011).....	35
Tableau N°7 : la gamme étalon de dosage des protéines.....	54
Tableau N°8 :résultat des testes biochimiques des souches bactériennes étudiées.....	62

Liste des Abréviations :

F.A.O. :	Food and agricultural organization.
I.T.A.F.V.	Institut Technique d'Arboriculture Fruitière et de la Vigne,
N:	Normalité
µg:	microgramme,
Min:	minimale,
Max. :	Maximale,
P :	Précipitation
MA :	Million d'années
Sup :	superficie
Prod :	Production
D.O	La densité optique
nm	Nanomètre
'	Seconde

Liste des figures :

Figure N°1 : Production mondiale d'agrumes et par catégorie de produit de 1961 à 2004, en tonnes.....	05
Figure N°2 : la production des agrumes en fonction de superficie dans la région de centre (I.T.A.F.V, 2011).....	06
Figure N°3 : la production des agrumes en fonction de superficie dans la région Ouest (I.T.A.F.V., 2011).....	06
Figure N°4 : la production des agrumes en fonction de superficie dans la région de centre (I.T.A.F.V, 2011).....	06
Figure N°5 : la production des agrumes en fonction de superficie dans la région de Blida (I.T.A.F.V, 2011).....	06
Figure N°6: La Cochenille asiatique (<i>Unaspis yanonensi</i>)	14
Figure N°7 : La cochenille vergule <i>Lepidosaphes beckii</i> Newman).	14
Figure N°8 : Pou de californie (<i>Aonidiella aurantii</i> Maskell).....	14
Figure N°9 : Pou rouge (<i>Chrysomphalus dictyospermi</i> Morg).....	14
Figure N°10 : Arbre du <i>Citrus Limon</i>	16
Figure N°11 : Fruit infestés du <i>parlatoria ziziphi</i>	16
Figure N°12: Mode d'alimentation des insectes phytophage (De Vos et al.,2007)....	18
Figure N°13 : Population de <i>P. ziziphi</i> sur feuilles de citronnier en Metidja.....	19
Figure N°14: a) : Vue transversale de la couche épidermique d'un apex de manioc et vue longitudinale du labium (Lb) et des stylets (St) de <i>Phenacoccus manihoti</i> ;b): Coupe transversale du parenchyme montrant un trajet inter et intracellulaire des stylets (Gst gaine sétale).....	20
Figure N°15 : Répartition mondiale de <i>P. ziziphi</i>	22

Figure N°16: Parasites intracellulaires obligatoires et parasites intracellulaires facultatifs.....	32
Figure N°17 : Limites géographiques de la plaine de Mitidja (Mutin, 1977).....	34
Figure N°18 : Le champ de prélèvement des feuilles.....	34
Figure N°19: Diagramme ombrothermique de Gausson (Station Expérimentale de l'Université Saad Dahleb).....	36
Figure N°20 : Les différentes cultures et dilutions du broyat de la cochenille.....	42
Figure N°21: Les différentes dilutions du suc cellulaire des feuilles.....	42
Figure N°22 : les cultures du bacteriome de la cochenille des différentes dilutions..	43
Figure N°23: Aspect du milieu Chapman avant utilisation.....	45
Figure N°24: Aspect du milieu Chapman après utilisation.....	45
Figure N°25: Aspect du milieu Hektoen avant utilisation.....	45
Figure N°26: Aspect du milieu Hektoen après utilisation.....	45
Figure N°27: la méthode d'isolement bactérienne	46
Figure N°28 : Le teste de catalase.....	47
Figure N°29 : Explication de la réaction VP.....	48
Figure N°30 : Explication de la réaction RM.....	48
Figure N° 31: La voie de fermentation de mannitol.....	49
Figure N°32 : Les différents cas d'utilisation des sucres de TSI.....	50
Figure N°33 : Citrate de Simmons.....	51
Figure N°34: les cultures des différentes dilutions de la cochenille.....	58
Figure N°35 : les cultures des différentes dilutions des feuilles.....	58

Figure N°36 : Bacille gram(+) de La cochenille GX100.....	59
Figure N°37 : Cocci gram(+) de La cochenille GX100.....	59
Figure N°38 : Bacille gram(+) de la feuille GX100.....	59
Figure N°39 : Bacille gram(-) de la feuille GX100.....	59
Figure N°40: Le milieu Hektoenensemencé par le broyat de la cochenille après 24h d'incubation.....	60
Figure N°41: Le milieu de Chapmanensemencé par le broyat de la cochenille après 24h d'incubation.....	60
Figure 42 : l'aspect de milieu Chapman et Hektoen après l'ensemencement de broyat des feuilles de citronnier infectées.....	61
Figure N°43 : La concentration de protéine contenue dans les feuilles saines et les feuilles infectées du citronnier (<i>Citrus Limon</i>).....	65
Figure N°44 : la concentration des acides aminés contenus dans les feuilles saines et les feuille infectées du citronnier (<i>Citrus Limon</i>).....	66
Figure N°45 : Coupe transversale de la feuille de citronnier et de la cochenille et vue longitudinale des stylets GX100.....	67
Figure N°46 : Coupe transversale de feuille de citronnier et de la cochenille GX40.....	67
Figure N°47 : coupe transversal de la feuille de <i>Citrus Limon</i> montre la poche sécrétrice du citronnier GX100.....	69

TABLE DE MATIERES

INTRODUCTION

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LA PLANTE HOTE.....	03
I-1/ la répartition géographique dans le monde	04
I-2/La répartition des agrumes en Algérie	05
I-3/Exigences des agrumes	07
I-3-1/ les exigences climatiques	07
I-3-2/Les exigences édaphiques	09
I- 4/Classification botanique des agrumes	09
1-5/La phénologie de l'arbre d'agrumes.....	11
I-6/Les maladies et les ravageurs	12
I-7/La variété étudiée :.....	16
CHAPITRE II : L'ESPECE NUISIBLE.....	18
II-1/ Identité de l'organisme.....	18
II-2/ description	19
II-3/Les dégâts spécifiques.....	20
II-4/Les symptômes.....	20
II-5/ Caractéristiques biologiques de <i>Parlatoria ziziphi</i>	21
II-6/Historique et répartition	22
II-7/Lutte contre les cochenilles diaspines.....	22
II-8/Quelques conseils pratiques de prévention (<i>Loussert, 1989</i>).....	23
CHAPITRE III : LA SYMBIOSE.....	25
III-1/Historique	25
III-2/Définition	26
III-3/Les modalités de symbiose.....	26
III-4/Rôle des symbioses.....	27

III-5/ Les symbioses bactériennes	30
III-5-1/ Transmission des symbiontes	30
III-5-2/ Interactions hôte-symbionte	31
III-5-3/La symbiose intracellulaire chez les insectes	31
CHAPITRE III: ETUDE DE LA REGION D'ETUDE.....	34
III-1 /Situation géographique	34
III-2/ Caractéristique climatique de la Mitidja	35
PARTIE EXPERIMENTALE.....	39
CHAPITRE I:MATERIEL ET METHODE.....	39
I-1/Matériel utilisé	39
I-2/Méthodes de travail.....	41
I-2-1/Étude du bactériome de <i>P.Ziziphi</i>	41
I-2-1-1/Préparation de l'inoculum.....	41
I-2-1-2/Préparation des dilutions	41
I-2-1-3/Préparation des cultures	44
I-2-1-4/l'identification bactérienne	44
a/Etude morphologique	44
b/Isolement bactérienne	45
c/Etude biochimiques	47
I-2-2/ Étude de la qualité nutritionnelle biochimique de <i>P. ziziphi</i>	53
➤ Dosage des protéines.....	53
➤ Dosage des Acides aminés	54
I-2-3/Etude du trajet de stylet de l'insecte	55
CHAPITRE II : RESULTAT ET DISCUSSION.....	58
DISCUSSION GENERALE.....	71
CONCLUSION	
ANNEXES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

Introduction

La coévolution des plantes et des insectes repose sur l'alimentation des insectes par une seule espèce de plantes, tandis que d'autres groupes d'insectes s'alimentent sur une grande variété de plantes. Quelles sont les raisons qui permettent aux insectes de reconnaître une espèce de plantes nécessaire à leur alimentation et en plus, de déterminer avec précision le contenu nutritif de la plante ? Pourquoi un insecte est-il spécifique à une espèce de plante ?

Les insectes phytophages ne présentent pas le même type de relation avec leurs plantes hôtes. Certains insectes sont polyphages, d'autres oligophages ou monophages. Les insectes polyphages sont capables de s'alimenter sur une grande variété d'ordres de plantes et parfois de plusieurs classes. L'oligophagie représente la relation qui existe entre les plantes d'une même famille et certains insectes (Marie-Claude Nicole, 2002).

L'association d'un insecte phytophage avec sa plante-hôte est défini par une forte pression de sélection sur l'herbivore, le conduisant à se spécialiser. Entre autres, l'insecte développe des adaptations pour localiser, atteindre et exploiter la ressource végétale. Enfin, nous avons mis en évidence et caractérisé des souches bactériennes endosymbiotiques. Ces bactéries, sont vraisemblablement impliquées dans l'adaptation de l'insecte à l'exploitation de sa plante hôte.

Les endosymbiotes d'insectes sont classés en deux catégories, primaire et secondaire. Les endosymbiotes primaires ont été associés avec leur insecte hôte depuis des millions d'années. Ils sont obligatoires et affichent une co-spéciation avec leur hôte tandis que les endosymbiotes secondaires exposent une association développée plus récemment, qui est parfois horizontalement transférée entre les hôtes, vivant dans l'hémolymphe des insectes (les bactériocytes non spécialisés), et ils ne sont pas obligatoires (Cyrille Conord).

Il est donc important de bien connaître les besoins alimentaires et l'utilisation de la nourriture par l'insecte afin de mieux comprendre son interaction avec l'écosystème (Watt et *al.*, 1990 et Bauce et *al.*, 2001 in Chouih 2007).

Selon Praloran(1971), les espèces animales qui se développent et qui se nourrissent au détriment des agrumes sont extrêmement nombreuses non seulement elles causent des graves dégâts mais ce sont des vecteurs de maladies viables et bactériennes.

Le pou noir de l'oranger (*Parlatoria ziziphi*) est une cochenille spécifique des agrumes, il est répondeur dans les verger abrité ou sur des arbres isolés dans les jardins.(Anonyme, 1976).

Les agrumes occupent aujourd'hui la deuxième place dans les échanges mondiaux des produits végétaux (Mohamed amine et *al.*,2010).

En Algérie, le développement de la culture commerciale des agrumes constitue un fait relativement récent, elle se localise dans les zones irrigables de la partie nord du pays, où elle trouve la température clémente qui assure sa réussite. (Rebour,1948)

Notre étude vise à élucider les relations symbiotiques existant entre la cochenille noire (*Parlatoria ziziphi*) et sa plante hôte (les agrumes), la nutrition de la cochenille et le trajet du stylet de la cochenille dans les feuilles d'agrumes. Ce travail a été réalisé en suivant le plan Ci-dessous :

- ✓ Une partie bibliographique comprenant trois chapitres :
 - Chapitre I renferme la présentation des agrumes, leurs principaux maladies et ravageurs et la présentation de la variété étudiée le citronnier : *Citrus limon*.
 - Chapitre II : la présentation du ravageur (*Parlatoria ziziphi* Lucas 198...), sa dissémination et les méthodes de lutte et de prévention.
 - Chapitre III : est une introduction sur la symbiose en générale et leur rôle, la symbiose bactérienne et la symbiose intracellulaire chez les insectes.
- ✓ Une partie expérimentale où nous avons présenté le matériel et les méthodes utilisées, ainsi que les résultats et discussions qui se termine par une conclusion générale.

Les agrumes:

Le mot agrumes d'origine italienne, est un nom collectif, masculin pluriel, qui désigne les fruits comestibles et par extension, les arbres qui les portent, appartenant au genre citrus (Loussert, 1987)

Les agrumes appelés aussi hespéridés, sont des arbres produisant des fruits caractérisés par une surface de peau (zeste) riche en glandes à huiles essentielle, et une pulpe organisés en quartiers, comprenant des pépins et de nombreux poils gorgés de jus.

La diversité des fruits consommés (Oranges, mandarines, clémentines, pomelos, citrons, limes, pamplemousses) reflète d'une certaine manière la richesse et la variabilité de ces arbres, originaire d'Asie et aujourd'hui cultivés sur tous les continents entre les 40^{èmes} parallèle Nord et Sud. Cependant, ce n'est qu'une représentation visible et partielle de la diversité réelle de ces arbres. Elle est le fruit d'un long processus d'évolution s'étant sur plusieurs centaines de milliers d'années, par le biais de différents mécanismes de diversification.

L'aire actuelle de culture des agrumes est particulièrement vaste. Aujourd'hui elles sont cultivées du Cap de Bonne Espérance au bassin méditerranéen, de l'Argentine à la Californie et de l'Australie au Japon.

I-1/ La répartition géographique dans le monde :

D'après Gallais et Bannerot (1992), l'aire agrumicole actuelle est très vaste, elle se situe entre les 40° de latitude nord et 40° de latitude sud tout autour de monde, en 1988/1989, Les agrumes a été représentées la première production fruitière mondiale avec 64.5 million de tonnes

Selon les données statistiques de la FAO (Food and Agriculture Organisation) en 2004, plus de 140 pays produisaient des agrumes, cependant la majeure partie de la production se concentre dans certaine zones géographique, la plupart des agrumes sont cultivés dans l'hémisphère Nord, comptant pour environ 70% de la production total (Ferhat et *al.*,2010).

Tableau N°1 : Les différents types d'agrumes et les principaux pays producteurs (classement par rapport aux données statistiques de la FAO de 2001-2004.

Année Espèce	2001	2004
Orange	Brésil, Etat-Unit, Mexique, Chine, Inde, Espagne, Italie, Iran, Egypte, Pakistan.	Brésil, Etats-Unis, Mexique, Inde , Espagne, Chine, Iran, Italie, Egypte, Indonésie .
Petit agrume	Chine, Espagne, japon, Brésil, Iran, Thaïlande, Etat-Unit, Turquie, Italie.	Nigeria, Chine, Syrie, Guinée , Japon, Arabie Saoudite , Inde, SierraLeone, Angola, Tunisie .
Citrons et citron verts	Mexique, Inde, Argentine, Iran, Espagne, Etat-Unit, Italie.	Mexique, Inde, Iran, Espagne, Argentine, Brésil , Etats-Unis, Chine, Italie, Turquie .
Pamplemousse	Etat-Unit, chine, Israël, cuba, Mexique, Afrique de sud.	Etats-Unis, Chine, Afrique du Sud, Mexique , Israël, Cuba, Argentine, Inde, Turquie, Tunisie .

On compare entre les deux années, on relève que le nombre de pays producteurs d'agrumes est augmenté en 2004, cela est favorisé par la répartition de l'agrumiculture qui gagne de plus en plus des airs dans le monde, en moyen de leur acclimations, ou de création de nouvelles variées résistantes aux conditions du milieu.

Selon Ferhat et *al* (2010),les agrumes occupent aujourd'hui la second place dans les échanges mondiaux des produits végétaux, avec environ 105 million de tonnes, sur la période de 2000-2004.

Vue leur consommation estimée à 59% en 2005, ces produits agricoles font l'objet d'importants échanges internationaux car on a enregistré 11% d'exportationsdans la

même année (Jacquemond et al.,2009). Où le Brésil, et les pays méditerranéens sont leaders selon le tableau 2.

Tableau 2 : Production d’agrumes en millions de tonnes (FAO, 2005 in Jacquemondet al.,2009).

Méditerranée	19,5	Brésil	18,9	Chine	15,2
USA	10,5	Mexique	6,9	Espagne	6,2
Italie	3,3	Iran	3	Japon	1,3

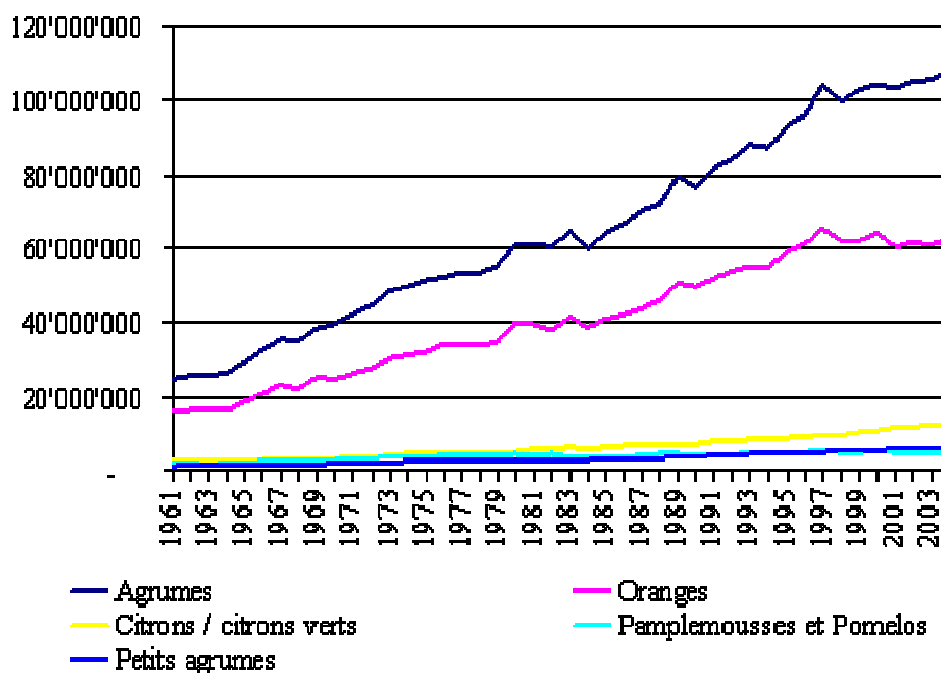


Figure 1 : Production mondiale d’agrumes et par catégorie de produit de 1961 à 2004, en tonnes (Anonyme d, 2005).

Selon les données statistiques de la FAO la croissance de la production mondiale des agrumes a été relativement linéaire au cours des dernières décennies du XX^{ème} siècle (Anonyme d, 2005).

I-2/La répartition des agrumes en Algérie :

Au cours des vingt dernières années de la colonisation l’agrumiculture prendre une place croissante dans la production agricole algérienne avec une valeur de 20% de la production agricole en 1960. dans l’exportation, elle passe de 3,5% en 1953 à 10% en 1958 où ils occupaient la deuxième place après le vin(Mutin,.1969).

Selon Loussert (1985), l’Algérie comptait parmi les grands pays producteurs d’agrumes dans le monde avec une production de 460 000 tonnes durant la campagne 1980/1981.

A la fin de 2006, le verger agrumicole occupe une surface de 62902 hectares et elle est localisée dans trois zones :

À l'est : wilayas d'el-tarf, et de Skikda.

Au centre : wilayas de Blida, de Chlef et de Tipaza.

A l'Ouest : wilayas de Mascara, de Mostaganem et de Relizane.

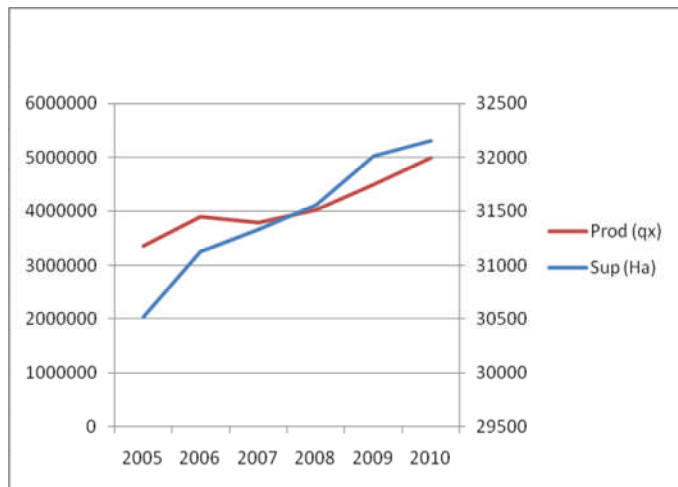


Figure N°2 : la production des agrumes en fonction de superficie dans la région de centre (I.T.A.F.V, 2011)

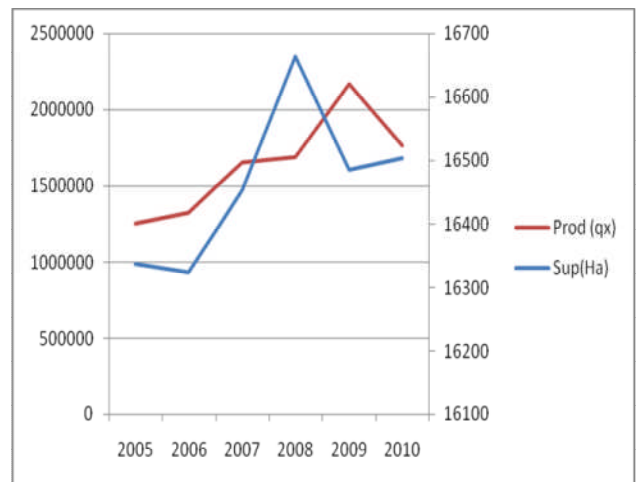


Figure N°3 : la production des agrumes en fonction de superficie dans la région Ouest (I.T.A.F.V, 2011)

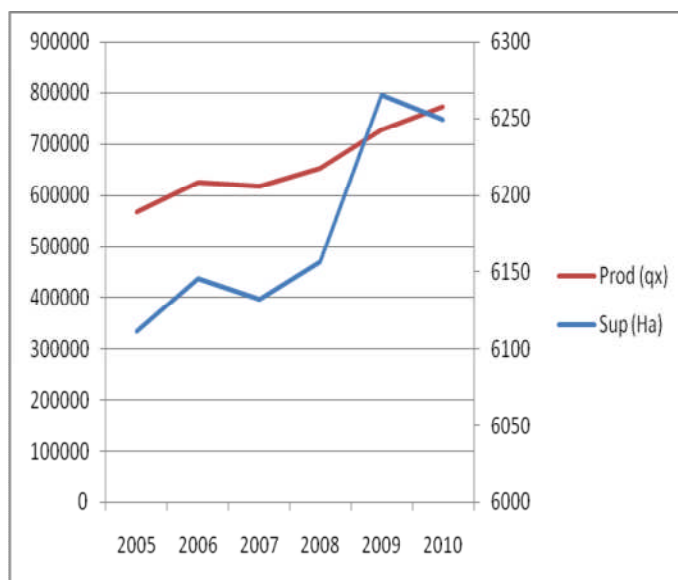


Figure N°4 : la production des agrumes en fonction de superficie dans la région de centre (I.T.A.F.V, 2011)

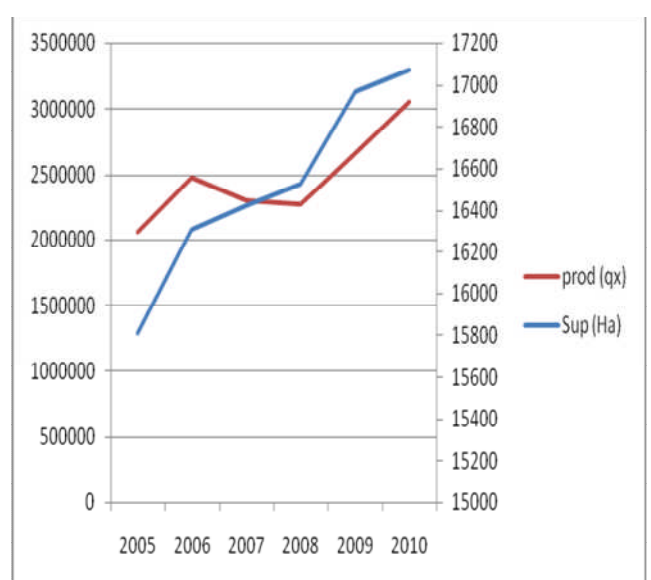


Figure N°5 : la production des agrumes en fonction de superficie dans la région de Blida (I.T.A.F.V, 2011)

Les figures précédentes, montre que la wilaya de Blida domine largement en superficie cultivé en agrumes et en production durant ces six derniers années, La région de centre contient la plus vaste superficie cultive en agrume et une part importante de la production totale par rapport l'ouest et l'Est.

