



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Hassiba BEN BOUALI –Chlef
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des sciences agronomiques



Cours

Bactériologie-virologie

Niveau : 2^{ème} cycle
1^{ère} année (Master 1)

A.A 2023-2024
Semestre I

Dr. Samir ALI-AROUS
s.aliarous@univ-chlef.dz

Intitulé de l'UEF2 : Phytopathologie

Intitulé de la matière : Bactériologie-virologie

Crédits : 4

Coefficients : 2

VHS : 45 heures

Préface

Diverses maladies liées à des agents pathogènes notamment les virus et les bactéries peuvent affecter les plantes. Elles peuvent avoir des conséquences graves sur l'économie. Si l'émergence ou la résurgence de maladies ne sont pas des phénomènes nouveaux, l'amplitude géographique, la vitesse de diffusion et la gravité des maladies posent aujourd'hui des questions et des enjeux nouveaux. L'accentuation des risques associés aux maladies des plantes résulte de facteurs variés, associés aux évolutions des environnements écologiques et socio-économiques (tels que le réchauffement climatique, le développement des échanges, ou encore la modernisation des processus de production). Cette situation préoccupante nous invite à doubler les efforts notamment en matière de recherche pour faire face à tout éventuel scénario phytosanitaire.

Ce cours de phytopathologie (Bactériologie, virologie) est destiné aux étudiants de niveau de formation de 2^{ème} cycle (Protection des végétaux/biotechnologie), à la fin du cours, l'étudiant sera capable de différencier entre les pathologies virales/bactériennes et celles causées par d'autres organismes phytopathogènes et facteurs abiotiques, il devient habile à choisir l'outil de diagnostic adéquat et proposer un plan de gestion efficace de lutte. Ainsi il apprendra d'imaginer les stratégies curatives et proactives de protection à la fois durables et efficaces contre ces maladies qui sont souvent de nature invasive et irréversible.

SOMMAIRE

1	Bactériologie végétale.....	1
1.1	Historique.....	1
1.2	Structure et physiologie de la cellule bactérienne.....	1
1.2.1	Le procédé de coloration de Gram.....	5
1.2.2	La morphologie (formes) des cellules bactériennes.....	6
1.2.3	Les plasmides et la conjugaison chez les bactéries.....	7
1.2.4	Taxonomie des Bactéries phytopathogènes.....	8
1.2.4.1	Les eubactéries :.....	8
1.2.4.2	Les mollicutes, FPLB et FXLB :.....	8
1.2.4.2.1	Fastidious Xylem Limited Bacteria FXLB.....	8
1.2.4.2.2	Fastidious Phlem Limited Bacteria FPLB.....	9
1.2.4.2.3	Les Mollicutes (Mycoplasmes).....	9
1.2.4.2.4	Les Mollicutes (Spiroplasma).....	10
1.2.4.2.5	Les mollicutes (Phytoplasmes).....	10
1.2.5	Pathogénicité.....	11
1.2.5.1	Facteurs liés à la bactérie phytopathogène.....	11
1.2.5.1.1	Toxicogénité.....	11
1.2.5.2	Facteurs liés à la plante hôte.....	14
1.2.5.2.1	Facteurs intrinsèques.....	14
1.2.5.2.2	Les mécanismes de défense.....	14
1.2.5.3	Étapes de maladie.....	14
1.2.5.3.1	Infection.....	15
1.2.5.3.2	Incubation.....	15
1.2.5.3.3	Apparition des symptômes.....	15
1.2.5.3.4	Développement ou arrêt de la maladie.....	16
1.2.6	Principaux symptômes associés aux maladies bactériennes des végétaux.....	16
1.2.6.1	Tâches foliaires.....	17
1.2.6.2	Excrécences.....	17
1.2.6.3	Gales bactériennes.....	18
1.2.6.4	Tumeurs.....	18
1.2.6.5	Maladies vasculaires et les flétrissements.....	19
1.2.6.6	Chancre et nécroses.....	20
1.2.6.7	Les pourritures.....	21
2	Virologie végétale.....	24
2.1	Histoire de la virologie végétale.....	24