La diminution de la production dans quelque années s'expliquée par des jeunes vergers qui ne sont pas encore entrée en production ou par vieillissement de ces vergers (Fig.1, 2,3 et 4).

I-3/Exigences des agrumes :

I-3-1/ Les exigences climatiques :

I.3.1.1/ La température:

Les agrumes supportent des températures comprises entre 0 C° et 50C° et atteint une croissance optimale entre 20C° 30 C° tandis que les périodes fraîches ou sèche arrêt de leur croissance (Anonyme b.,2002).

Les températures moyennes favorables à la culture des citrus sont de l'ordre de 10c° à 12c° pour les moyennes hivernales et de 22c° à 24c° pour les moyennes estivales (Loussert.,1987).

D'après Lica et *al* (1984), les plantes adultes d'agrumes résistent mieux a la variation des températures que les jeunes plantes, et varie aussi selon les espèces, on trouve que les citronniers, le limettier, le pamplemoussier, l'oranger doux, l'oranger sùr et le mandarinier sont très sensible aux basse températures.

La température élevée devienne très caractéristique si elles sont accompagnées de vent chaud et d'une humidité relativement basse, ce qui contribue à la perte d'eau par transpiration (Lica et *al.* ,1984)

Les agrumes se mettent en repos dés que la température dépasse 35c°. Ces dernières peuvent également provoquer de sérieux dégâts sur les arbres et leurs productions surtout lorsqu'elles sont accompagnées d'un vent chaud et desséchant (Polese, 2008).

I.3.1.2/ La pluviométrie :

Selon Laussert(1987), le climat méditerranéen est caractérisé par 02 saisons distinctes: une saison humide et fraiche allant des premiers jours de l'automne à la fin

de l'hiver durant laquelle tombent plus de 02 tiers de précipitation ; et une saison sèche et chaude qui durent de printemps à la fin de l'été et parfois jusqu'en automne, cette période correspond aux périodes de croissance et de développement des arbres.

Les agrumes demandent une pluviométrie de 1000 à 1200mm/an (Rebour, .1966), et vue qu'aucune des régions où on cultive les agrumes ne reçoivent une telle pluviométrie, l'arrosage s'avère indispensable (Polese ; 2008).

I.3.1.3 /Le vent :

Il cause des dégâts très important surtout sur les jeunes plantations, l'espèce la plus sensible au vent est le clémentinier alors que la plus résistante est le citronnier (Rebour, 1950).il peut provoquer des blessures sur les fruits, des altérations de ses écorce et peuvent provoquer aussi

les chutes des fruits importantes s'il accompagne avec les pluies orageuse d'automne (Loussert, 1987)

Il faut cultiver donc les agrumes sur terrain abrité, ou planter des brises vent (van Ea, 2005).

I.3.1.4 / La grêle :

Dans certaines vallées la grêle provoque des dégâts importants, les orages sont fréquemment en automne et en hiver (Loussert, 1987).

I.3.1.5/L'hygrométrie :

Une atmosphère humide régularise la température, ainsi elle exerce une action bénéfique, mais une très grande humidité favorise la pullulation des cochenilles, et donc le développement de la fumagine et des moisissures (Rebour, 1950).

L'humidité excessive de l'air ambiant provoque les attaques de champignon (pénicillium et pourritures). Une faible humidité de l'air provoque une grande transpiration du végétal et ses besoins en eau augmentent (Loussert ; 1987).

I.3.2/Les exigences édaphiques :**I.3.2.1/Les qualités agro - physiques des sols agrumicoles:**

Selon Loussert (1987) les critères à prendre en compte pour juger des qualités d'un sol agrumicole sont la profondeur et l'homogénéité du sol, sa perméabilité, sa porosité et sa capacité de rétention de l'eau.

Les terrains convenables aux orangers sont ceux qui sont bien perméables où le taux d'argile ne dépasse pas 20%, en Algérie seul quelque mince rubans littoraux autour d'Alger, Mostaganem ou Skikda répondent à cette exigence. Les terrains d'alluvion contiennent une plus forte proportion d'argile sans interdire la plantation des agrumes, ces terre rencontre plus fréquemment des nappes phréatiques à faible profondeur, de nombreux orangers de la Mitidja et de la plaine Annaba doivent être drainés en hiver (G.Mutin, 1969).

I.3.2.2/Les qualités agro- chimique des sols agrumicoles :

Les éléments essentiels de l'analyse chimique sont la teneur en matière organique, la teneur en calcaire actif et le pH, la teneur en P_2O_5 et K_2O assimilables et la teneur en sel (chlorures) (Loussert,1987). La composition idéal d'un sol pour les agrumes est environ 50% de sable grossier, de 10% de sable fin, de 15% à 20% de limon et de 2 à 3% de matières organiques (polèse, 2008).

En Algérie, le carence en manganèse est très fréquent, on la combat par des pulvérisation qui doit être renouvelés chaque année en juin (Rebour,1966).Selon G-Mutin (1969), les qualités chimique offerte par les sols en Algérie, ne sont pas toujours excellentes, soit on trouve le manque de potasse ou ne sont pas assez acides, ainsi que le danger le plus grave est l'excès de sel fréquent en Oranais et qui ont été fatal a un certain nombre de verger.

I.4/Classification botanique des agrumes :

Le terme agrume (citrus en anglais) correspond à trois genres botaniques Citrus, Poncirus et Fortunella, ils appartiennent à la famille des rutacées, à la sous famille des Aurantioideae, à la tribu des Citreae et à la sous tribu des Citrineae(Swingle., 1971).

Le genre Poncirus ne renferme qu'une seule espèce : *Poncirus trifoliata*. Il est essentiellement utilisé comme porte-greffe, le genre Fortunella comprend six espèces dont deux seulement font l'objet de quelques cultures (*Fortunella japonica* et *Fortunella margarita*). Le genre Citrus constitue, avec ses 145 espèces dénombrées, le genre le plus important. C'est au sein de ce genre que se rencontrent les principales espèces cultivées (Loussert, 1987).

Tableau N°3 : Classification des principaux agrumes cultivés en méditerranée :

Genre	Espèce	Sous espèce, groupe et variétés d'intérêt commercial.
Poncirus	<i>P. Trifoliata</i>	A donné de nombreux hybrides utilisés comme porte-greffe (citranges ; citrumelos)
Fortunella	<i>F. margarita japonica</i>	Les kumquats ont donné de nombreux hybrides (limequats, citrangequats, etc.)
Citrus	<i>C. Aurantium</i>	-le bigaradier (utilisé comme port-greffe) - les orange navels : Washington ; Thomson ; Navelina ; Navelate . -les oranges blanches : Salustiana ; Hamlin ; Shamouti ; Valencia Late , Cadenera
	<i>C. sinensis</i>	-Les oranges demi- sanguines : doubles fine améliorée ; maltaise demi-sanguine. -les oranges sanguines : Sanguinelli Nigra ; Moro -Taroco
	<i>C. unshiu</i>	-les mandariniers Satsuma
	<i>C. deliciosa</i>	- les mandariniers communs
	<i>C. clementina</i>	-les clémentiniers : les clémentines sans pépins (nombreux clone)
	<i>C. reticulata</i>	-les autres mandariniers : Mand. Ortanique- Mand. Murcott- Mand. Wilking.
	<i>C. limon</i>	Les citronniers : Eureka , Lisbonne, Verna , Femminello ovale .
	<i>C. paradisi</i>	Les pomelos : Marsh Seedless , Dunca, Ruby, Shambar.
	<i>C. medica</i>	Les cedratiers : Cedrat de corse, cedrat Diamante,
<i>C. grandis</i>	Les pamplemoussiers	

I.5/La phénologie de l'arbre d'agrume:**La phase d'élevage en pépinière :**

Cette période d'une durée de 12 à 36 mois, se déroule en pépinière. Elle commence avec le semis des graines pour la production de porte-greffe, se poursuit avec le greffage de la variété sur le porte-greffe, et se termine avec l'élevage du jeune plante (Loussert, 1987).

La phase d'installation :

Les jeunes arbres développent son système racinaire pour puiser dans le sol les éléments nécessaire à son alimentation (eau et sels minéraux) ce qui favorise la croissance végétative de la frondaison. Cette phase est caractérisée par l'importance de la nutrition minérale, et se prolonge jusqu'à la 3^{ème} année après la plantation (Loussert,.1989).

La phase d'entrée en production :

Dont cette phase la frondaison est suffisamment développée ce qui assure la photosynthèse pour faire apparaître les premiers fruits, cette phase est basé sur l'équilibre entre la nutrition minérale et la nutrition carbonée (Loussert,.1989).

La phase de pleine productivité :

A partir de la 7^{ème} - 8^{ème} année, la croissance végétatif de l'arbre se ralentit, la production en fruit deviennent chaque année plus importantes jusqu'à stabilisation à un niveau élevé. cette période peut prolonger de 15 à 20 ans (Loussert,.1989).

La phase de vieillissement :

C'est à partir de 25-30 ans, cette phase se caractérise par la réduction de l'activité de système racinaire, l'affaiblissement de la vigueur annuelle de pousse et diminution des fructifications (Loussert,.1989).

La phase de décrépitude :

Au de là de la 30^{ème} année, apparaissions des premiers symptômes de la décrépitude. Des rameaux se dessèchent et meurent, fructifications alternante et de mauvaise qualité, il faut prévoir l'arrachage de l'arbre (Loussert,.1989).

I-6/Les maladies et les ravageurs :

I-6-1/Les ravageurs animaux :

Tableau N°04 : Les principaux ravageurs animaux des agrumes :

Ravageur	espèces	Organe attaqué	Symptômes	Auteurs
Acariens	1/ Acarien des bourgeons (<i>Aceriasheldoni</i>)	les bourgeons floraux et foliaires	-développement anormal des bourgeons - déformations des feuilles, rameaux, fleurs et fruits	Bedford et al., 1998.
	2/ L'acarien tisserand (<i>Tetranychuscinnabarinu</i>)	- Tous les organes de la plante -Les feuilles	-les feuilles prennent un aspect moucheté puis se dessèchent. - En cas de pullulation, la plante peut mourir. -les toiles peuvent enserrer les organes de la plante et entraver leur développement	l'INRA ,2011
	3/ L'acarien ravisseur (<i>Hemitarsonemuslatus</i>)	Les feuilles Les fruits	- enroulement des feuilles, - aspect liégeux des fruits mûres.	Anonyme,a (1976)
	4/ <i>Phyllocoptrutaoleivora</i>	feuille, fruit, les jeunes pousses	-les cellules des couches superficielles de l'épidémie des fruits meurent et s'écaillent -Les fruits prennent une teinte gris argenté, puis progressivement brun rouille. -les feuilles, qui se tordent et s'enroulent légèrement	Anonyme,a (1976)
Les pucerons	1/Puceron vert (<i>Aphispiraeicola</i>)	-Les pousses tendres, -les boutons, les greffes, - les jeunes plantes dans le développement est inhibé	-Recroquevillent des feuilles ; -les fleurs tombent -favorise l'installation de fumagine grâce au miellat produite par le puceron -vecteur potentielle de virus (tristeza des agrumes)	Maryline Franchois et Martine Georget,2006
	2/Puceron noir (<i>Toxopteraaurantii</i>).	présent partout sur les agrumes	-affaiblit les organes attaqués. -provoquant la coulure des fleurs. -Le miellat abondant qu'il produit attire les Fourmis et entraîne le développement de la fumagine.	
Thrips	Thrips des serres (<i>Heliothripsaemorrhoidalis</i>).	-Les feuilles -les fruits	-les fruits attaqués deviennent « plombés » ou « argentés » - lésions de tissus - subérification de la couche épidermique du zeste. -déformations des fruits. -décoloration des parties atteintes des feuilles.	Anonyme,a 1976
Aleurodes	1/ <i>Acaudaleyrodescitri</i>	Toutes les parties de la plante.	-Prise de sève, - Afaiblissent l'arbre, - favorise l'installation d'autres parasites.	Berkani et Dridi, (1992).
	2/ <i>Dialeurodescitri</i>			
	3/ <i>Aleurothrixusfloccosus</i>			
Diptères	La cératite (<i>Ceratitscapitatawied</i>)	Les fruits	-virage de couleur, -maturité interne	Gilles Bénaouf.,2005

Cochenilles:

Se sont des homoptères, insectes piqueurs suceurs soit d'un bouclier, soit d'une matière cireuse ou d'une sécrétion cotonneuse, portant très souvent le nom commun de « pou des plantes ». Ils sont groupés dans différentes familles, selon leurs caractères morphologiques. Bien que les cochenilles se trouvant sur les agrumes soient très nombreuses dans les plus importants sont indiquées dans le tableau ci-après

Tableau 05 : Les principales cochenilles des agrumes :

Cochenilles		Organes attaqués	Effet
La famille	Espèce		
Coccidae.	Cochenilles noire (<i>Saissetia oleae</i> Bernard)	- Sur les rameaux. - moins important sur les feuilles.	- affaiblit les arbres et amène la destruction de leurs organes vitaux.
	Cochenille plate (<i>Coccus hesperidum</i>)	Jeunes rameaux, les pousses de l'année, nervures des feuilles.	- L'arbre envahi par les fumagines. - très visité par les fourmis. - les fruits infestés couverts de fumagines et de miellat.
Diaspididae	Pou rouge (<i>Chrysomphalus dictyospermi</i> Morg)	- s'installent sur les fruits et les feuilles surtout sur la face supérieure. - rarement dans les rameaux.	- les jeunes fruits: déformation de l'écorce. - fruits mûres : laisse des petites taches jaunes dépréciant.
	Pou de Californie (<i>Aonidiella aurantii</i> Maskell)	- tous les parties de la plante.	- jeunes fruits : déformation du zeste. - pertes à l'exportation car il n'est pas possible d'enlever les poux de Californie.
	Le pou noir (<i>Parlatoria ziziphus</i> Lucas)	Envahit surtout les feuilles et les fruits et parfois sur les brindilles et les branches.	- la dépréciation des fruits atteints.
	Cochenille vergule (<i>Lepidosaphes beckii</i> Newman)	S'installent sur toutes les parties de l'arbre mais plus souvent sur les feuilles, les fruits, les rameaux.	- les feuilles : décoloration. - les fruits : il est difficile d'enlever donc ils sont impropres à l'exportation.
	Cochenille serpette (<i>Lepidosaphes gloveri</i> Packard)	Les rameaux	/
Margarodidae.	Cochenilles australienne (<i>Icerya purchasi</i> Maskell)	Sur les rameaux, les branches et le tronc.	Secrète un abondant miellat qui favorise un développement massif de fumagine.
Pseudococcidae	Cochenille blanche (<i>Pseudococcus citri</i> Risso)	Tout l'arbre, les fruits et feuilles	- arbres souillés par la fumagine/ - feuilles poisseuses. - fruits : deviennent salés de fumagines, de miellat et ces endroits sont très visités par les fourmis.

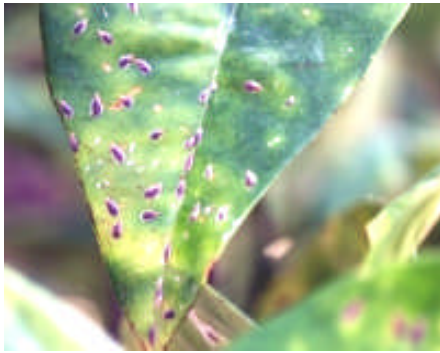


Figure N°6 : La Cochenille asiatique (*Unapsisyanonensi*)
Photo Fredon Corse 2004



Figure N°7 : La cochenillevergule *Lepidosaphesbeckii* Newman)



Figure N°8 : Pou de californie (*Aonidiellaaurantii* Maskell)
Bayer CropScience, 2010

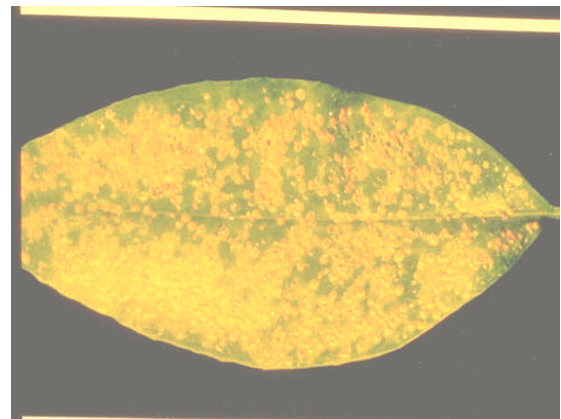


Figure N°9 : Pou rouge (*Chrysomphalusdictyospermi* Morg)
Bernard J.-F. / INRA Maroc, 2010

I-6-2/Les maladies :

I.6.2.1/Les maladies à virus

Les maladies à virus sont considérées comme les plus graves affections qui peuvent atteindre les agrumes car leur action néfaste entraîne dans la plupart des cas le dépérissement complet, soit des arbres isolés, soit des plantations tout entières.

Les maladies à virus qui intéressent en première lieu l'agrumiculture nord-Africaine sont la psorose (*Citrioviruspsorosis*) et la tristeza (*Citriovirusvictoriae*), sur les agrumes on peut observer encore d'autres maladies à virus comme Exocortis, Xyloporose (cachexie) stubborn (*Citrioviruspertinanciae*) (Anonyme a. , 1976).

I.6.2.2/Les maladies cryptogamiques :

Les maladies d'origine cryptogamiques s'attaquent aux agrumes sont assez nombreuses comme la gommose parasitaires, le pourridié, la moisissure verte, la fumagine. Elles s'attaquent aux différents organes végétatifs des citrus (racines, tronc, branche et rameaux, organes floraux, feuille, fruits). (Anonyme a,1976)

I.6.2.3/Les maladies bactériennes :

Les maladies bactériennes sont assez nombreuses mais peu répondues sur les agrumes des pays méditerranéens, une seule est importante: bactériose ou flétrissement (*Phytophthora parasitica* Van hall) qui se manifeste surtout sur les feuilles et les jeunes pousses et parfois observées sur les fruits. La maladie est répondue surtout dans les régions où les périodes froides et pluvieuses sont assez fréquentes. Les attaques ont lieu généralement en hiver ou au début du printemps. (Anonyme a, 1976)

La bactérie *Xanthomonascitri* peut provoquer le chancre des agrumes. Le symptôme est la formation d'un tissu brun spongieux sur les branches, les feuilles et les fruits. On prévient la maladie en utilisant des cultivars résistants. Il n'existe aucune méthode de lutte chimique contre le chancre bactérien ; la seule manière de traiter la maladie est de déraciner et de détruire tous les arbres infectés de la région (van Ee, 1998)

I-7/La variété étudié :**Le citronnier : *Citrus limon*****I-7-1/Caractéristiques de l'arbre :**

Arbre vigoureux à grand développement à feuille de couleur vert clair, grandes, lancéolées avec un limbe légèrement dentelé à l'extrémité. Les fleurs sont groupées en inflorescence, ils sont de grandes tailles plus ou moins remontantes et colorées en pourpre à la base. Les fruits de forme ovale avec un mamelon plus ou moins apparent à leur extrémité avec une peau fine te colorée en jaune à maturité des fruits, elle est très fortement adhérente aux quartiers et pourvue de nombreuses glandes oléifères renfermant des essences (Polese, 2005).

Les citronniers sont très sensibles aux froids et aux excès de température, sont très sensible aussi au mal secco (*Phomatracheiphila*) (Anonyme b,2002).

Les citronniers s'est développé dans les régions tempérées qui favorisent une floraison remontante et une production des fruits sur toute l'année (Ferhat et al, 2010).

L'Espagne est le 1^{ère} producteur mondiale de citron avec Italie et la Grec, les trois pays fournissent 20% de la production mondiale de citrons (Polese, 2005).



Figure N°10 : Arbre du *Citrus Limon*
Personnelle



Figure N°11 : Fruit infestés du
parlatoria ziziphi (personnelle)

Pou noir « *Parlatoria ziziphi* Lucas

Les cochenilles comme les pucerons, les aleurodes et les thrips sont des insectes piqueurs qui se fixent en colonies sur pratiquement toutes les parties aériennes de l'arbre, où elles se nourrissent, en suçant la sève du végétal (Figure N°5). La plupart des espèces, en plus de ces prélèvements de sève, injectent avec leur salive, une substance toxique qui a pour effet d'accélérer l'affaiblissement de l'arbre qui se manifeste par le dessèchement de certains organes, seul quelques espèces se localisent essentiellement sur les feuilles et les rameaux ; les espèces les plus fréquemment présentes en orangerie, se fixent également sur les fruits (Loussert, 1989).

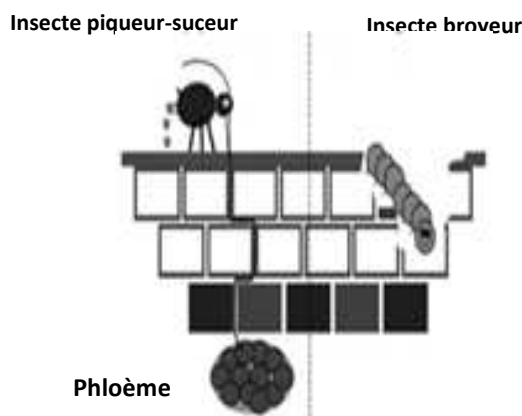


Figure N°12: Mode d'alimentation des insectes phytophage (De Vos et al., 2007)

Le Pou noir « *Parlatoria ziziphi* » est également disséminée dans les vergers mal entretenus, elle se localise sur les feuilles, rameaux et les fruits, plus rarement sur les brindilles, Il se présente sur les fruits sous forme de petits points brillants qui restent fortement adhérents à l'écorce ; les fruits infestés sont impropres à l'exploitation (Loussert, 1989)

II.1/ Identité de l'organisme**II.1.1/ Nom de l'organisme :**

Parlatoria ziziphi (Lucas, 1853)

II.1.2/Synonymes :

Coccus ziziphi Lucas, 1853

Parlatoria lucasii Targioni Tozzetti, 1884

Parlatoria ziziphus (Lucas) Fernald, 1903

Parlatoria zizyphus (Lucas) Cockerell, 1900

II.1-3/Noms communs :

Français : Cochenille noire de l'oranger

Anglais : Black parlatoria scale

Black scale ou *Citrus parlatoria*

II.1.4/Classement taxonomique CABI 2001 :

Classe : Insecta

Ordre : Hemiptera

Sous-ordre : Sternorrhyncha

Superfamille : Coccoidea

Famille : Diaspididae

II.2/ Description :

Le pou noir appartient à la famille des diaspidines. Les larves néonates, vues à l'œil nu, apparaissent sous forme de petits points noirâtres. C'est une toute petite cochenille très plate d'un noir brillant, le bouclier est rectangulaire et repose sur un coussinet blanchâtre que le contraste des teintes souligne encore plus, ce coussinet cireux se continue sous la cochenille en un voile l'isolant de végétal et la femelle n'est plus mise à découvert, elle demeure emprisonnée sous ce voile (Anonyme, 1976). (Fig.12)

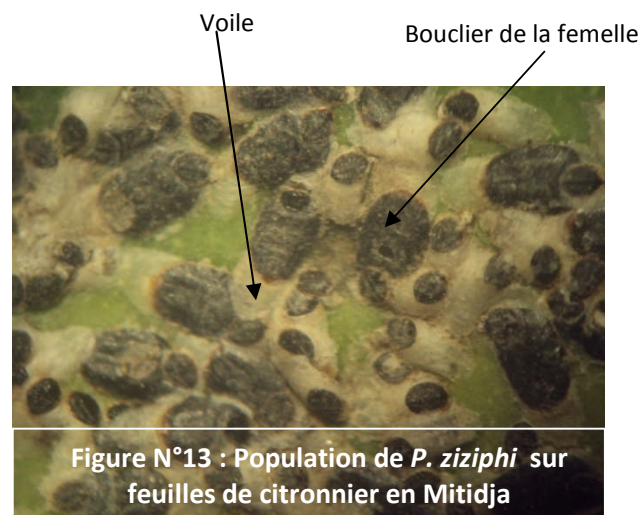


Figure N°13 : Population de *P. ziziphi* sur feuilles de citronnier en Mitidja

II.3/Les dégâts spécifiques :

P.zizphi est strictement monophage, s'alimente uniquement de la sève et plus spécialement de la sève élaborée (Balachowsky, 1932).

Pour s'alimenter, elle pénètre, comme toute les cochenilles, son rostre profondément dans les tissus végétaux où la sève est aspirée à l'aide de son appareil buccal, en même temps qu'elle s'alimente, elle rejette de la salive contenant des toxines, cette sécrétion phytotoxique provoque une destruction de la chlorophylle qui a pour conséquence une désorganisation totale des cellules atteintes (Piquet, 1960. Chapot et Delucchi, 1964) (Fig. N°13)

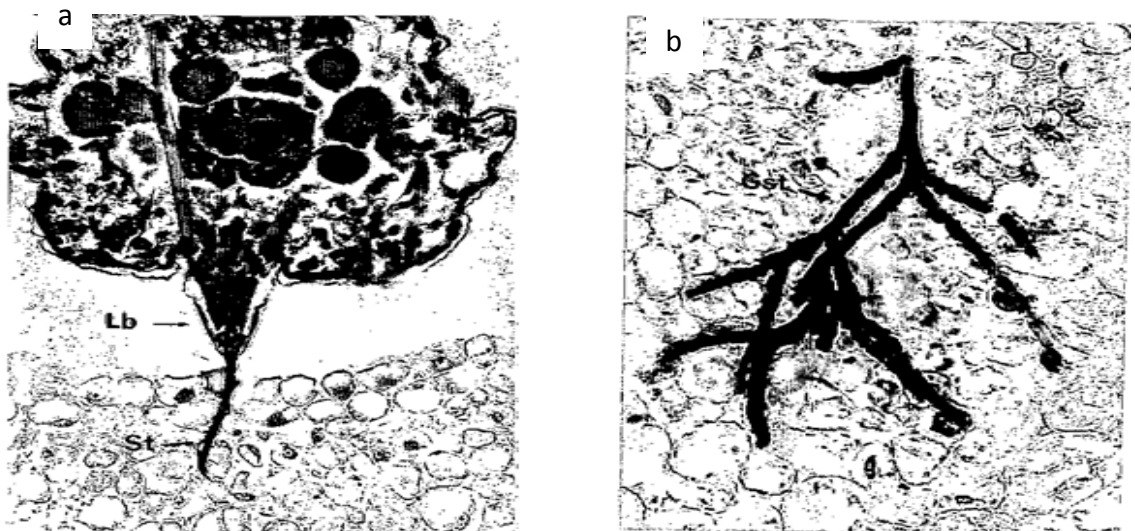


Figure N° 14: a : Vue transversale de la couche épidermique d'un apex de manioc et vue longitudinale du labium (Lb) et des stylets (St) de *Phenacoccus manihoti* ; b : Coupe transversale du parenchyme montrant un trajet inter et intracellulaire des stylets (Gst : gaine sétale) Calatayud C, 1993

II.4/Les Symptômes:

Selon (CABI, 2001), Les prélèvements de sève conduisent à :

- une diminution de la vigueur de l'hôte.
- le feuillage et les fruits peuvent montrer des décolorations jaunes.
- peuvent causer la chute prématurée des feuilles et des fruits.

II. 5/ Caractéristiques biologiques de *Parlatoria ziziphi* :

II.5-1/ Cycle biologique :

Le cycle de vie du pou noir ne diffère pas beaucoup de celui des autres cochenilles diaspines. Le nombre de génération qui sous succèdent annuellement varie entre trois et quatre selon les régions et le climat. Comme chez les autres diaspines, trois périodes marquantes signalées : la première au printemps, la deuxième en été et la troisième au début de l'automne. Au cours des mois chauds de l'été on observe une mortalité élevée des œufs, des larves néonates et de femelle de la dernière génération (Anonyme, .1976).

En Egypte, les fluctuations de population de *Parlatoria ziziphi* sur orange amère ont été étudiées pendant 2 ans (1982-1983), elle présente deux générations annuelles. Au niveau de la structure d'âge des populations, les stades larvaires ont représenté environ 39 % des populations pour les 2 années (El Bolok et *al.* ,1987).

En Chine, *P. ziziphi* présente 3 à 4 générations par an et hiverne sous la forme adulte. La période de ponte dure de 79 à 135 jours et les œufs nécessitent entre 7.8 et 11.6 jours pour éclore (le taux d'éclosion variant entre 89,7 et 99,7 %) (Huang et *al.*, 1988).

La plupart des cochenilles sont situées sur la face supérieure des feuilles, la face inférieure n'étant colonisée que lors de lourdes infestations. Des taux particulièrement élevés d'azote ou de phosphore (surtout dans les plantules d'orangers) peuvent provoquer des infestations de *P. ziziphi* (CABI, 2001). Se trouve aussi dans les vieilles plantations, dans les vergers touffus mal entretenus et sur les arbres mal taillés, se trouvant dans des endroits humides ou dans les bas-fonds (Anonyme 1976).

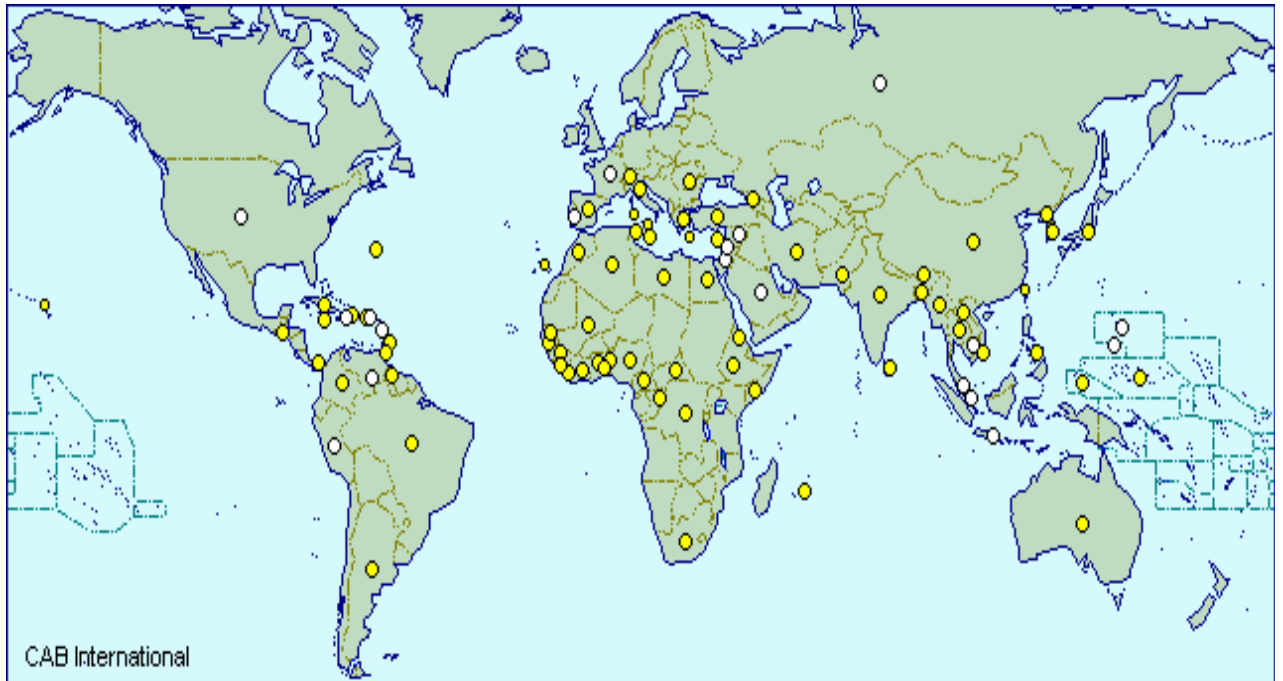
II.5-2/ Dissémination et dispersion

Les cochenilles se déplacent peu d'elles mêmes sinon sur l'arbre. Tant qu'elles ne se sont pas fixées sur un support végétal (au stade L1 mobile), elles peuvent être véhiculées par le vent ou sur des animaux. A plus grande échelle, la dissémination se fait par le transport de matériel végétal infesté (CABI, 2001).

II.6/Historique et répartition

P. ziziphi est probablement originaire du Sud de la Chine (Longo *et al.*, 1995) mais s'est largement disséminée à travers le monde entier, surtout sous les tropiques mais aussi dans certaines régions tempérées. (Fig. N°14)

Dans le Bassin méditerranéen, elle se localise dans les vergers de la bordure nord-africaine où cette cochenille est très commune (Rebour.,1945 ; Benassy.,1975).



Légende : points jaunes = présence sans plus de précision ; blancs = présence restreinte à certaines zones.

Figure N°15 : Répartition mondiale de *P. ziziphi*

En Algérie, la cochenille noire de l'oranger se diffuse partout avec celle de sa plante hôte, elle a été signalée au centre dans la Mitidja, à Alger et à Blida ; A l'est, elle est répartie à Tizi-Ouzou, d'Azazga, d'Annaba et de Constantine ; A l'ouest, dans l'Oran, à Tlemcen, à Ain- Témouchent et à béni-Saf (Balachowsky., 1932), elle est même été observer ou Oasis, à Languate et Bechar par Balachowsky (1932).

II.7/Lutte contre les cochenilles diaspines :

En Chine, *P. ziziphi* a été combattue de manière efficace grâce à diverses matières actives : Ométhoate, Chlorpyrifos, Méthidathion, Quinalphos, Lambda-cyhalothrine, Fenvalérate ou Cyperméthrine (Huang *et al.*, 1988). En Floride,

Dekle(1976) conseille la pulvérisation d'huiles, de malathion mélangé avec des huiles, de Diméthoate ou de Parathion. Des traitements inconsidérés, néfastes à la faune auxiliaire peuvent favoriser le développement de *P. ziziphi* : il faut donc veiller à une application raisonnée des insecticides contre les autres ravageurs des agrumes.

Les pulvérisations doivent être très abondantes : 20 à 50 litres de bouillie par arbre, selon leur taille, une forte pression de pulvérisation est également indispensable pour une lutte efficace contre la cochenille noire. Les pulvérisations qui se feront à l'aide d'une pression de 25 à 30kg/cm² **doivent** être abondantes, les arbres doivent être bien mouillés, pratiquement lessivés, en prenant soin d'atteindre également l'intérieur de l'arbre (anonyme 1976.).

II.8/Quelques conseils pratique de prévention (Loussert,1989)

- * Maintenir les arbres en bonne santé de végétation et pratiqué régulièrement des tailles d'éclaircie afin d'aérer la frondaison car les cochenilles trouvent un micro-climat favorable a leur pullulation
- * Ne pas abuser des traitements insecticides de préserver les insectes auxiliaires, qui dans bien des cas, limitent les pullulations des cochenilles et d'autre ravageurs (Aleurodes, acarïens,.....etc.).
- * Préférer d'utiliser les traitements aux huiles blanches qui sont d'une bonne efficacité sur l'ensemble des espèces de cochenilles et qui ne détruisent pas les insectes auxiliaires
- * Eliminer par un traitement insecticide localisé, les premiers foyers d'infestation dès qu'ils paraissent
- * Pour veiller à la bonne répartition du traitement sur le végétal il faut bien mouiller toute les parties de l'arbre, et faire pénétrer le produit à l'intérieure de la frondaison, en utilisant de préférence des lances portatives à grandes débits et fonctionnant avec les pressions de l'ordre de 20 à 30kg/cm² .
- * Respecter les doses et les époques d'application en fonction de l'état végétatif des arbres, du type de ravageur à détruire en priorité, des conditions climatiques locales et varie l'utilisation des matières actives pour éviter les phénomènes d'accoutumance.

III.1/Historique :

Les relations symbiotiques connu une grande étude à la fin du 19^{ème} siècle, lorsque pour la première fois, Van Beneden, biologiste belge, utilisa le terme de mutualisme (issu du vocabulaire politique) pour décrire une relation aux bénéfices réciproques entre deux espèces. (Van Beneden, 1875), il résuma les grands types d'associations présents dans la nature et distingua du mutualisme le commensalisme, et le parasitisme.

Selon Anton de Bary, mycologue allemand, la symbiose est une association de deux organismes distincts. Comme les lichens, issus de la réunion d'ascomycètes avec des algues ou des cyanobactéries (Van Driem, 2005).

En dépit de la grande diversité des symbioses décrites, l'importance majeure de ce phénomène en biologie a longtemps été sous-estimée même si les premières hypothèses sur l'origine symbiotique des cellules eucaryotes ont été formulées relativement tôt. Ainsi dès 1905, sur les bases des observations de Schmitz (1880) et Schimper (1883), qui avaient découvert que les nouveaux chloroplastes n'étaient pas assemblés dans le cytoplasme de cellules végétales, mais issues de la division d'autres chloroplastes, Mereschowsky (botaniste russe) déclara que les chloroplastes devaient être génétiquement indépendants du noyau (De Surindar Paracer, 2000). Il ajouta que les Cyanophycées (les cyanobactéries) étaient des représentants sous forme libre des chloroplastes et c'est de leur acquisition que les cellules hôtes tiraient leur autotrophie.

Il introduisit également le terme de symbiogenèse pour décrire la genèse d'une nouvelle forme de vie par la symbiose (1909). Les mitochondries, ont été observées dès 1890 par Altmann, un biologiste allemand, qui les décrivait comme des micro-organismes inclus dans le cytoplasme de la cellule hôte. Et l'Ivan Wallin démontra que les mitochondries, tout comme les chloroplastes n'étaient pas d'origine cytoplasmique, et défendit l'existence d'un lien de parenté entre eux et des bactéries libres (Wallin, 1922).

La revue de Lederberg (prix Nobel de physiologie en 1958), publiée en 1952, recensant les systèmes symbiotiques connus, pour que l'importance

fondamentale des symbioses soit reconnue et suscite l'intérêt de la communauté scientifique.

En 1967, Lynn Sagan (Margulis) réaffirma l'importance de la symbiose dans l'évolution de la cellule eucaryote.

III.2/Définition :

Le terme de symbiose a été introduit en première fois en biologie par Frank (1877) et Anton de Bary (1879) comme la règle de vie commune de plusieurs espèces. C'est une association entre deux organismes spécifiquement distincts, cette définition inclut, les associations mutualistes où les deux partenaires bénéficient de l'association, et les associations parasitaires où l'un des partenaires vit aux dépens de l'autre.

III.3/Les modalités de symbiose:

III.3-1/Symbioses facultatives et obligatoires

Les associations symbiotiques facultatives des associations obligatoires. Dans le premier cas, hôte et symbionte peuvent exister indépendamment l'un de l'autre. Dans le second, leur association est essentielle à leur survie. Ces symbiontes facultatifs peuvent jouer un rôle important dans le métabolisme de l'hôte. Chez certains insectes, les symbiontes facultatifs coexistent dans les mêmes cellules que les symbiontes obligatoires avec lesquels ils sont complémentaires et interagissent (Moya et *al.*, 2008). Leur présence est parfois associée à des changements de comportements, tels que la colonisation préférentielle par le puceron infecté d'une plante hôte inhabituelle (Tsuchida et *al.*, 2004).

III.3-2/Ectosymbiose et endosymbiose:

L'ectosymbiose, c'est une localisation du symbionte à la surface des tissus de l'hôte, ou entre les cellules. On trouve cette forme de symbiose dans toutes les associations entre les animaux et les microorganismes du tube digestif, ou bien entre animaux et bactéries de la peau. On peut également qualifier d'ectosymbioses les consortia microbiens (Schink, 2006). L'endosymbiose, c'est une localisation de la symbiose à l'intérieur des cellules de l'hôte, et la conséquence

del'internalisation du symbionte par les cellules de l'hôte, où celui-ci survit, généralement dans une vacuole, et où il peut aussi se diviser.

Le terme d'endosymbiose est également employé pour désigner le phénomène primordial d'endocytose (Madigan et *al.* , 2002).

III.3/Symbiose primaire; secondaire et tertiaire :

Les acquisitions de la mitochondrie et du chloroplaste, à partir de bactéries environnementales, sont appelées des symbioses primaires, cette symbiose est ancienne: 30-270 millions d'années et leur transmission est verticale (mère-enfants). Les hôtes se sont aussi adaptés pour ne pas rejeter et tolérer ces symbiontes et les processus adaptatifs à un symbionte peuvent même induire un état de résistance à des pathogènes (Scarborough CL et coll.2005)

Par contre, le Symbiose secondaire s'explique par l'endosymbiose d'une cyanobactérie par un premier hôte eucaryote, suivie de l'endosymbiose de celui-ci par un second hôte. Cette symbiose est récente et facultative, leur transmission est horizontale (comme une infection, mais survenant de manière quasi obligatoire dans l'environnement concerné)

Parfois, comme chez les dinoflagellés, on observe la perte d'une membrane, le plaste n'en présentant plus que trois.on parle alors de symbiose tertiaire (Lecointret Le Guyader, 2001).

III.4/Rôle des symbioses :

La grande diversité des organismes impliqués dans des symbioses, aux écologies et aux métabolismes variés, occasionne un grand nombre de combinaisons potentielles. Les conséquences métaboliques et éthologiques de la symbiose sont donc très nombreuses.

III.4-1/Source de carbone organique :

III.4-1-1/Symbioses photosynthétiques :

L'acquisition de la photosynthèse est la conséquence la plus répandue de la symbiose. Les associations photosynthétiques se rencontrent dans la plupart des écosystèmes. Dans les eaux récifales, l'endosymbiote représente pour

l'animal une source majeure de carbone, produit sous forme de glucides, et d'oxygène. Cette association permet également aux zooxanthelles d'utiliser le gaz carbonique issu de la respiration, et les composés azotés synthétisés par l'animal. L'adulte de ver plat *Convulataroscoffensis*, qui vit dans les sédiments anoxiques étant dépourvu d'un tube digestif fonctionnel, les symbiotes représentent son unique source de nourriture (Douglas, 1983).

III.4-1-2/Symbioses chimiosynthétiques :

La chimioautotrophie est la propriété de certains procaryotes d'utiliser des composés réduits d'origine géochimique tels les sulfures comme source d'énergie afin de fixer le carbone inorganique. Dans les environnements privés de lumière, les bactéries chimiosynthétiques représentent la principale source de carbone organique (Corliss et al., 1979; Cavanaugh et al., 1981). L'association symbiotique entre de telles bactéries et nombreux invertébrés comme des arthropodes, des oligochètes ou des bivalves, a permis le développement d'une faune très dense dans ces environnements, malgré des conditions a priori gênants (Thiebaut et al., 2002).

III.4-2/Source d'azote :

La pauvreté naturelle des sols en composés azotés représente souvent un facteur limitant la croissance des plantes. Certains végétaux puisent leur azote de l'association qu'ils ont établie avec des microorganismes capables de fixer l'azote atmosphérique (Taiz, 2002). Les légumineuses (pois, soja, haricot, trèfle...) par exemple, possèdent dans des organes nodulaires, localisés au niveau des racines, des bactéries du genre *Rhizobium*, possédant une nitrogénase, complexe enzymatique catalysant la réduction du diazote (N₂) en ammonium (NH₃), assimilable par la cellule eucaryote (Brenner et Winans, 2005).

Les symbioses du tube digestif de certains mammifères herbivores permettent également de recycler les déchets azotés de l'animal. (Douglas, 1994). En milieu marin, un cas d'endosymbiose bactérienne fixatrice d'azote a été démontré dans les branchies du bivalve xylophage *Lyroduspedicellatus* (térédinidae) (Lechene et al., 2007).

III.4.3/Source de nutriments :

Un grand nombre d'insectes sont associés à des bactéries symbiotiques, généralement abritées au sein de cellules spécialisées, les bactériocytes, qui leur fournissent des nutriments essentiels, que leur régime alimentaire, très spécialisé, ne leur fournit pas. La sève végétale par exemple, est très pauvre en acides aminés, et des insectes tel le puceron *Acyrtosiphonpisum* obtiennent de leurs bactéries symbiotiques ceux qu'ils sont incapables de synthétiser eux-mêmes (tryptophane, méthionine...) (Baumann, 1995). Les symbiontes des insectes hématophages fournissent ces derniers en vitamine B, dont le sang des vertébrés est dépourvu (Douglas, 1994). Certaines symbioses représentent également pour ces animaux une source en certains lipides type stéroïdes (Douglas, 1994).

III.4.4/Dégradation du bol alimentaire

Les micro-organismes qui composent la flore intestinale des animaux sont essentiels à leur digestion, en transformant certains polymères en des molécules assimilables par l'hôte. Les animaux xylophages ou herbivores, comme les termites ou les ruminants, hébergent des populations de microorganismes complexes, composées entre autres de bactéries cellulolytiques, méthanogènes et de protistes ciliés ou flagellés. En conditions anaérobies, cette microflore est capable de dégrader la cellulose, principal constituant de la matière végétale, en acides gras à courtes chaînes carbonées, utilisés par l'animal comme source d'énergie (Douglas, 1994).

III.4.5/Luminescence :

Une autre compétence acquise grâce à la symbiose dans les écosystèmes marins est la bioluminescence. Certaines gamma-Protéobactéries possèdent une enzyme de type luciférase, qui émet un photon en présence de son substrat. Cette réaction nécessite une forte densité de bactéries car elle est régulée par des mécanismes intervenant dans la communication inter-bactérienne. Les animaux ayant développé une symbiose avec de telles bactéries (céphalopodes ou poissons téléostéens), hébergent leurs symbiontes dans des organes contractiles, et peuvent ainsi provoquer de manière contrôlée des flashes lumineux (Dunlap 2005). Cette propriété permet aux animaux de trouver leur proie, d'attirer un partenaire, de dérouter un

prédateur, ou bien de se camoufler sur un fond clair. Elle serait en outre responsable de la présence d'yeux fonctionnels chez les animaux des grandes profondeurs (Herring, 2001).

III.4-6/Motilité:

La symbiose permet également à certains organismes unicellulaires de se mouvoir, c'est la phorésie. Ainsi, *Mixotrichaparadoxa*, un protiste qui compose la microflore cellulolytique de l'intestin du termite, possède à un pôle de sa cellule environ 250 000 spirochètes, *Treponemaspirochetes*, dont la rotation lui confère la motilité (Cleveland, 1964). Cette symbiose a d'ailleurs été présentée comme un argument en faveur de l'origine symbiotique des flagelles des cellules eucaryotes.

III.5/ Les symbioses bactériennes :

Les symbioses bactériennes présentent une grande diversité, que ce soit dans la nature des partenaires, dans leur degré de dépendance ou dans les modes d'interactions. Les symbioses à l'origine de la fixation de l'azote par les plantes, de la nutrition de nombreuses espèces d'insectes, ou encore de la survie des métazoaires dans les écosystèmes marins chimiosynthétiques, sont des symbioses bactériennes.

5-1/ Transmission des symbiotes :

Les symbiotes bactériens ont une origine environnementale ou maternelle. La transmission est dite verticale lorsque les symbiotes sont directement transmis du parent à sa progéniture. Ce mode de transmission a été décrit pour les endosymbiotes primaires des insectes, Buchner, en 1965, démontra le transfert des symbiotes du bactériome maternel, vers les œufs en développement dans les ovaires ; toutes les bactéries symbiotiques d'un individu sont ainsi issues d'un faible nombre de bactéries initiales. Ce phénomène représente ce qu'on appelle un 'bottleneck' à chaque nouvelle génération de populations symbiotiques, et se traduit le plus souvent par une accélération caractéristique de leur taux d'évolution génétique (Peek et *al.*, 1998; Gil et *al.*, 2002).

Lorsque l'hôte acquiert ses symbiotes à partir de l'environnement, l'acquisition est dite horizontale. Ce mode de transmission est notamment

observé dans les associations entre les légumineuses et le *Rhizobium*, entre le calamar *Euprymna scolopes* et les bactéries lumineuses *Vibrio fischeri*.

5-2/ Interactions hôte-symbiote :

La première étape essentielle à l'établissement d'une symbiose est la reconnaissance très spécifique qui est le résultat d'une longue histoire évolutive commune entre la bactérie et son hôte. L'endosymbiose nécessite ensuite l'internalisation des bactéries symbiotiques, leur maintien au moins temporaire dans un état physiologique fonctionnel, puis l'établissement d'échanges de nutriments. Des systèmes de régulation doivent ensuite être mis en place afin d'assurer le bon déroulement de la symbiose et la non-prolifération des bactéries.

5-3/La symbiose intracellulaire chez les insectes :

Les insectes sont apparus depuis l'antiquité (de 408 MA à 360 MA) et sont traversés plusieurs âges géologiques, aujourd'hui, ils constituent le groupe animal le plus représenté sur terre avec de plus de 1,4 million d'espèce d'insecte se qui représente environ 80% de la biodiversité totale, selon Erwin (1997) ce nombre pourrait atteindre entre 30 et 50 million d'espèces.

Cette forte représentation des insectes résulte de leur capacité de diversification et d'adaptation à différentes niches écologiques, y compris celles qui sont nutritionnellement déficientes, la conquête de ces niches déficientes, comme la sève phloémienne des végétaux, les graines des céréales, ou encore le sang des mammifères, aurait été facilité par la présence de bactéries symbiotiques intracellulaires (Buchner, 1965). Grâce à la nouvelle capacité physiologique apportée par la bactérie, l'endosymbiose constitue un élément essentiel dans le pouvoir adaptatif des insectes. Aujourd'hui on estime à plus de 10% le nombre d'espèces qui dépendent d'endosymbiotes pour leur viabilité et leur reproduction (Buchner, 1965, Moran et Telang 1998, Moran et Baumann, 2000) (Fig. N°16)

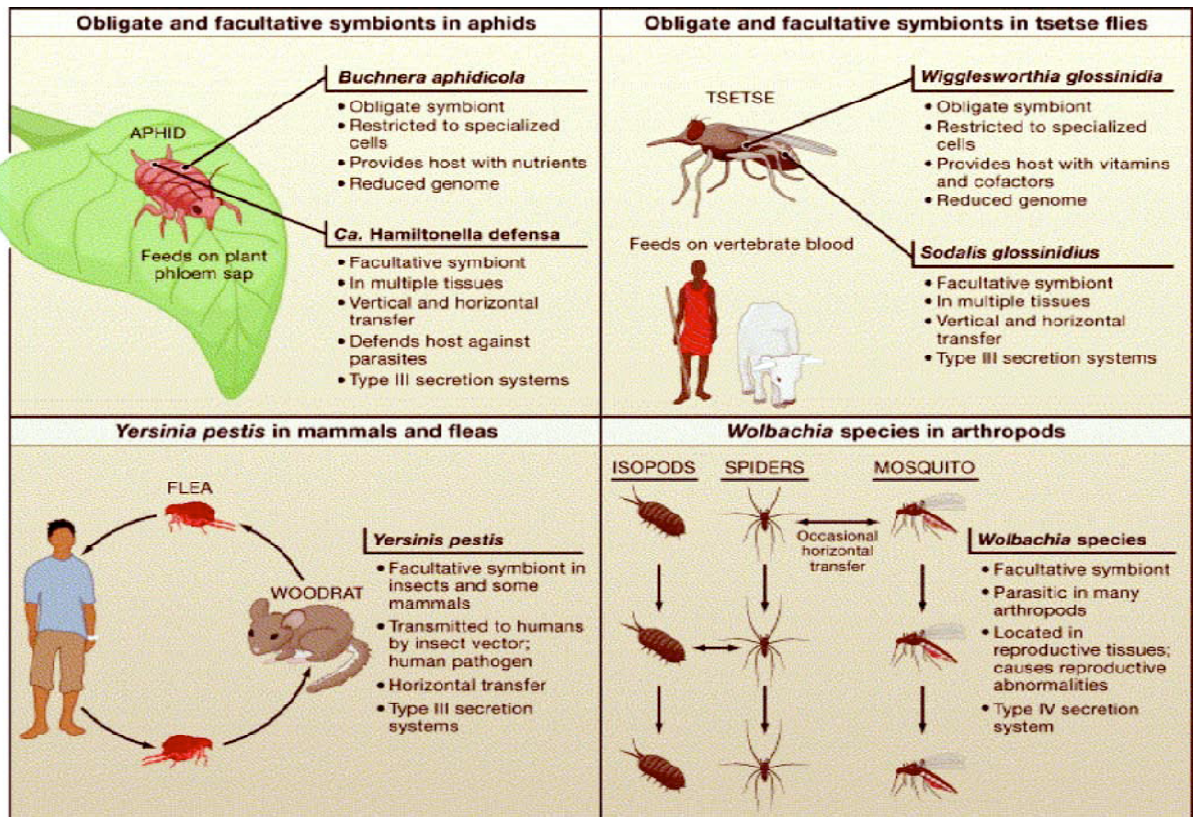


Figure N°16: Parasites intracellulaires obligatoires et parasites intracellulaires facultatifs (Philippe Sansonetti, 2009)

Chez de nombreux hôtes invertébrés les symbiontes sont intracellulaires (endosymbiontes) et subissent une transmission verticale par infection des œufs ou des embryons.

Ces symbiontes obligatoires affectent des interactions très spécifiques avec certaines populations cellulaires durant la colonisation du progénie et le développement précoce des individus. Certaines de ces bactéries se sont adaptées de manière telle qu'elles ont peu ou pas d'effet Négatif sur la santé de leur hôte.

III.1 /Situation géographique :

Notre site d'étude est le verger de la station expérimentale de la faculté Agro-vétérinaire d'université Saad Dahleb *Blida*, situé dans la plaine de la Mitidja.

La Mitidja est une vaste plaine d'une superficie totale de 1400 km², avec 100 km de longueur et de 2 à 18 km de largeur. Elle correspond à une dépression allongée d'Ouest en Est, de Hadjout à Blida. Elle est limitée à l'Ouest par Oued Nador, à l'Est par Oued Boudouaou, au nord, par la ride du sahel et le vieux massif du Chenoua et au sud, bordée par l'Atlas blidéen borné par tout un ensemble de montagnes.

La Mitidja à une latitude nord moyenne de 36 à 48 degrés et une altitude moyenne de 30 à 50 mètre (Loucif et Bonafonte, .1977)(fig N°16)

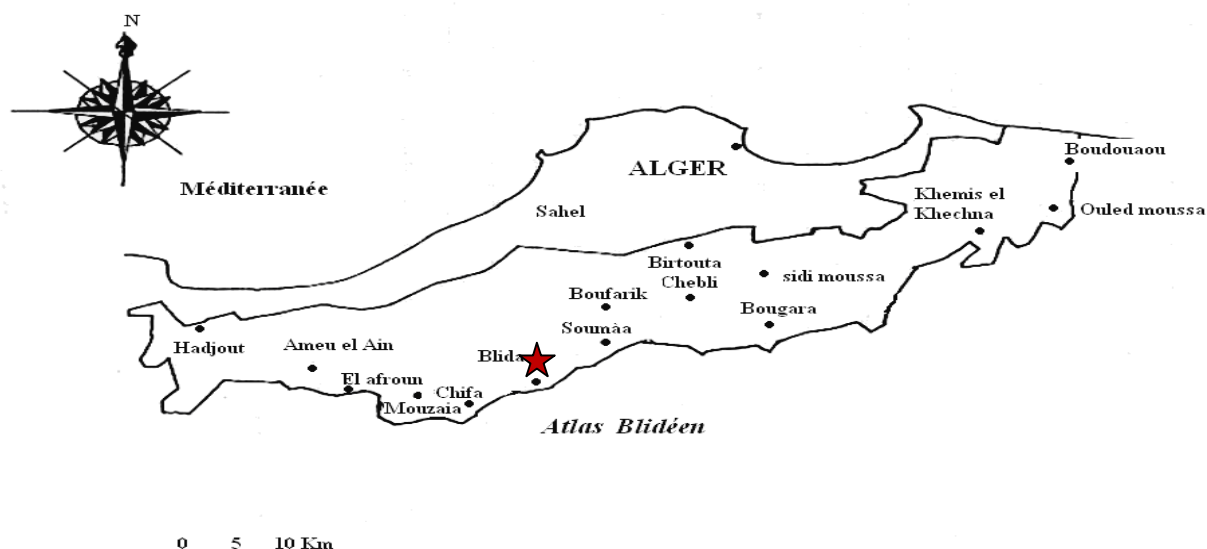


Figure N°17 : Limites géographiques de la plaine de Mitidja (Mutin, 1977)



Figure N°18 : Le champ de prélèvement des feuilles infestées de citronnier en Agronomie

III.2/ Caractéristique climatique de la Mitidja :

III.2-1/ Pluviométrie : Les précipitations mensuelles en Mitidja ont un régime typiquement méditerranéen avec un maximum en hiver et un minimum en été, varient en fonction de la région considérée (Mutin,.1977). Cette inégalité de distribution des précipitations annuelles et l'alternance de la saison humide et sèche joue un rôle régulateur des activités biologiques des ravageurs.

Tableau N°06 : Relevés mensuels des données climatiques de la région (ITAFV).(Anonyme, 2011)

Mois	La pluviométrie		La température			Le vent	
	Mm/ mois	Nb de jour pluvieux	Max en C°	min en C°	Max+min/2 en C°	Nb de jour de sirocco	Nb de jour de vents forts
Septembre	7,8	4	29,43	16,18	23,81	2	1
Octobre	121,5	11	25,25	14,64	18,69	1	3
Novembre	170,5	17	18,79	11,33	14,75	0	1
Décembre	93,9	12	17,70	7,93	12,41	0	3
Janvier	60,7	9	15,95	7,20	11,11	0	0
Février	158	15	16,08	6,69	10,91	0	3
Mars	67,6	9	20,18	9,11	14,19	1	2
Avril	90,6	8	24,14	11,35	17,33	0	2
Mai	41	5	25,08	13,68	19,38	0	2
Juin	1	1	32,26	18,55	25,40	0	1
Juillet	2,1	1	35,97	22,43	29,20	1	1
Août	7,3	3	33,46	21,83	27,64	3	1
Total annuel	822,6	95	29,43	16,18	23,81	8	21

D'après le tableau précédent nous distinguons que les précipitations les plus importantes sont durant les saisons d'automne et d'hiver avec 170,50 mm en

Novembre à 158,6 mm en Février. Les précipitations durant la saison estivale sont très faibles, elles sont de 1mm Pour le mois de Juin 2,1 mm pour le mois de Juillet et 7,3 mm pour le mois d'août. Les précipitations se répartissent sur 95 jours durant la campagne 2010/2011.

Les températures les plus basses ont été enregistrées durant la période d'hiver Janvier et Février avec des températures moyennes respectivement de 11,11 et 10,91 $\pm 1^{\circ}\text{C}$. Tandis que, les températures maximales ont été enregistrée pour le mois le plus chaud en été, elle correspond le mois de Juillet et d'Août avec des températures moyennes varie respectivement de 29,20 à 27,64C°

Selon Mutin (1977), les vents dominant sont de direction Nord-Ouest Modérés, ils frappent, parfois fortement a la fin d'automne et en hiver. Les données du tableau si dessus montrent que le nombre de jours des vents chaud (Sirocco) se manifeste à n'importe quel jour de l'année, mais ils sont très importants en été.

III.2-3/ Synthèse climatique

La synthèse des facteurs climatiques fait intervenir les précipitations annuelles et les températures moyennes mensuelles pendant la période étudiée. Nous avons dressé un diagramme ombrothermique de Gausson (GAUSSEN et BAGNOULS,1953) durant la campagne d'étude 2010/2011.

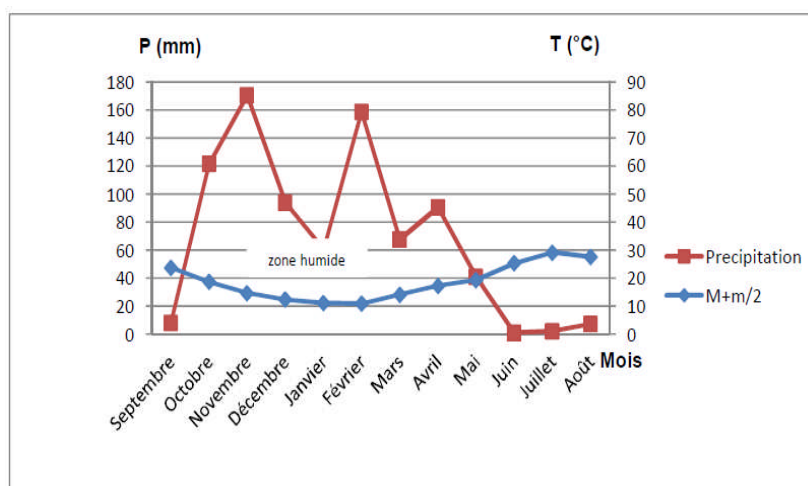


Figure N°19: Diagramme ombrothermique de Gausson de la région de la Mitidja.

La figure N°19 montre que la pluviométrie pendant l'année 2010-2011 varie de 1mm à 170 mm. Elle est plus élevée durant la période hivernale et printanière et basse

durant la période estivale. La période sèche s'étale du mois d'Avril au mois de Septembre 2010, avec un maximum de température en mois de juillet (35,95C°).

I.1/Matériel utilisé :**I.1-1/Le matériel biologique :****a/Matériel végétal :**

Les feuilles de citronnier : Les feuilles des citronniers prélevés sont choisies par rapport à leur haute infestation, sont nettoyées, lavées, séchées avec un papier absorbant, broyées, presser et centrifuge, le suc obtenu est dilué à (100, 1000, 10000, 100000) ml pour les cultures bactériennes. Ce suc a subit le dosage des protéines et des acides aminés.

Les feuilles des citronniers non infestées sont nettoyées, lavées, séchées avec un papier absorbant, broyées, presser et centrifuger pour le dosage des protéines et des acides aminés.

b/ Matériel animal :

La cochenille (*Parlatoria ziziphi*) : Le travail a été effectué sur les individus de femelle adultes, évoluant sur les feuilles de citronnier de la station expérimentale de la faculté d'agro-vétérinaire. Ces individus ont subi d'abord l'enlèvement de la carapace, et les prosomas prélevés sont plongés dans de l'eau de javellisée trois fois et rincé ensuite avec de l'eau distillée stérile, et broyés dans des conditions stériles sous hotte à flux laminaire. Ces broyats sont utilisés pour réaliser les différentes dilutions et les cultures aerobiques afin de déterminer le bactériome.

I.1-2/Le matériel et produits de Laboratoire :**I-1-2-1/Le matériel (Annexe N°II)****I-1-2-2/ Les produits :****a- Les milieux de cultures :**

-Gélose nutritif.

-Gélose hektoène.

-Gélose Chapman.

-Citrates de Simmons.

-Mannitol-Mobilité.

- Kligler-Hajna

b-Les réactifs utilisés pour les analyses biochimiques :

-CuSo₄,5 H₂O.

-NaOH .

-KI.

-tartrate double de Na et deK.

-La ninhydrine .

-la méthylcellosolve (éthylène mono éthyle éther)

-Chlorure mercurique.

-Chlorure de sodium.

-Acide trichloracétique.

-Formol.

- Acide picrique.

- Alcools éthyliques

- Alcool butylique I

-Alcool butylique II

- Toluène

I-2 /Méthodes de travail :**I-2-1/ Identification du bactériome de *P.Ziziphi*:****I-2-1-1/Préparation de l'inoculum :****a/ Inoculum 01 : cochenille entière (sans bouclier) :**

Le prélèvement de 100 individus de femelles adultes de *P. ziziphi* est suivi de l'enlèvement de leur carapace avec des pinces très fines stériles. Les cochenilles prélevées sont mis dans des coupelles en verre et lavées 05 fois à l'alcool éthylique à 95°, sous hôte à flux laminaire pour éviter toute contamination, ils sont ensuite broyés dans 5ml de l'eau physiologique.

b/ Inoculum o2 : l'extrait des feuilles de citronnier :

Les feuilles prélevées sont lavées à l'eau distillé avec deux gouttes de l'eau javel pendant 3 minutes, ensuite elles sont rincées 3 fois à l'eau distillée stérile et séchées pendant 15 à 20 minutes dans une chambre stérilisée à la lumière UV. Ces dernières ont subit un broyage manuel à l'aide d'un mortier stérile, on exerçant une légère pression avec un morceau de bonde à gaz stérile et on recueil le liquide foliaire pour subir une centrifugation afin d'obtenir le suc cellulaire.

La stérilisation de notre matériel à été faite à l'aide d'une étuve à 120c° pendant 20 minutes.

I-2-1-2/Préparation des dilutions :

Dilution 1(1/100) : Nous ensemençons 0,1ml de chaque type d'inoculum dans un tube de hangates contenant 10 ml de milieu liquide hyper-saccharosé, ces tubes sont considérés comme la première dilution pour chaque inoculum.

Dilution 2 (1/1000) : A partir de la dilution (1) nous faisons la dilution suivante de 1/1000, pour chaque inoculum, nous prendrons 1ml de la dilution (1/100) ml et la mettre dans un tube de hangates contenant 9ml de liquide hyper-saccarosé.

Dilution 3 (1/10 000) : A partir de la dilution de 1/1000 nous faisons la dilution suivante de 1/1000, pour chaque inoculum, nous prendrons 1ml de la dilution (1/1000) ml et la mettre dans un tubes de hangates contenant 9ml de liquide hyper-saccarosé.

Dilution 4(1/100 000) : A partir de la dilution de 1/10000, nous faisons la dilution 1/1000, nous prendrons 1ml de la dilution (1/100) ml de chaque inoculum, et la mettre dans un tube de hangate contenant 9ml de liquide hyper-saccarosé.

REMARQUE : nous préparons six tubes pour chaque dilution des deux inoculas.

*Ces tubes sont ensuite mis en culture aérobie pendant 48 heures à 37C° dans l'étuve.

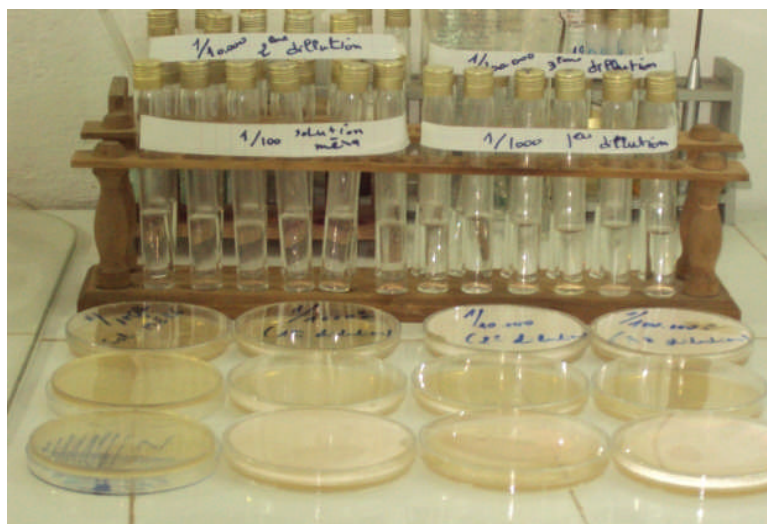


Figure N°20 : Les différentes cultures et dilutions du broyat de la cochenille



Figure N°21: Les différentes dilutions du broyat des feuilles de citronniers infectées.

I-2-1-3/Préparation des cultures :

Nous avons pris une goutte de chaque dilution à l'aide d'une pipette pasteur, est mise dans la boîte de pétri contenant déjà le milieu de culture de gélose nutritif, qui a subi un autoclavage à 110°C pendant 20 minutes. Ces boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C.

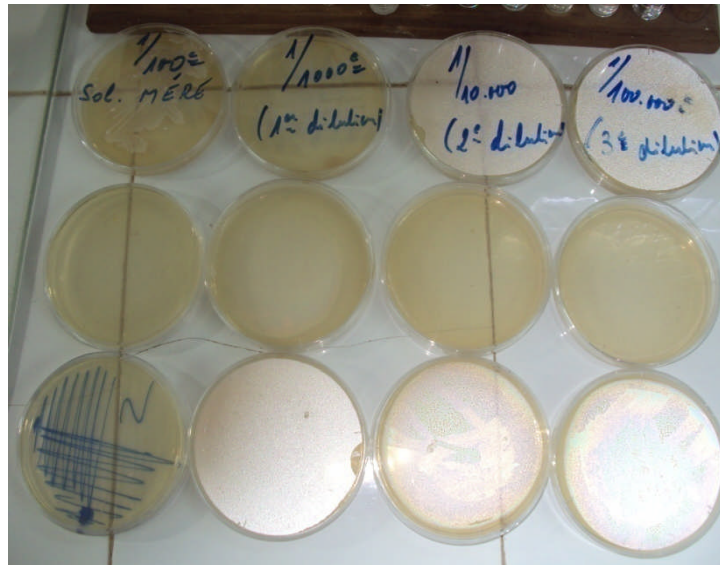


Figure N°22 : Les différentes dilutions de la culture du bactériome de la cochenille (3 boîtes /dilution)

I-2-1-4/ Identification bactérienne :**a/ Etude morphologique :****La coloration de Gram****➤ Principe :****1/Réalisation du frottis :**

Sur une lame, nous déposons une goutte d'eau stérile, et on ajoute une goutte de la colonie isolée à l'aide d'une pipette pasteur. Cette colonie est étalée et fixée sous une flamme pendant 10 minutes. La lame séchée est déposée sur le portoir de coloration.

2/ Réalisation de coloration :

1/Coloration par le violet de gentiane : laissé agir 30 secondes à une minute. Ensuite rincer à l'eau déminéralisée.

2/Fixation de la coloration par le Lugol étalé et laisser agir 20 secondes.

3/Rinçage à l'eau déminéralisée.

4/décoloration rapide à l'alcool : verser quelque goutte d'alcool sur la lame inclinée obliquement de 5 à 10 secondes.

5/rinçage à l'eau déminéralisée.

6/Recoloration à la fuchsine (1/10) pendant 30 secondes à 1 minute.

7/Rinçage à l'eau déminéralisée et sécher la lame à 40c°, 10 à 15 minutes.

8/Observer à l'immersion (G x 1000).

b/Isolement bactérienne :

Après l'identification au microscope des différents types de bactéries, nous cherchons à isoler les bactéries du mélange pour nous permettre de les identifier. Pour cela nous avons utilisé la technique d'isolement par stries sur gélose coulée dans des boîtes de Pétris. Cette technique renferme l'utilisation de deux milieux de cultures sélectifs de quelques groupes de bactéries, présentant des caractéristiques différentes, et un milieu non sélectif qui nous permettra l'observation macroscopique de toutes les colonies présentes dans notre milieu.

Le milieu non sélectif est la gélose nutritive, qui nous permet de faire l'observation macroscopique des différentes colonies de la semence.

Milieu de gélose Chapman : ce milieu est sélectif pour les bactéries halophiles, les staphylocoques ou les microcoques, l'utilisation du mannitol est marquée par une coloration jaune autour des colonies mannitol positive et une coloration rouge autour des bactéries mannitol négative du à l'indicateur de pH du rouge de phénol. (Fig. N°23 et 24)



Figure N°23:Aspect du milieu avant utilisation



Figure N°24:Aspect du milieu après utilisation

Milieu de gélose Hektoen : Ce milieu contient trois types de glucides : la salicine, le saccharose et le lactose. L'identification des colonies isolées est fondée sur l'attaque de ces trois glucides. Un autre caractère biochimique que l'on peut suivre sur ce milieu est la production d' H_2S à partir de thiosulfate. Elle se traduit par l'obtention de colonies à centre noir, cette coloration est due à la formation de sulfure de fer. Deux indicateurs sont présents dans ce milieu :

- le bleu de bromothymol qui est indicateur de pH)
- la fuschine acide, qui se colore en présence d'aldéhyde. (Fig.n°25 et 256)



Figure N°25:Aspect du milieu Hektoen avant utilisation P.Y. Guillaume 2004



Figure N°26:Aspect du milieu Hektoen après utilisation P.Y. Guillaume 2004

Méthodologie:

On stérilise l'anse à la flamme du bec benzène, on la laisse refroidir dans la zone stérile. Avec cette dernière nous ensemençons une colonie obtenue ultérieurement à la périphérie que nous étalons en stries serrées sur toute la surface du milieu. Les boîtes de Pétri sont mises en position renversée à l'étuve à 37°C pendant 24 à 48h. Nous avons refait la coloration de Gram dans le but de confirmer le caractère Gram. (Fig. N°27)

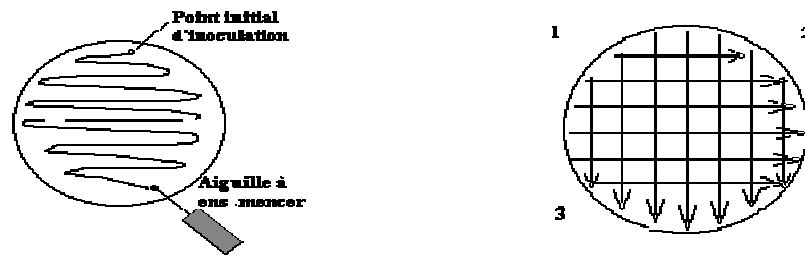


Figure N°27: Méthode d'isolement bactérienne

c/Étude biochimiques :

c-1/ Urée indole :

Nous ensemençons une colonie de bactéries dans des tubes contenant le milieu Urée –indole, qui seront incubés à 37C° pendant 24 heures, ce dernier nous donne 02 caractères : l'Urée et l'indole ; la recherche de l'Urée se fait à la sortie de l'étuve, si le tube est rouge nous distinguons que l'Urée est positive. Si le tube reste orange ou clair, on dit que l'Urée est négative. Par contre la recherche de l'indole nécessite l'adjonction de 2 ou 3 gouttes du Réactif de Kowacs, et on lit tout de suite la réaction. La production d'un anneau rouge en surface du milieu indique que l'Indole est positif et l'absence de l'anneau rouge indique que l'Indole est négatif.

c-2/oxydase :

On dépose une colonie suspecte à la surface d'un disque d'oxydase préalablement imbibé d'une goutte d'eau distillé stérile, s'il y a virage immédiat au violet au point d'incubation nous induirons que l'oxydase est positive s'il n'y a rien, l'oxydase est négative.

c-3/Nitrate réductase :

On ensemence un bouillon nitrate à partir d'une colonie bactérienne, et l'incubation de ce bouillon est réalisé à 37C° pendant 24 heures. Après, on ajoute les réactifs Nitrate I et nitrate II et nous effectuons les observations après quelque minute, s'il y a virage au rose ou au rouge on conclue qu'il y'a présence de l'enzyme

nitrate réductase, si le milieu reste claire ou jaunâtre, on doit poursuivre la réaction en ajoutant un peu de poudre de Zinc sur le milieu:

*si le milieu vire au rose ou au rouge : absence de nitrate réductase.

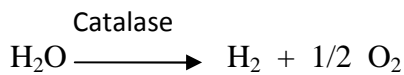
*si le milieu reste tel quel : réaction positive donc présence de nitrate réductase.

c-4/Test de la catalase :

Une colonie de bactérie est déposée sur une lame propre et émulsionnée avec une goutte d'eau oxygénée à 10 v°.

La libération de l'O₂ se traduit par l'apparition de

Bulles gazeuses selon la réaction :



On peut dire alors que la souche examinée est catalase positive. (Fig. 28)

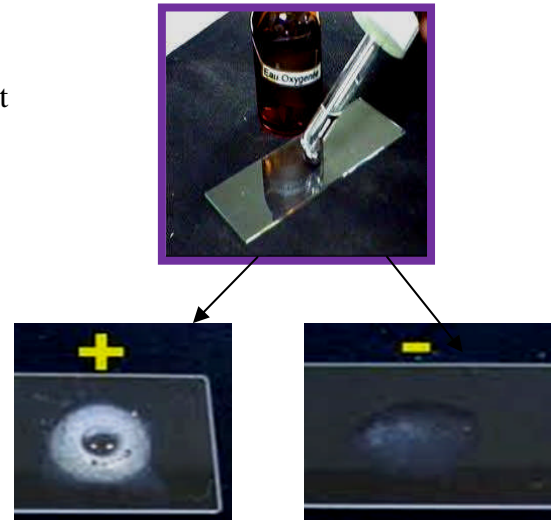


Figure N°28 : Le teste de catalase
Imane GHOURI. ,2003

c-5/ Détermination de la voie fermentative

Nous ensemençons un tube contenant le milieu liquide Clark et Lubs avec le germe à étudier puis nous l'incubons pendant 24 heures à 37C°. Ensuite, le tube sera réparti en deux autres tubes, l'un servira à la recherche de VP et l'autre servira à la recherche de RM. La voie "butylène glycolique" est mise en évidence par la réaction de Voges-Proskauer (VP) .

Réaction VP

Nous Versons 5 gouttes d'une solution d'alpha naphthol (VP1) et 5 gouttes d'une solution de soude 4N (VP2), nous agitions énergiquement et nous laissons 10 secondes à la température du laboratoire. L'apparition à la surface du liquide d'une coloration rose, qui se généralise par la suite, montre que la souche étudiée produit de l'acétyl-méthyl-carbinol (acétoïne), à partir de l'acide pynivique. La souche est alors VP(+). (Fig. 29)

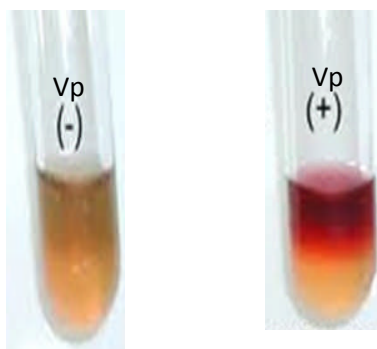


Figure N°29: Explication de la réaction VP.

Imane GHOURI. ,2003

Réaction RM

Sur ce tube servant à la recherche de RM, nous rajoutons 2 gouttes du réactif RM et on attend environ 10 à 15 mn, puis on lit la réaction, une coloration rouge traduite une réaction (+)



Figure N°30 : Explication de la réaction RM.

P.Y. Guillaume 2004

c-6/ Fermentation du Mannitol

Nous ensemençons par une piqûre centrale le milieu partiellement gélosé Mannitol Mobilité, et après 24 heures de l'incubation à 37C°, la fermentation du mannitol entraîne le virage du milieu au jaune. Ce milieu donne deux caractères, la mobilité et la fermentation de mannitol.(Fig.31).

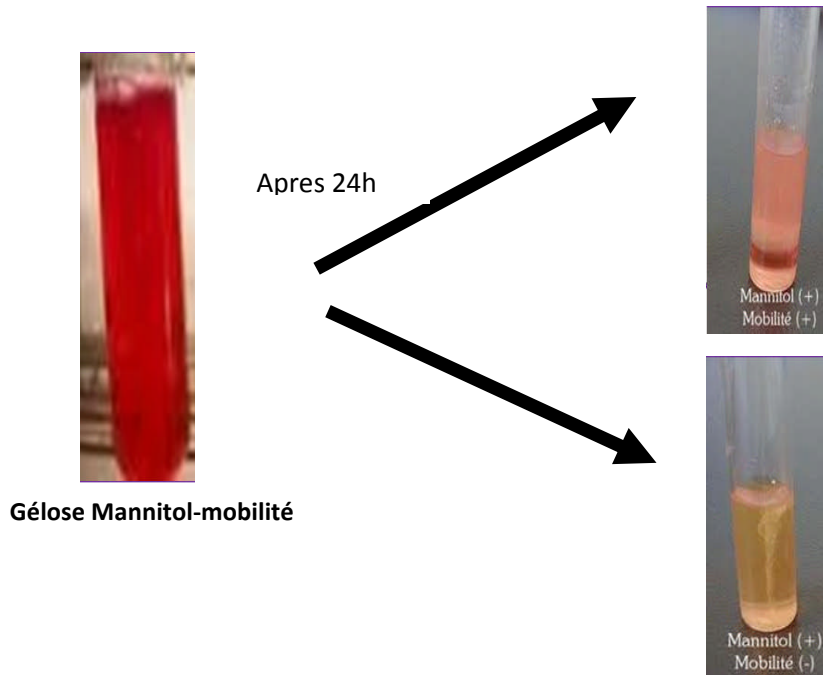


Figure N° 31: La voie de fermentation de mannitol. Imane Ghouri. ,2003

c-7/ Acides Aminés : LDC, ODC et ADH :

Les décarboxylases (LDC, ODC) constituent le groupe où se situent les réactions les plus importantes en ce qui concerne la biodégradation des acides aminés par les bactéries, qui donnent la libération de NH_3 . La recherche des décarboxylases permet une meilleure identification de certains groupes bactériens.

Parmi les acides aminés à testés, on retient principalement :

- LDC : Lysine Décarboxylase
- ODC : Ornithine Décarboxylase
- ADH : Arginine Décarboxylase

Ces acides aminés sont commercialisés généralement sous forme d'ampoules contenant 5ml, et repartis alors en tubes de Kahn à raison de 0,5 ml par tube.

Pour chaque germe, on dispose de trois tubes de Kahn, l'un contenant LDC, le deuxième l'ODC et le dernier l'ADH. Chacun de ces trois tubes sontensemencé

d'une colonie bactérienne, puis nous avons ajouté une couche d'environ 0,2 ml d'huile de vaseline puis nous avons incubé le tout sous température de 37°C à l'étuve pendant toute une nuit.

Ces acides aminés sont en général de couleur violet, si la couleur devienne jaune, ce qui explique que les bactéries ont dégradées les acides aminés.

Pour le cas des bactéries gram(-) : en plus des testes cités, nous avons ajouté les testes suivantes :

c-8/ Gélose TSI (Triple Sugar Iron) :

On prend une colonie bactérienne ayant poussée sur gélose Hektoen, qui servira à l'ensemencement en strie sur la pente puis une piqûre centrale dans un tube à gélose inclinée de TSI (Hagna Kligler), il ne faut pas serrer complètement leurs bouchons. Ce milieu renferme par ordre de bas en haut ; le glucose ; le saccharose et le lactose, il nous renseigne sur 5 caractères, à savoir :

Glucose, gaz, H₂S, saccharose et lactose. Au moment de la lecture nous déterminons les 5 caractères. Ces tubes ont été incubés à 37°C pendant 24 heures. (Fig. 32)

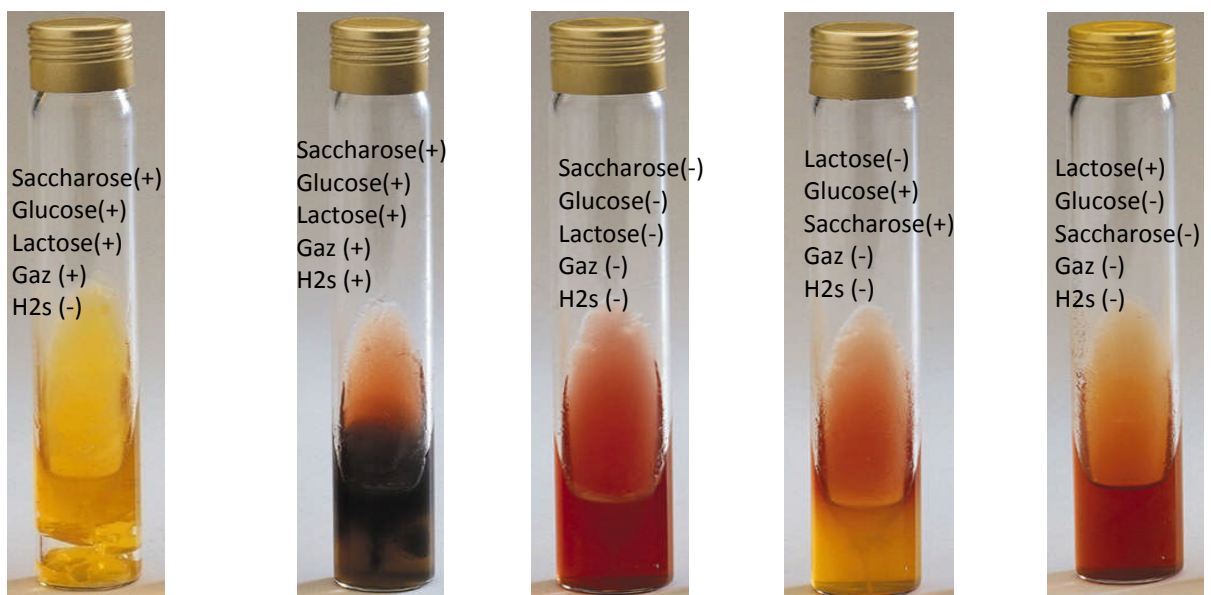


Figure N°32 : Les différents cas d'utilisation des sucres de TSI.(Imane Ghouri.,2003)

c-9/Citrate de Simmons

Ensemencer par stries le milieu gélosé Citrate de Simmons de coloration verdâtre ⇒
Incubation

Après 24 heures, s'il y a virage de la partie ensemencée au bleu, ceci se traduit par
l'utilisation du substrat comme source de carbone donc la Souche est Citrate
positive .

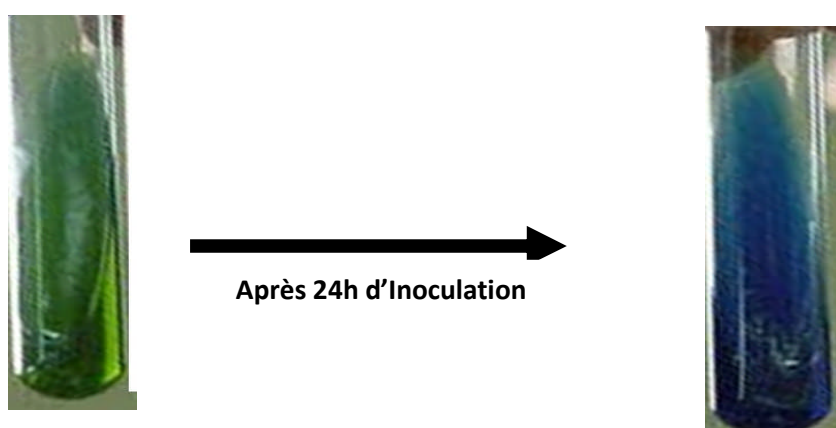


Figure N°33 : Citrate de Simmons

c-10/ ONPG = Recherche de la B-Galactosidase

C'est une enzyme responsable de la dégradation du lactose en galactoside artificiel : Ortho-Nitrophenyl Pyranogalactoside (ONPG).

Les bactéries possédant l'enzyme lactose perméase sont capables d'hydrolyser le lactose ou un galactoside artificiel tel que l'ONPG et le produit libéré soit l'O.Nitrophénol qui colore le milieu en jaune canari et le pH est légèrement alcalin.

Cette méthode consiste à mettre un disque d'ONPG dans un ml d'une suspension bactérienne constituée de 0,5 ml d'eau distillée stérile et de colonies bactériennes dans un tube. Ce dernier est mis dans un bain-marie pendant 30 à 45 seconde, ensuite, incubé à 37C° pendant 24h.

- S'il y a virage au jaune donc la bactérie est ONPG positive.
- Si le milieu reste incolore, la bactérie est ONPG négative

I.2.2/ Étude de la qualité nutritionnelle biochimique de *P. ziziphi* :

Chez les Homoptères, une bonne connaissance de la composition et de la teneur en nutriments primaires de la sève phloémienne permettrait de mieux comprendre la nutrition de ces insectes et leur relation avec leur plante hôtes.

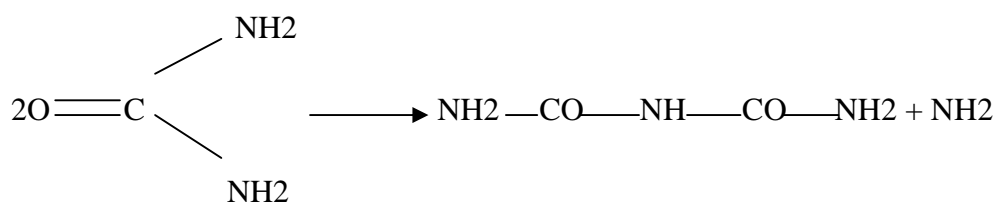
I.2.2.1/Dosage des protéines et acides aminés :

- **Dans les feuilles seines et les feuilles infectées :**

- **Dosage des protéines totaux (méthode de biuret)**

1/principe :

La biuret résulte de la concentration de 2 molécules d'urée avec départ d'ammoniac



La biuret réagit en milieu alcalin avec le CuSO_4 en donnant une coloration violette dont le maximum d'absorption est à 540 nm.

Par suite de leur analogie de structure avec la biuret, les peptides et les protéines donnent la même réaction. La zone d'utilisation est de 1 à 20 mg/ml.

2/Mode opératoire :**2-1/ Préparation d'une gamme étalon d'ovalbumine**

A partir de la solution étalon d'ovalbumine à 10 mg/ml, nous avons réalisé une gamme étalon de 6 tubes contenant de 2 à 10mg d'ovalbumine par tube. Nous avons préparé en même temps les tubes expérimentaux (n° 7 et 8) qui contiennent une prise d'essai de l'extrait végétal (0,4ml) des feuilles saines et (0,2ml) des feuilles infectées (Tab. N°07)

Tableau N° 07: Présentation de La gamme étalon des protéines totaux :

Tube N°	1	2	3	4	5	6	7	8
Solution standard d'ovalbumine à 10mg/ml (ml)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1		
Extrait des feuilles (ml)							0,2	0,2
Eau physiologique (ml)	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0	0,8	0,8
Réactif de biuret (ml)	4ml dans chaque tube à essai							
Attendre 10 minutes à l'obscurité à température ambiante								
Lire les D.O à 540nm								

➤ **Dosage des Acides aminés :**

Méthode de la Ninhydrine

1/Mode opératoire : Le réactif utilisé contient deux produits hautement toxiques :

-La ninhydrine :R22-36/37/38

-la méthylcellosolve (éthylène mono éthyle éther)

2/Préparation de la gamme étalon :

À partir d'une solution mère d'alanine à 6mmol/l, nous préparons 100 ml de solution fille à 0,3 m mol/l et nous réalisons en tube à essai une gamme d'étalonnage de 6 tubes numérotés de 0 à 5 selon les indications suivantes :

- Solutions filles d'alanine : 0ml ; 0,2ml ; 0,4ml ; 0,6ml ; 0,8ml et 1ml.
- Eau distillé quelques 1 ml
- Réactif à la ninhydrine : 1ml par tube

Nous bouchons les tubes avec du coton cardé recouvert de papier d'aluminium, puis nous les portons au bain- marée bouillant pendant 15 minutes sous hotte. Ensuite, nous les refroidirons dans un bain d'eau glacé, et nous ajoutons 5ml de la solution éthanol/eau dans chaque tube. Une légère homogénéisation du contenu des tubes est suivie d'une lecture de la D.O à 570nm.

2-3/ Solution à doser :

Les prises d'essais de 0,2 ml pour les feuilles saines et 0,2 ml pour les feuilles infectées, ont subi les mêmes étapes que la gamme étalon.

I.3/ Étude du trajet de stylet de *P. ziziphi* :

Le comportement alimentaire des cochenilles a été décrit ou évoqué chez des Coccidae et des Pseudococcidae dans un petit nombre de cas comparativement aux Aphididae (Smith, 1926, Heriot, 1934, Pesson, 1944, Grasse, 1951, Albrigo et Brooks, 1977, Yasuda, 1979, Campbell, 1990, Molyneux et coll., 1990). Sur la base d'observations histologiques et de la production de miellat, les auteurs précédents rapportent que le comportement des homoptères est phloémophage. Ce Comportement a également été décrit chez des Diaspididae.

(Smith, 1926, Rosen, 1990) ont signalé, en revanche, l'existence de quelques diaspines présentant une alimentation non phloémienne. Plus de 200 travaux utilisant la microscopie optique rapporte que le trajet des stylets varie selon les espèces d'Aphides. Il est généralement clairement intercellulaire mais peut parfois apparaître intracellulaire ou mixte. (Pollard, 1973)

➤ Méthodologie :

Nous prélevons des feuilles d'agrumes infestés de cochenilles noires et nous les plongeons dans un liquide fixateur de Halmi (Gabe, 1968). Que nous pouvant préparer avec 45 g de Chlorure mercurique, 0,5 g de chlorure de sodium et 2,0 g d'acide trichloracétique dissouts dans 80 ml d'eau. A ce volume, nous avons ajouté 20 ml de formol et 10 ml d'une solution saturée en acide picrique. Après 24 heures de fixation, l'ensemble feuille-cochenilles est déshydraté par des bains successifs d'alcools éthyliques (30 secondes par bain) et d'alcool butylique 1 (24 h), puis nous les imprégnons dans de la paraffine par trois bains de 30 secondes chacun. Ensuite, nous les incluons dans des moules et nous versant la paraffine liquide dessus, qui se solidifie pour former les blocs. Les blocs ainsi formés sont coupés au microtome de type Leica (voir Annexe III) avec une épaisseur de 7 µm et récupérées sur des lames. Les coupes obtenues sont passées à la plaque chauffante pendant quelques secondes pour éliminer le surplus de la paraffine, ensuite dans un bain de toluène pendant 5 secondes pour le déparaffinage complet. Elles sont ensuite réhydratées progressivement 2 secondes par bains successifs d'alcool et d'eau distillée. Puis, elles

sont colorées pendant quelques minutes à la safranine. Cette dernière colore la gaine des stylets de l'Homoptère en rouge vif, ainsi que les parties lignifiées et subérifiées de la plante. Les coupes sont colorées ensuite au Bleu de méthyle, pour faire apparaître en bleu la cellulose (Locquin et Langeron, 1978).

Après Colorations, elles sont déshydratées dans deux bains successifs d'alcool butylique II et de Toluène (2 secondes par bain). Enfin nous réalisons un montage au cedax entre lame et lamelle pour permettre les observations sous microscope optique.

I-Étude de bactériome :**I-1/ Les cultures bactériennes :**

La culture de la dilution 1/100 de broyat de la cochenille présente des petites colonies qui jaunissent après 48 heures. Les autres cultures de 1/1000, 1/10 000 et 1/100 000 présentent des colonies denses sous forme des nappes (fig.34).



Figure N°34 : Les cultures des différentes dilutions du broyat de la cochenille

Les cultures de l'extrait foliaire des feuilles infectées indiquent que, pour toutes les cultures des dilutions de 1/100, 1/1000, 1/10 000 et 1/100 000 il y a une forte poussée des colonies qui sont grosses et dans la plus part formant des nappes (fig.35).

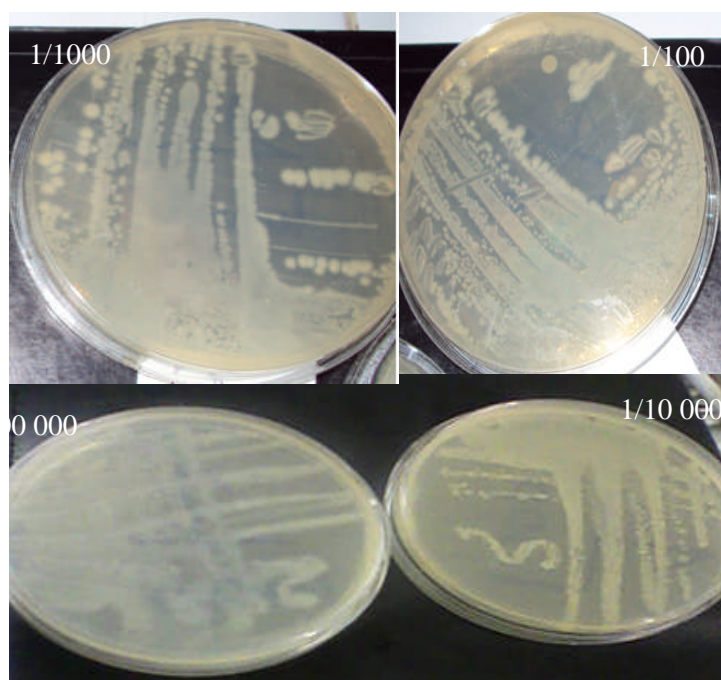


Figure N°35 : Les cultures des différentes dilutions des broyats des feuilles

I-2/ La coloration de Gram :

Le test de la coloration de gram a révélé que les souches bactériennes trouvées dans :

- La culture du broyat de la cochenillesont des coques Gram(+) et des bacilles Gram(+). Les Cocci Gram+ sont rencontrés dans la culture de la dilution 1/100. Les bacilles Gram+ sont rencontrés dans les cultures de dilutions de 1/1000, 1/10000 et 1/100000. (Fig. 36 et 37)

- La culture du broyat des feuilles infectées sont des bacilles Gram(-) et des bacilles Gram(+), ils sont présentes dans toutes les dilutions(fig.38, 39)



Figure N°36 : bacilles gram (+)
chez la cochenille (GX100).

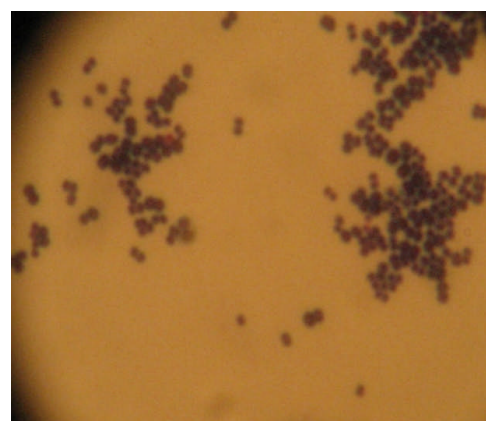


Figure N°37 : Cocci gram (+)
chez la cochenille (GX100).

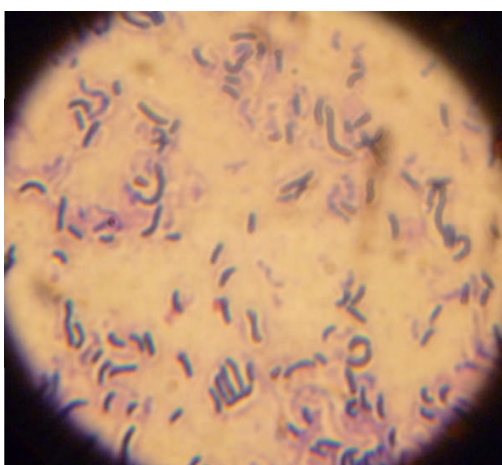


Figure N° 38: des bacilles Gram (+)
de broyat des feuilles de citronnier
infectées

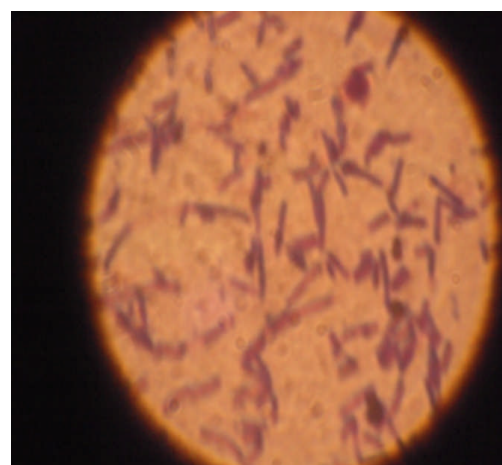


Figure N°39 : des bacilles Gram (-) de
broyat des feuilles de citronnier
infectées

Parmi les bactéries isolées sur milieu solide pour chaque type d'inoculum, il a été noté la prédominance de deux groupes morphologiques : des bactéries

cocciformes et des bacilles en forme de bâtonnet, avec une prédominance nette des bacilles par rapport aux coques, ceci quel que soit le type d'inoculum considéré. En effet, dans les inoculas provenant de dilutions ultimes de broyat de la cochenille a une prédominance de cocciformes qui est plus marquée, tandis que dans ceux provenant de faibles dilutions, la présence de bacilles est plus importante.

La distribution du caractère Gram montre une nette prédominance de bactéries Gram positive quel que soit l'inoculum et le groupe morphologique considéré.

1-3/ L'isolement bactérienne :

Après 24h d'incubation de cultures sélectives pour les deux inocula, nous remarquons que pour les cultures contenant le broyat des cochenilles, la présence des colonies qui poussent seulement dans le milieu Chapman (Fig. N°41), donc les bactéries qui colonisent le milieu sont des bactéries halophile, que sont soit des microcoques ou des staphylocoques. Il y'a aussi le virage du milieu à l'orange, ce qui nous laisse dire alors que ces colonies sont de mannitol positives. Pour le milieu Hektoen, aucunes colonies observées (Fig. N°40), ce résultat indique qu'il n'y'a aucune bactéries Gram négative distincte dans le broyat de la cochenille.

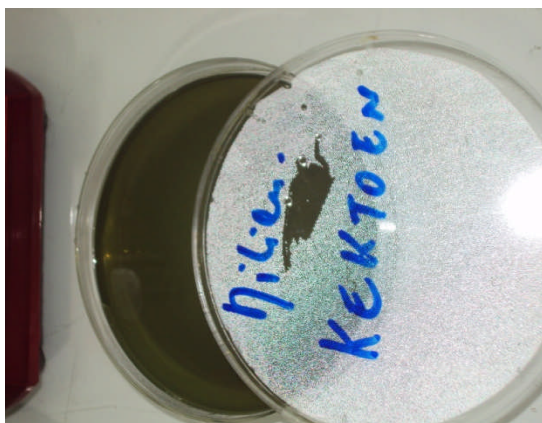


Figure N°40: Le milieu Hektoen ensemencé par le broyat de la cochenille.



Figure N°41 : Le milieu de Chapman ensemencé par le broyat de la cochenille

Le résultat trouvé pour les cultures de l'inoculum de l'extrait foliaire indique l'apparition des petites colonies dans le milieu Hektoen qui acidifie le milieu avec une coloration jaunâtre. Le milieu Chapman ne présente aucune pousse des colonies bactérienne. (Fig.42)

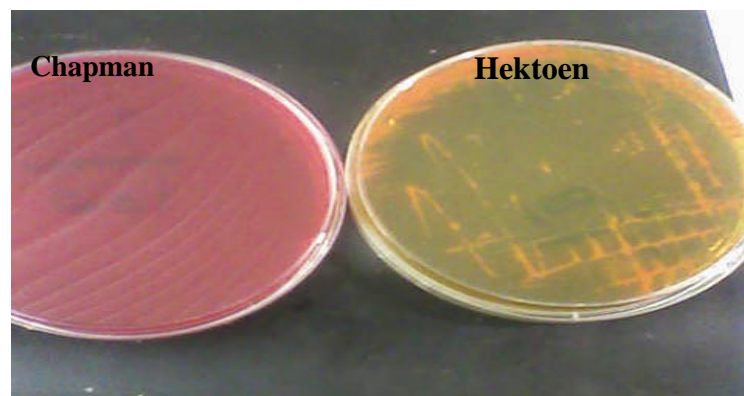


Figure 42 : l'aspect de milieu Chapman et Hektoen après l'ensemencement de broyat des feuilles de citronnier infectées.

I-4/Etudes biochimique :

Tableau N°8 : Résultat des testes biochimiques :

Les souches		Les feuilles		Les cochenilles	
Les teste		Bacilles gram (-)	Bacilles gram (+)	Cocci gram (+)	Bacilles gram (+)
Catalase		+	+	+	+
Oxydase		-	-	-	-
TSI	Glucose	+	/	/	/
	Saccharose	+			
	Lactose	+			
	gaz	+			
	H ₂ s	-			
ONPG		+			
Citrate de simons		+			
Nitrate reductase		+	+	+	+
Urée-indole					
Urée		+	+	-	-
Indole		+	+	+	+
Clark et Lubs					
VP		-	-	+	+
RM		-	-	-	-
Les acides aminés					
LDC		-	-	-	+
ODC		+	-	+	-
ADH		-	-	+	+
Manitol-mobilité					
Fermentation de mannitol		/	+	+	-
Mobilité			+	-	+

D’après l’étude biochimique des bactéries isolées nous avons obtenus :

- **Les cultures de broyat de la cochenille** : Les bactéries isolées Sont des Cocci Gram+ et des bacilles Gram+.

• **Les Cocci Gram+** : non mobiles, sont d’Oxydase négative et catalase positive, ce qui montre que ces bactéries sont de type respiratoire qui détruit les peroxydes et libère l’oxygène. Elles fermentent le mannitol ce qui indique que ces bactéries sont capables de se développer rapidement dans un milieu où la concentration est forte en saccharose (composé majoritaire de la sève phloémienne). Ces bactéries sont capable de produire l’indole a partir de tryptophane, et utilisent la plus part des acides aminés (Ornithine et Arginine), ce qui montre que ces bactéries ont unerelation nutritif pour la cochenille.

Ces bactéries Cocci Gram + provenant de culture de broyat de la cochenille sont de catalase positive qui peuvent développés dans le milieu Chapman, ce qui montre que ces bactéries appartiennent au groupe des **Staphylocoques**.

• **Les bacilles Gram+** : sont mobiles, d'oxydase négative et de catalase positive, cela montre que ces bactéries ne possèdent pas l'enzyme respiratoire, le cytochrome oxydase, qui détruit le dérivé de N-méthyle de paraphénylènediamine en semi-quinose. Par contre, elles possèdent l'enzyme de catalase qui détruit les peroxydes et libère l'oxygène.

Ces derniers possèdent l'enzyme Nitrate réductase qui catalyse la réaction de réduction de nitrate en nitrite(NO_2) ou en di-azote (N_2), elle produit l'indole à partir de tryptophane et utilise la majorité des acides aminés (Lysine et Ornithine), ce qui explique que ces bactéries jouent un rôle dans la nutrition de la cochenille, elles ne fermentent pas le mannitol et elle peut produire l'acétyl-méthyle-carbinol (acétoïne) à partir de l'acide pyruvique (Vp^+).

- **Les cultures de broyat des feuilles infestées** : sont des bacilles Gram(+) et des bacilles Gram(-).

• **Les bacilles Gram+** : sont mobiles et fermentent le mannitol, possédant une catalase qui détruit les peroxydes et libère l'oxygène, elles ne possèdent pas l'enzyme respiratoire, le cytochrome oxydase, qui détruit le dérivé de N-méthyle de paraphénylènediamine en semi-quinose. Elles ont une enzyme Nitrate réductase qui catalyse la réduction de nitrate en nitrite(NO_2) ou en di-azote (N_2) et une enzyme Uréase qui hydrolyse l'urée en formant le carbonate d'ammonium, cette réaction se traduit par l'alcalinisation du milieu.

Ces bactéries produisent l'indole à partir du tryptophane mais elle n'utilise aucun type d'acide aminé, ce qui montre que ces bactéries n'ont pas un rôle dans la nutrition de la cochenille, et probablement que leur rôle est dans la protection contre les composés toxiques de la plante.

• **Les bacilles Gram-** : sont de type respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes par l'enzyme catalase, elles dégradent le saccharose et le glucose en

(acétate et Propionate), accompagné par le dégagement de gaz et possédant l'enzyme β -Galactosidase qui hydrolyse le lactose ou un galactoside artificiel en l'O-nitrophenol (l'ONPG +), ce résultat montre que ces bactéries sont à l'origine de la production du miellat qui est un sucre simple issu de la dégradation du saccharose et du glucose (composés majoritaires de la sève phloémienne). Cette dernière est de Vp(-), donc elles ne produisent pas l'acétyl-méthyl-carbinol (acétoïne)

Cette bactérie peut se développer dans le milieu Citrate de Simmons par l'utilisation de ce substrat comme une source de carbone. Elles alcalinisent le milieu par l'hydrolyse de l'urée en Carbonate d'ammonium. Ces derniers produisent l'indole à partir du tryptophane mais elles n'utilisent pas tous les acides aminés (utilisent seulement l'Ornithine).

Ces bactéries sont de catalase positives et d'oxydase négative ce qui montre que ces bactéries appartiennent au groupe d'**Entérobactériacea**.

Les résultats obtenus montrent que les caractéristiques (formes, Gram et l'étude biochimique) des populations de bactéries provenant du broyat de la cochenille et des extraits foliaires apparaissent non semblables. Ces résultats indiquent qu'il n'y a aucune provenance bactérienne de la cochenille *P. ziziphivora* sur la plante hôte et vice-versa.

II/Etudes de certains nutriments de la cochenille :

II.1/Dosage des protéines :

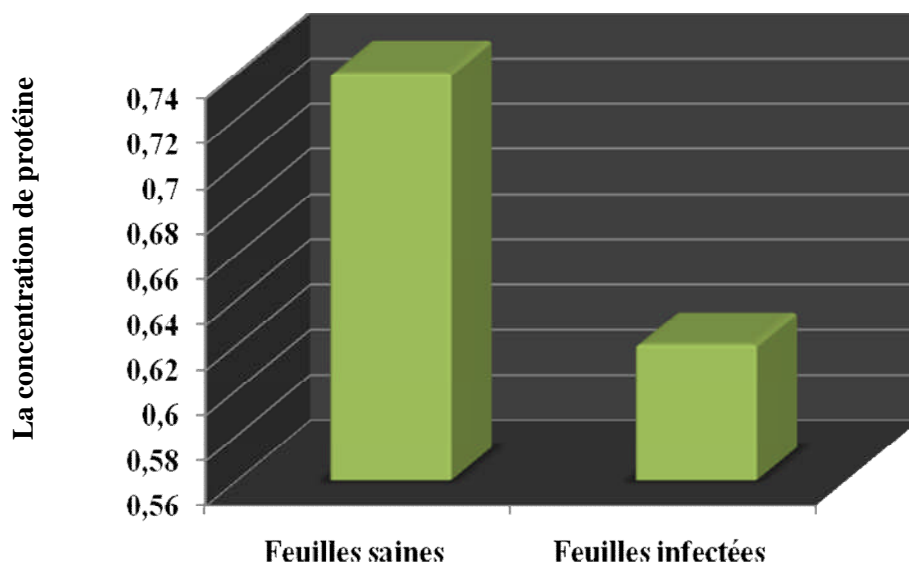


Figure N°43 : Impact de l'infestation de *P. ziziphi* sur la teneur des feuilles de citronnier (*Citrus Limon*) en protéine.

D'après le diagramme exprimé dans la figure N°43, nous remarquons clairement que la concentration des protéines contenues dans le suc cellulaire des feuilles saines est très élevée à celle du suc cellulaire des feuilles infectées, avec une concentration de 0,75mg/ml pour les feuilles saines et de 0,62 mg/ml pour les feuilles infectées.

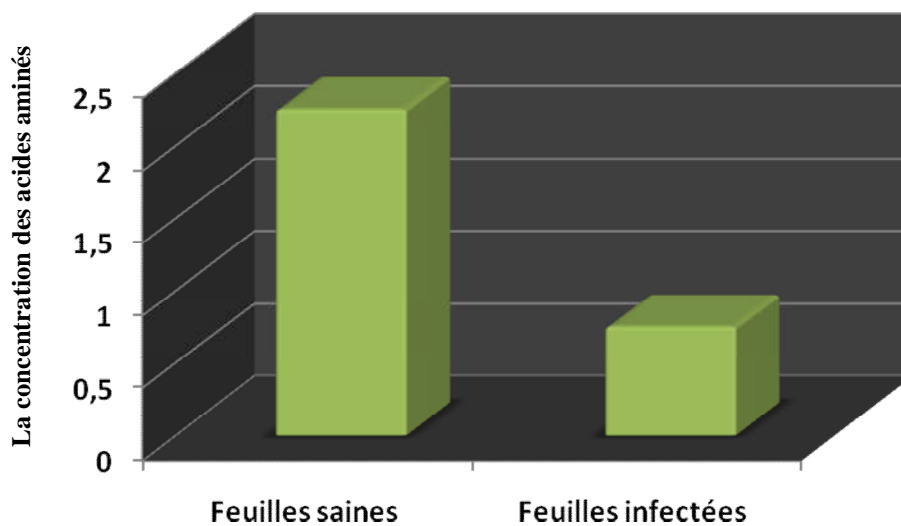
II-2/Dosage des Acides aminés :

Figure N°44 : Impacte de l'infestation de *P. ziziphi* sur la teneur des feuilles de citronnier *Citrus Limon*) en acides aminés.

La fig. N°44 montre que la teneur des feuilles saines en acides aminés totaux est plus élevé où la valeur est de 2,25mg/ml. Par contre chez les feuilles infectées la teneur est faible, il est de 0,75 mg/ml.

III/Étude du trajet du stylet de la cochenille :

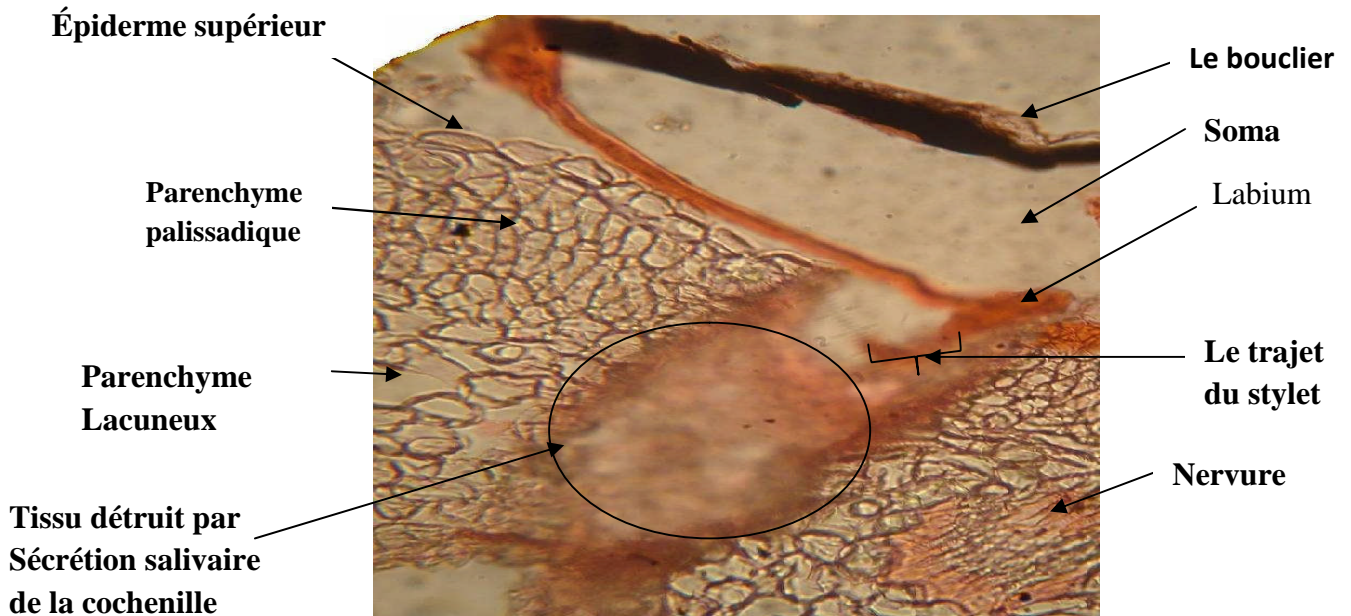


Figure N°45 : Coupe transversale de la feuille de citronnier et de la cochenille et vue longitudinale des stylets GX100.

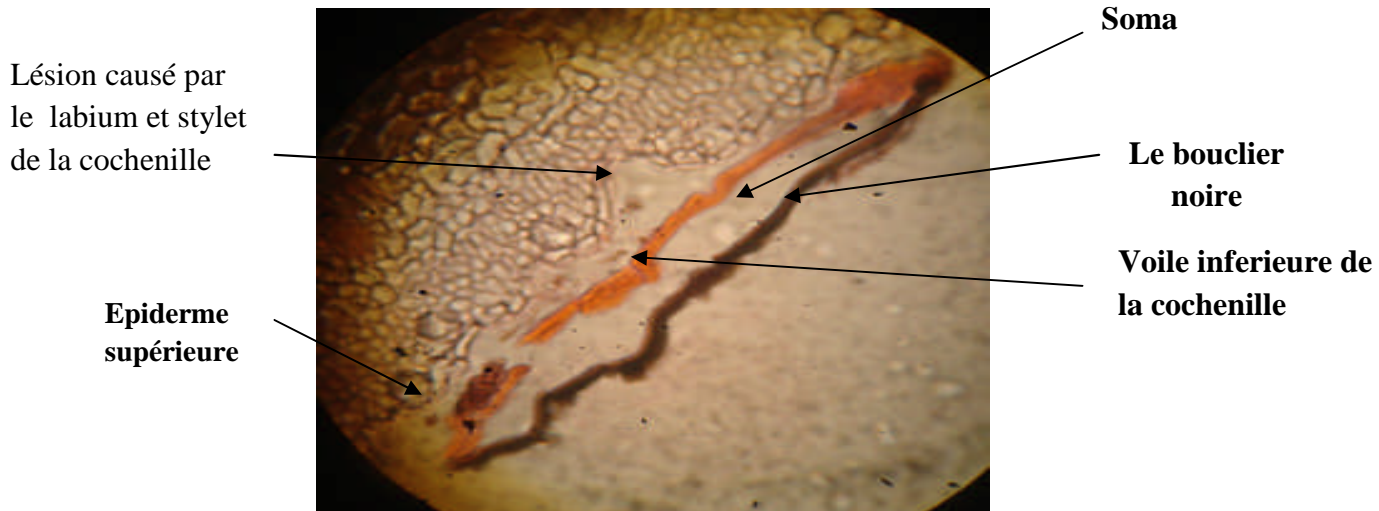


Figure N°46 : Coupe transversale de la feuille de citronnier et de la cochenille GX40.

D'après l'observation histologiques, le stylet pénètre dans la feuille et traverse l'épiderme, le parenchyme palissadique jusqu'au parenchyme lacuneux, où se trouve les réserves énergétique qui sont la sève phloémienne. Il apparait donc que le comportement alimentaire de cette insecte est phloémophage .Ce comportement a également été décrit chez des Diaspididae (Smith, 1926, Rosen, 1990), le trajet des stylets de *P. Ziziphi* est repéré par une coloration à la safranine qui colore la gaine des stylets de l'homoptère en rouge vif, repliés en boucle dans une loge ventrale du labium. L'insertion des stylets

les tissus végétaux s'accompagne du dépôt périodique de sécrétion salivaire (Fig.45) qui cause des lésions au niveau de la piqueur (Fig.46).Après retrait des stylets, ces Sécrétion persistent et constituent une gaine dite gaine sétale (Fig.47).Le chemin des stylets était intracellulaire ou intercellulaire, qui se termine dans la plupart dans les cellules du parenchyme, suggérant que le parenchyme est le site d'alimentation important de *ParlatoriaZiziphi*. (C, Paul-André, 1993).

Le trajet des stylets est visualisé grâce au caractère chromophile de la gaine. Cette gaine, dite plus communément sétale, a d'abord été considérée comme le produit d'une réaction du végétal à la piqûre (Grasse, 1951).

Le rôle joué par la gaine sétale est le guidage des stylets des Aphides jusqu'au phloème qui résulterait d'une combinaison éventuelle de stimuli chimiques et physiques. Les sécrétions salivaires formant la gaine sétale, pourrait jouer un rôle important dans l'interaction plantes-Homoptères en facilitant l'atteinte et le retrait des stylets du phloème et en véhiculant des enzymes aux fonctions diverses (Miles, 1972, Srivastava, 1989).

Malheureusement, le manque des moyennes comme le microscope électronique empêche l'observation de Cette gaine sétale et du stylet.

La réalisation des coupes histologique nous permettre d'observé les glandes sécrétrice d'huile essentiel, des citrus qui renferment un genre d'arbustes exotiques (Imacheet *al.*,2010) ; ces derniers sont très répandus par leur richesse en huiles essentielles (Madjene& Madani, 2010).

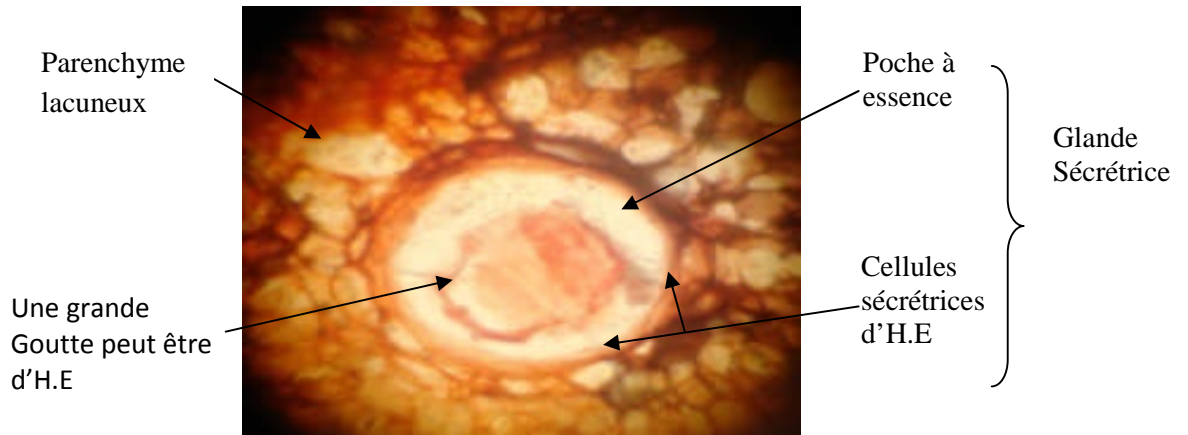


Figure N°47: coupe transversal de la feuille de *Citrus Limon* montre la poche sécrétrice du citronnier GX100

La coupe transversale de la feuille du *Citrus Limon* (Fig.47) montre de l'extérieur vers l'intérieur ce qui suit:

- Epiderme.
- Parenchyme palissadique.
- Parenchyme lacuneux.
- Glande sécrétrice : Poche sécrétrice entourée d'assises de cellules sécrétrices.
- Un grand amas de couleur jaune qui peut être des gouttes d'HE.

Les tissus de la feuille du *Citrus limon* sont très riches en glandes à essences, grossières et qui se composent de nombreuses assises de cellules sécrétrices qui s'organisent autour de la poche.

Selon AFNOR in Madjene et Madani (2010), l'huile essentielle de citron est volatile, de couleur jaune (clair, verdâtre ou foncé), d'aspect liquide, mobile, et limpide.

Discussion générale :

Selon Buchner en 1965, la diversification et l'adaptation des insectes à différentes niches écologique qui sont parfois nutritionnellement déficientes, comme la sève phloémienne des végétaux, aurait été facilitée par la présence des bactéries symbiotiques intracellulaires. Le même auteur ajoute que, les insectes possèdent des symbiotes liées étroitement à leurs régimes alimentaires. Notre travail a révélé la présence des bactéries symbiotique de la cochenille *P. Ziziphi*, qui peuvent faciliter la prise et la synthèse de leur nourriture au niveau des feuilles du citronnier.

Ces insectes phloemophages vivent aux dépens de milieux mal équilibrés du point de vue nutritionnel : phloème de plantes, graines de céréales. Le symbiote est alors censé contribuer à la nutrition et au rééquilibrage de la qualité nutritionnelle de l'alimentation de l'insecte (SMITH et DOUGLAS, 1987). Une élimination totale ou partielle des symbiotes, par traitement à la chaleur ou par des antibiotiques se traduit, le plus souvent, par une chute remarquable de la croissance et de la fertilité de l'insecte (BROOKS, 1963, KOCH, 1967, NARDON, 1973).

L'endocytobiose constitue un élément essentiel dans le pouvoir adaptative des insectes, on estime plus de 10% le nombre d'espèce qui dépendent d'endocytobiose pour leur viabilité et leur reproduction (Buchner., 1965 ; Moran et Telang., 1998 ; Moran et Baumann, .2000).

la classe des insectes présente des caractéristiques qui lui permis de résister aux nombreux changement climatiques et environnemental externes, dans cette classe compte plus de 70% des espèces animale, une grand partie des espèces a intégré des bactéries symbiotiques dans des cellules spécialisées appelées bactériocytes, qui sont souvent regroupées pour former une véritable tissu, le bacteriom (Heddi Abdelaziz.,2003).

L'étude microscopique montrent que le suivi du trajet de stylet de *P. ziziphi* est intra ou intercellulaire. Chez certains pucerons, le trajet des stylets est essentiellement extracellulaire et plus rarement strictement intracellulaire vrai (SPILLER et coll., 1985).

Le stylet traverse les parenchymes en se faufilant entre les cellules où les perçant, et allant de l'épiderme jusqu'au phloème. Les cochenilles diaspines ont un appareil buccal de type piqueur suceur, est formé par un rostre (stylet) très long, parfois aussi long que le corps, souple fin qui permet à l'insecte d'aspirer la sève, à l'aide d'une pompe animée par des muscles puissants (Tracol et Montagneux.,2001).

Cette étude nous a permis aussi de voir que l'introduction du stylet de la cochenille dans les tissus végétaux, est relié aux sécrétions salivaires qui proviennent surtout de l'insecte (GRASSE, 1951). Ces sécrétions contenant des enzymes, leur permettent de dégrader la cellulose et de pénétrer profondément à l'intérieur des tissus végétaux. Selon Piquet., 1960 ; Chapot et Delucchi., 1964, Ce mécanisme lui permet de s'alimenter par la pénétration de son rostre profondément dans les tissus végétaux, où la sève est aspirée à l'aide de son appareil buccal, en même temps qu'elle s'alimente, elle rejette de la salive contenant des toxines ce qui provoque une destruction de la chlorophylle qui a pour conséquence une désorganisation totale des cellules atteintes.

Le dosage des acides aminés et de protéines des feuilles saines et des feuilles infectées, montre que la concentration des deux substances biochimiques étudiées (acides aminés et protéines totaux), est très élevée dans les feuilles saines que dans les feuilles infectées. Ce résultat nous laisse dire que la cochenille puise ces éléments biochimiques des feuilles du citronnier pour sa propre alimentation et développement. Plusieurs auteurs (Southwood, 1978 ; McNeill et Delisle, 1989, et Bidon, 1993) ont signalé que l'azote qui est le composé essentiel des acides aminés, joue un rôle primordial dans la croissance et le développement des insectes phytophages. Et selon Saighi, 1998, la relation plantes hôtes-cochenilles est d'ordre nutritionnel, ainsi l'équilibre physiologique de la plante hôte a une grande influence sur le développement des arthropodes piqueurs-suceurs entre autres les diaspines. Ces dernières modifient considérablement leur comportement, selon l'importance des éléments nutritifs mis à leur disposition.

Chaboussou en 1975, a montré que, vis à vis de ces arthropodes piqueurs suceurs, la sensibilité de la plante se trouvait en relation avec une plus haute teneur de la sève en acides aminés libres. Dans nos résultats, la teneur en acides aminés et en protéines totaux est faible dans les feuilles infestées par rapport aux feuilles saines du citronnier, ce qui montre que la richesse de la plante hôte en acides aminés diminue selon le degré d'infestation par la cochenille.

La concentration en acides aminés libres et en sucres de la sève phloémienne de la luzerne *Medicago sativa* participe à sa résistance au puceron *Acyrtosiphon pisum* Harris (Febvay et al., 1988). De même, le niveau de résistance des céréales, au puceron *Rhopalosiphum padi* L. est corrélé positivement avec la concentration de certains acides aminés libres de leur sève phloémienne (Weibull, 1988).

Conclusion générale

Notre travail a été porté sur la détermination des bactéries symbiotiques de la cochenille noire *Parlatoria zizyphi* Lucas 1853, vivant sur les feuilles du citronnier, dans le but de déterminer les bactéries responsables de la dégradation de sa nutrition et de même la nature de ces nutriments déterminant la relation de la cochenille avec sa plante hôte. Au terme de celui-là, il nous paraît intéressant de rappeler les principaux résultats que nous avons obtenus.

L'étude bactérienne de broyat de la cochenille et de suc cellulaire de la feuille infectée, a montré que le broyat de cette cochenille a présenté des bactéries de forme coccigram positive semblant être des Staphylocoques et les bacilles Gram(+); Ces bactéries sont différentes complètement à celle déterminées dans le suc cellulaire, ce qui montre que ces bactéries sont spécifiques à la cochenille *P. Zizyphi*.

La réalisation des coupes histologiques indique que le trajet du stylet de la cochenille est intra ou intercellulaire, il peut aller jusqu'au phloème où il peut rencontrer la sève, ce résultat explique que cette cochenille est phloémophage.

Nous avons remarqué, à travers le dosage des protéines totaux et des acides aminés, que la teneur foliaire en acides aminés et en protéines ont été nettement supérieure dans les feuilles saines que celle dans les feuilles infectées. Ce résultat explique l'impact des piqûres d'insectes accompagnées des toxines libérées sur la qualité biochimique de feuilles.

La détermination de la forme et de certaines caractéristiques biochimiques du contenu bactérien de *Parlatoria zizyphi* et des feuilles infectées, sont insuffisantes à la détermination de l'espèce bactérienne. Ainsi que, le dosage des éléments biochimiques réalisé n'est pas suffisant de définir la relation nutritionnelle précise de cette cochenille avec sa plante hôte.

Il est donc souhaitable de poursuivre cette étude par un maximum de tests, pour aller plus loin dans la détermination de la faune bactérienne spécifique à cette cochenille, ainsi de déterminer leur rôle en relation avec la survie de cette dernière. Il est nécessaire aussi de faire des analyses foliaires qui touchent le maximum d'éléments nutritifs, notamment, les éléments minéraux, surtout les glucides éléments majeurs de la constitution de la sève, et les

composés issus du métabolisme secondaire, pour mieux définir la relation nutritionnelle et reproductive entre cette cochenille et sa plante hôte.

Annexe I : superficie et la production des agrumes dans les principales wilayates d'Algérie dans la période de 2005 à 2010 selon I.T.A.V

Wilayas	2005		2006		2007		2008		2009		2010	
	Sup (Ha)	Prod (qx)	Sup (Ha)	Prod (qx)	Sup (Ha)	Prod (qx)	Sup (Ha)	Prod (qx)	Sup (Ha)	Prod (qx)	Sup (Ha)	Prod (qx)
Ain-Defla	2358	72220	2400	74400	2320	74400	2360	91265	2264	92155	2237	92910
Alger	5065	501170	4948	511190	5117	535690	5118	666584	5116	659820	5139	704000
Béjaia	1890	160820	1999	157790	2023	143900	2018	151128	2066	171212	2074,6	197374
Blida	15809	2055110	16304	2474960	16422	2298150	16524	2273641	16970	2660519	17072	3056000
Bouira	421	21120	480	18735	458	36270	444	31240	412	31755	416	35100
Medea	42	9470	42	3465	57	4175	57	4380	53	6630	53	2100
Tipaza	3578	375730	3599	485680	3587	504135	3692	618645	3786	680000	3814	695000
Tizi-Ouzou	1349	157850	1348	167390	1345	177315	1341	168860	1343	181319	1348	202000
Total Centre	30512	3353490	31120	3893610	31329	3774035	31554	4005743	32010	4483410	32154	4984484
Ain-Temouchent	483	13970	483	16585	483	15145	483	19920	483	25480	482	18600
Mascara	4232	124430	4200	175300	4250	113100	4256	189700	4262	198395	4262	221177
Mostaganem	4079	589900	4166	627000	4235	762825	4440	727120	4547	901125	4593	339600
Oran	674	22870	450	20820	460	22395	453	16425	253	17290	224	17100
Relizane	4417	372520	4535	363320	4537	625200	4544	613800	4528	884680	4530	1024400
Sidi-Bel-Abbes	7	300	12	120	12	100	11	165	9	195	9,5	220
Tlemcen	2446	132000	2478	121200	2476	113200	2477	120070	2403	140700	2403	145000
Total Ouest	16338	1255990	16324	1324345	16453	1651965	16664	1687200	16485	2167865	16504	1766097
Annaba	520	56990	492	59275	493	55765	492	58205	520	56000	492	61342,5
El-Tarf	2127	242000	2165	265000	2133	246570	2042	267408	2093	268700	2091,5	236580,5
Guelma	835	34120	837	39760	856	43755	871	47690	873	56960	873	84180
Jijel	415	18470	394	15265	352	16945	359	19819	324	26615	336,25	22831
Skikda	2214	216000	2257	245000	2290	253600	2386	259700	2447	318900	2448	368310
Souk Ahras	0	0	0	0	8	0	6	15	8	105	8	120
Total Est	6111	567580	6145	624300	6132	616635	6156	652837	6265	727280	6248,8	773364
Total Général	52961	5177060	53589	5842255	53914	6042635	54374	6345780	54760	7378555	54906	7523945

Annexe II : Matériels et produits utilisés

1/ Les milieux de cultures :

1.1/ Les milieux solides :

1/gélose nutritif :

-extrait de viande	1g
-extrait de levure	2g
-peptone.....	5g
-chlorure de sodium.....	5g
-pH.....	7, 4

2/gélose Chapman :

-peptone.....	10g
-extrait de viande.....	1g
-Mannitol.....	10g
-Nacl.....	75g
-Agar.....	15g
-Eau.....	1dm ³
-pH.....	6, 8

3/ Milieu hecktoen :

-protéase- peptone	12g
-extrait de levure.....	3g
-lactose.....	12g
-saccharose.....	12g
-salicine.....	2g
-citrate de fer et d'ammonium.....	1,5g

Annexe II : Matériels et produits utilisés

-sels biliaires.....	9g
-fuchsine acide.....	0, 1g
-bleu de bromothymol.....	0, 065g
-Agar.....	13g
-chlorure de sodium.....	5g
-thiosulfate de sodium.....	5g
-pH.....	7, 5

4/Citrate de simmons :

-Citrate de sodium.....	1,0g
-bleu de bromothymol	0,08g
-chlorure de sodium.....	5,0g
-sulfate de magnéssium.....	0,2g
-hydrogénophosphate de potassium.....	1,0g
-dihydrogénophosphate d'ammonium.....	1,0g
-Agar-Agar.....	15,0g
-pH.....	7,1

5/Kligler-Hajna :

-Peptone.....	15g
-Exxtrait de viande.....	3g
-Extrait de levure.....	3g
-Peptone pepsique de viande.....	5g
-Glucose.....	1g
-Lactose.....	10g

Annexe II : Matériels et produits utilisés

-Rouge de phénol.....25mg

-chlorure de sodium.....5g

-Sulfate ferreux.....0,2g

-Thiosulfate de sodium.....0,3g

-Agar-agar.....11g

-pH.....7,5

1.2/ Les milieux liquides :

Bouillon Clarck et Lubs :

-Peptone.....5g.

-Glucose.....5g.

-Hydrogenophosphate de potassium.....5g.

-Eau distillée.....1l.

-pH.....7,5.

Annexe II : Matériels et produits utilisés

2/Matériel utiliser de laboratoire :

La loupe binoculaire : a été utilisée pour effectuer les prélèvements des femelles adultes de la cochenille noire.

Le réfrigérateur: a été utilisée pour conserver les milieux de cultures.

L'étuve : utilisée pour l'incubation des cultures effectuer.

L'autoclave : on l'utilise pour la stérilisation des milieux de cultures utilisé et les tubes a essai.

Le bège benzène : utilise pour stériliser la zone de manipulation.

Centrifugeuse.

Agitateur Vortex: pour homogénéiser les solutions.

Tubes à essai de 1ml.

Pipettes (1ml, 2ml, 5ml)

Pipettes pasteurs.

Portoir pour 10 tubes à essai.

Annexe III : La préparation des différentes dilutions de l'extrait foliaire et de broyat de la cochenille

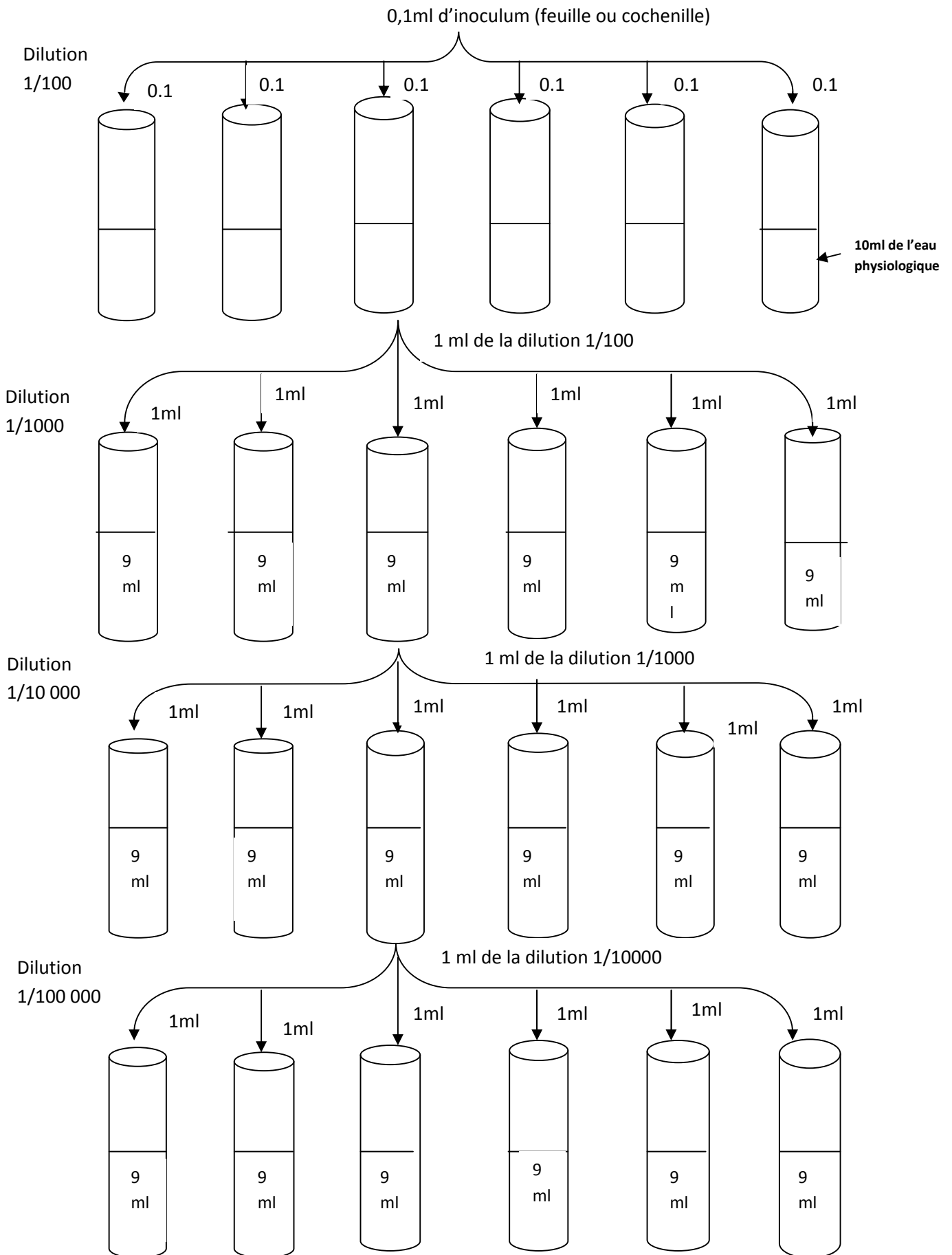


Schéma de la préparation des dilutions.

Annexe III: Le microtome

Microtome manuel Leica RM2125 RTS

Nous utilisons le microtome Leica pour réaliser des coupes de grande qualité pour un diagnostic précis. Le microtome manuel Leica RM2125 RTS dispose des fonctions essentielles nécessaires pour réaliser des coupes de manière rentable et plus sûre et pour optimiser les flux de travail.



Le microtome Leica

1/Les différentes pièces du Microtome :



Le microtome Leica avec stabilité Power Base



Pince à objet rapide à changer



Système d'orientation de 8°



Deux pas de dégrossissage pour un travail efficace

Annexe III: Le microtome

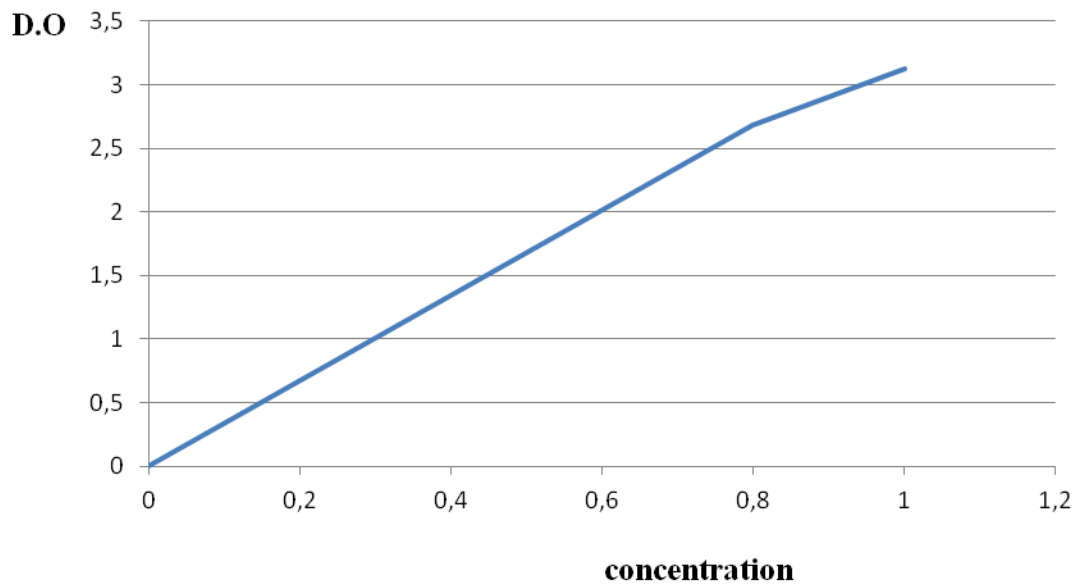
2/Caractéristiques techniques du Leica:

2-1/Information générale

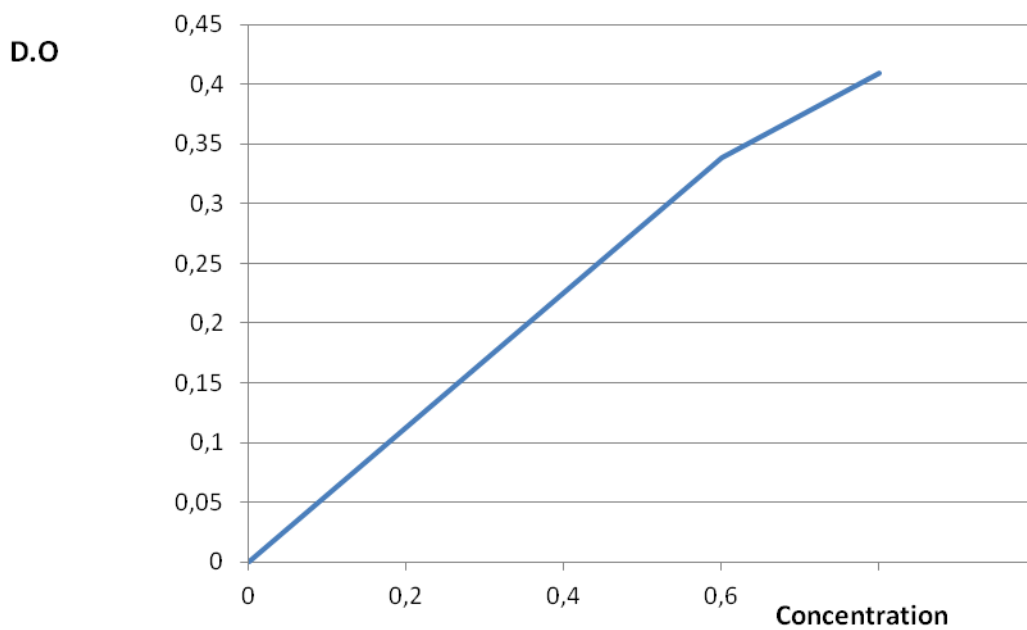
- *Plage de réglage de l'épaisseur de coupe : 0,5 a 60 μm
- *Avance horizontale totale de l'objet : 25 mm
- *Course verticale de l'objet : 59 mm
- *Rétraction de l'échantillon : MARCHE/ARRET Sens de rotation du volant du
- *mouvement approximatif : sélectionnable par l'utilisateur
- *Orientation de l'objet : XY – 8°
- *Epaisseur de dégrossissage : 10 μm , 50 μm

2-2/Dimensions :

- *Dimensions (L x P x H): 438 mm x 472 mm x 265 mm, 17,24" x 18,58" x 10,43"
- *Poids (sans accessoires) : 29 kg, 63,9 lbs



Le courbe étalon de protéine.



Le courbe étalon des acides aminés

Liste des références :

- Amine M., Chemat F., Ferhat M., Meklati B., 2010** : Citrus d'Algérie, les huiles essentielles et leurs procédés d'extraction, office des publications national, Algérie, p. 101.
- Anonyme, a , 1976** : La protection phytosanitaire des agrumes en Algérie. *Ed. Cibla Geicy*, Alger.p 44
- Anonyme b. , 2002** : Mémento de l'agronome pub. CIRAD-GRET/ ministère des affaires étrangères .p 930,933.
- Anonyme c, .2004** : Atlas des produits de base par Fond commun pour les produits de base –United Nations, p 2
- Anonyme d, 2005** : Les agrumes, Secrétariat de la CNUCED d'après les données statistiques de l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.
- Balachowsky.A. ,1932** Etude biologique des coccidés du bassin occidental et de la méditerranée. Ed, Paul le chevalier et fils, paris
- Baumann, P., Baumann, L., Lai, C.Y., Roubakhsh, D., Moran, N.A., and Clark, M.A. (1995)** : Genetics, Physiology, and Evolutionary Relationships of the Genus *Buchnera* - Intracellular Symbionts of Aphids. *Annual Review of Microbiology* **pp 49**: 55-94.
- Berkani A et Dridi B. , 1992** : Présence en Algérie de *Parlatoria myrica* KWA (Homoptera, Aleurodeia) espèce nuisible aux Citrus. *Rev. Fruits*. Vol, 4 n°47 ; P539-540.
- Brencic, A., and Winans, S.C. (2005)** : Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **69**: 155.
- Ballard, R.D. et al. (1979)** : Submarine Thermal Springs on the Galapagos Rift. *Science* **203**: pp1073-1083.
- CABI., 2001** : Crop Protection Compendium.
- Madjene A. & Madani F., 2010** : Contribution à la mise en évidence de L'effet Anti-inflammatoire et analgésique de l'huile essentielle des feuilles et du péricarpe du fruit du citron. Thèse d'ingénieur en biotechnologie végétale, université de Blida, Algérie. 39p.
- Chapot de delucchi.,1964** : Maladies, troubles et ravageurs des agrumes au Maroc. Ed. I.N.R.A., Rabat,

Calatayud, 1993 : Etude des relations nutritionnelle de la cochenille de Manioc avec sa plantes hôte, Thèse de doctorat Editions de l'ORSTOM l'institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération, PARIS.

CHOUIH Sihem, .2007 : Etude éco-physiologique des interactions entre la cochenille noire de l'oranger *Parlatoria zizyphi* Lucas 1893 (*Homoptera, Diaspididae*) et sa plante hôte : le mandarinier (*Citrus deliciosa*) dans la région de la Mitidja. These de l'ingénieur d'état en Agronomie, université Saad Dahleb Blida.

Corliss, J.B., Dymond, J., Gordon, L.I., Edmond, J.M., Herzen, R.P.V., Ballard, R.D. et al. (1979) : Submarine Thermal Springs on the Galapagos Rift. pp: 1073-1083.

De Surindar Paracer, V.A. (2000) : Symbiosis: An Introduction to Biological Associations: Oxford University Press US.

Douglas, A.E. (1983) : Establishment of the Symbiosis in *Convoluta Roscoffensis*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom **63**: 419-434.

Douglas, A.E. (1994) : Symbiotic interactions, Oxford University Press.

Gilles Bénaouf, .2005 : Produire des agrumes en agriculture biologique

J.Marie polése, .2005 : La culture des agrumes, édition Artémis, Paris,

J.Marie polése, .2008 : la culture des agrumes 2ème édition Artémis, Paris, P 93

Jacquemond C., Agostini D., et Curk F, 2009 : Des agrumes pour CEVITAL

Lechene, C.P., Luyten, Y., McMahan, G., and Distel, D.L. (2007) : Quantitative imaging of nitrogen fixation by individual bacteria within animal cells. *Science* **pp 317**: 1563-1566.

Lecointre, G., and Le Guyader, H. (2001) : Classification phylogénétique du vivant Editions Belin.

LICA ET AL. ,1984 : Cours national d'été d'agronomie tropical fruiticulture /NISC. Publie .342 p.16

Loussert R, .1989 : Les agrumes, production. Ed. Sci. Univ., Vol2, Liban,

Loussert .R, .1987 : Les agrumes, l'arboriculture. Ed. Lavoisier. Vol. 1. Paris,

Madigan, M.T., Martinko, J.M., and Parker, J. (2002) : *Brock Biology of Microorganisms*: Pearson Education.

Margulis, L. (1976) : Genetic and Evolutionary Consequences of Symbiosis. *Experimental Parasitology* **39**: pp 277-349.

Marie-Claude Nicole. ,2002 : Les relations des insectes phytophages avec leurs plantes hôtes ; bulletin de la société d'entomologie du Québec, *Antennae*, 2002, vol. 9, n° 1 p05.

Moya, A., Pereto, J., Gil, R., and Latorre, A. (2008) : Learning how to live together: genomic insights into prokaryote-animal symbioses. *Nat Rev Genet* **9**: pp218-229.

Muttin.G. ,1977 : La Mitidja, décolonisation et espaces géographique. Ed/ O.P.U ; Alger, p607

Muttin .G. ,1969 : L'Algérie et ses Agrumes. Extrait de la revue de geo. , Lyon, Vol 441

Praloran, .1971 : Les agrumes. Ed. Maisonneuve et Larose, France

REBOUR H., 1945 : Les agrumes. Ed. Union des syndicats de production d'agrumes, Alger,p 485

Rebour. , 1948 : Documents algériens Série économique : agriculture, La culture des agrumes en Algérie ; P 49

REBOUR, 1950 : Les agrumes en Afrique du nord. Ed. Union des syndicats de production d'agrumes Alger, 485p.

Rebour 1966 : Les agrumes .Manuel de culture des citrus pour bassin méditerranéen. Ed.J.B. Baillier et fils, Paris,p280.

Schink, B. (2006) : Syntrophic associations in methanogenic degradation. In *Molecular basis of symbiosis*. Overmann, J. (ed): Springer.

Taiz, L., and Zieger, E. (2002) : *Plant physiology*, Sinauer Associates.

Tsuchida, T., Koga, R., and Fukatsu, T. (2004) : Host plant specialization governed by facultative symbiont. *Science* **303**: 1989-1989.

Van Beneden, J. 1875 : Les commensaux et les parasites dans le règne animal. Paris: Felix Alcan.

Van Driem, G.2005 : The language organism: The Leiden theory of language evolution. In *Language Acquisition, Change and Emergence: Essays in Evolutionary Linguistics*. Press, C.U.o.H.K. (ed). Hong Kong, pp. 33 1-340.

Van Ee S., 2005 : La culture fruitière dans les zones tropicales, Wageningen, Pays- Bas. 3ème édition, 96p.

Wallin, I.E. (1922) : On the Nature of Mitochondria. III. The demonstration of Mitochondria by bacteriological Methods IV. A comparative Study of the Morphogenesis of Root Nodule Bacteria and Chloroplasts. *Am. Jour. Anat.* **30**.

S. Quilici. , 2003 : Analyse du Risque Phytosanitaire (ARP)/ CIRAD ; pp 7-9

Gallai, A et Bannerot. ,1992 : Amélioration des espèces végétales cultivées ; Ed/INRA, Paris

Maryline Franchois et Martine Georget, .2006 : PBI en pépinière sous abri, cas de puceron vert des agrumes sur Laurier-tin ; P 32

Huang LL, Wang DW, Zhang QB, Lei HD, Yue BS, 1988 : Study of bionomics and control of *Parlatoria zizyphus*. *Acta Phytolactica Sinica*, pp:15-21.

El-Bolok MM, Sweilem SM, Abdel-Aleem RY, 1984. Effect of different levels of trees, different cardinal directions, tree core and leaf surface on the distribution of *Parlatoria zizyphus* (Lucas) in correlation with the year seasons. *Bulletin de la Société Entomologique d'Egypte*, pp:289-299.

Longo S, Marotta S, Pellizzari G, Russo A, Tranfaglia A, 1995 : An annotated list of the scale insects (Homoptera: Coccoidea) of Italy. *Israel Journal of Entomology*, pp:113-130.

BENASSY C., 1975 – Les cochenilles des agrumes dans le bassin méditerranéen. *Ann. Inst. Nat. Agro.* Vol. V, n°6, El-Harrach, pp. 118-142.

Lecointre, G., and Le Guyader, H. (2001) : Classification phylogénétique du vivant Editions Belin.

Thiebaut, E., Huther, X., Shillito, B., Jollivet, D., and Gaill, F. (2002): Spatial and temporal variations of recruitment in the tube worm *Riftia pachyptila* on the East Pacific Rise. *Marine Ecology-Progress Series* **234**: 147-157.

Cavanaugh, C.M., Gardiner, S.L., Jones, M.L., Jannasch, H.W., and Waterbury, J.B. (1981) : Prokaryotic cells in the hydrothermal vent tube worm *Riftia pachyptila* Jones: possible chemoautotrophic symbionts .pp: 340-342.

Brencic, A., and Winans, S.C. (2005) : Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **p**: 155.

Lechene, C.P., Luyten, Y., McMahon, G., and Distel, D.L. (2007) : Quantitative imaging of nitrogen fixation by individual bacteria within animal cells. pp 1563-1566.

Peek, A.S., Vrijenhoek, R.C., and Gaut, B.S. (1998) : Accelerated evolutionary rate in sulfur oxidizing endosymbiotic Bacteria associated with the mode of symbiont transmission. *Mol. Biol. Evol.* **pp** 1514-1523.

Gil, R., Silva, F.J., Zientz, E., Delmotte, F., Gonzalez-Candelas, F., and Latorre, A. (2002) : Extreme genome reduction in *Buchnera* spp. toward the minimal genome needed for symbiotic life. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **pp** 4454-4458.

De Bary, A. , 1879 : de la symbiose, revue inter sci pp301,309.

Erwin TL. ,1997 : Biodiversity at its utmost tropical forest beetles in biodiversity II : understanding and protecting our biological ressource Reaka-Kundla M-L, Wilson.DE., and Wilson EO(Eds) Washington, DC ; Joseph Henry press ; pp27, 40.

Moran, A.N et Telang, A. , 1998: Bacteriocyte associated symbionts of insects ; P 295-304.

Moran, N. A. et Baumann,P. ,2000 :Bacterial endosymbionts in animals. Curr oprin Microbiol ; P270-275.

LOUCIF Z. et BONAFONTE P., 1977 – Observation des populations du pou de San José dans la Mitidja. *Rev. Fruits*, N° 4 .Vol .32, pp.253-261.

GAUSSEN H et BAGNOULS F., 1953. Saison sèche et indice xérothermique. .

Ed. Université de Toulouse, Faculté des sciences, 73p.

SMITH, K.M. A. , 1926 : comparative study of the feedin, u methods of certain Hemiptera and the resulting effects upon the plant tissues with special reference to the potato plant. *Ann. Appf. Biol. , ,* Vol. 13, No 1, p. 109-139.

HERIOT, A.D. , 1934: The renewal and replacement of the stylets of sucking insects during each Stadium, and the method of peneuation. *Can. J. Res., ,* Vol. 11, p. 602-612

GRASSE, P.P. ,1951 : (Ed). *Traité de Zoologie*. Paris : Editions Masson,. Vol. 10, 1948 p.

ALBRIGO, L.G. and BROOKS, R.F. , 1977: Pénétration of Citrus cuticles and cells by Cirrus snow scale, *Unaspis citri* (Comst.). *Proc. Int. Soc. Citricufsure*, Vol. 2, p. 463-467/

CAMPBELL, C.A.M. ,1990 : The susceptibility of cocoa to mealybug (Pseudococcidae) and other honeydew-producing Homoptera in .Ghana. *Bull. Entamol. Res.* Vol. 80, p. 137-151.

MOLYNEUX, R.J., CAMPBELL, B.C. and DREYER, D.L. ,1990 : Honeydew analysis for detecting phloem transport of plant natural products. Implications for host-plant resistance to sap-sucking insects. *J. Chem. Ecol.* Vol. 16, p. 1899-1910.

PESSON, P. ,1944 : Contribution à l'étude morphologique et fonctionnelle de la tête, de l'appareil buccal et du tube digestif des femelles de Coccides. Monographie : CNRA / mRA Versailles (Fr), p 266.

POLLARD, D.G. ,1973 : Plant penetration by feeding aphids (Hemiptera, Aphidoidea) : a review. *Bull. Entomol. Res.* Vol. 62, p. 631-714.

GABE, M. ,1968 : *Techniques histologiques*. Paris : Editions Masson, p 1113.

LOCQUIN, M. et LANGERON. ,1978 : M. Manuel de microscopie. Paris : Editions Masson, p 352.

MILES, P.W. 1972 : The saliva of Hemiptera. *Adv. Insect. Physiol.* Vol. 9, p. 183-255.

SRIVASTAVA, P.N. ,1989 :Nutritional physiology. Aphids : Their biology, natural enemies and control. Edited by A.K. Minks and P. Harrewijn. Amsterdam : Elsevier science publishers, Vol. A, p. 99-115.

Imache A., Bouarfa S., Hartani T., 2010 : La Mitidja 20 Ans Apres Réalités Agricoles Aux Portes D'Alger, Edition Quae, Versailles cedex, France. 283p.

CHABOUSSON. f. ,1975 : Les facteurs culturaux dans la résistance des agrumes vis-à-vis de leur ravageurs ST. Inst. Nat. Reche. Agro Bordeaux , P 39

SAIGHI. , 1998 : Biosystématique des Aphides et de leur ennemis naturels dans deux stations d'études, le jardin du Hamma et le parc de l'institut nationale agronomique d'El Harrach, Thèse Mag. Agr. inst . Nat. Agro. El Harrach P 312

BIDON. Y., 1993: Influence des sucres solubles et de l'azote sur la croissance, le développement et l'utilisation de la nourriture par la tordeuse des bourgeons de l'épinette (*Christonera fumiferena* (Clem)). Thèse de Maîtrise en science- université Laval. Ste-Foy (Québec) Canada, P63.

McNeill S et Southwood .T.R.E. ,1978 : The rôle of nitrogen in the development of insects/plants relationships, Biochemical aspects of plant and animal coevolution j. B . Harborne ,Ed , Academic Press London , P 77-98

HEDDI. A , .2003: in Insect Symbiosis, Miller T, Bourtzis K (eds), CRC Press, USA, p 67-82

Febvay, G., J. Bonnin, Y. Rahbe, R. Bournoville, S. Delrot & J. L. Bonnemain, 1988: Resistance of different lucerne cultivars to the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*: influence of phloem composition on aphid fecundity. Entomol. exp.appl. 48: p127-134.

Weibull, J., 1988: Free amino acids in the phloem sap from oats and barley resistant to *Rhopalosiphum padi*. Phytochemistry27: p 2069-2072.

GRASSE P. , 1951: Traité de Zoologie, Insectes supérieurs et Hémiptéroïdes. TOME X (fascicules 1 et 2). Editions MASSON-CIE, Paris.

PHILIPPE SANSONETTI. ,2009 : Histoires de symbioses, Paul Klee, Symbiose, 1934. Collection privée P 1,54