2.2	Les Virus des végétaux	24
2.2.1	Structure moléculaire des virus.....	26
2.2.2	Taille et forme de Virus	28
2.2.3	La réplication chez les phytovirus	28
2.2.3.1	L'attachement :.....	29
2.2.3.2	La pénétration	29
2.2.3.3	La décapsidation.....	29
2.2.3.4	La réplication	29
2.2.3.5	L'assemblage et la maturation	30
2.2.3.6	La libération des virus.....	30
2.2.4	Mode d'infection des phytovirus	30
2.2.5	La classification des phytovirus.	31
2.2.5.1.1	Taxonomie : QU'EST-CE QUE C'EST ?	32
2.2.5.2	La taxonomie des virus.....	32
2.2.5.3	L'écriture des noms des taxa.....	32
2.2.5.4	Quelques propriétés des virus utilisés dans la taxonomie des virus.....	33
2.2.6	Migration des virus dans la plante	34
2.2.7	La transmission des phytovirus	35
2.2.7.1	La transmission verticale	35
2.2.7.2	La transmission horizontale	36
2.2.7.2.1	Transmission persistante des virus	36
2.2.7.2.2	Transmission non/semi-persistante des virus.....	37
2.2.8	Importance des sources de virus.....	38
2.2.9	Différents symptômes des maladies virales.....	39
2.2.10	Les viroïdes	41
2.2.10.1	Principales maladies à viroïdes.....	41
Tableau 1. Listes des virus, viroïdes et virus-similaires de quarantaine en Algérie		43
3	Diagnostic des maladies bactériennes et virales.	45
3.1.1.1	Le diagnostic visuel !.....	45
3.1.1.2	Échantillonnage et isolement (Eubactéries).....	46
3.1.1.3	Le diagnostic biologique.....	47
3.1.1.4	Détection sérologique	47
3.1.1.4.1	Test d'immunofluorescence directe ou DTBIA (Direct Tissue Blot Immuno Assay)	48
3.1.1.4.2	Test DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assay).....	49
3.1.1.4.3	Polymerase chain reaction PCR.....	51
4	Gestion des maladies virales et bactériennes.....	54

4.1.1.1	Exclusion et quarantaine	54
4.1.1.2	Programmes de certification	54
4.1.1.3	Éradication et suppression	55
4.1.1.4	Tolérance des hôtes	55
4.1.1.5	Protection croisée	56
4.1.1.6	L'amélioration génétique pour la résistance.....	56
4.1.1.7	Contrôle des vecteurs.....	56
4.1.1.8	La vulgarisation et la formation.....	57
4.1.1.9	Les techniques de génie génétique	58
5	Références.....	59

Liste des tableaux

Tableau 2.	Symptômes associés à quelques eubactéries phytopathogène	16
Tableau 3.	Liste des bactéries phytopathogènes de quarantaine en Algérie	22
Tableau 1.	Listes des virus, viroïdes et virus-similaires de quarantaine en Algérie	43

Liste des figures

Figure 1.	Le savant allemand Robert Koch et les premières bactéries pathogènes observées par les humains.	1
Figure 2.	Les organismes eucaryotes unicellulaires	2
Figure 3.	Les Procaryotes.....	2
Figure 4.	Schéma général d'une cellule bactérienne (Janse, 2007)	3
Figure 5.	Schéma du Peptidoglycane et l'enveloppe en entier chez les bactéries	4
Figure 6.	Schémas d'enveloppes d'une bactérie Gram + (à gauche) et une Gram – (à droite)	5
Figure 7.	Coloration des bactéries après le procédé de coloration de Gram.....	5
Figure 8.	Formes et tailles des bactéries	6
Figure 9.	Transfert des gènes plasmidiques de cellules F+ à des cellules receveuses F-.....	7
Figure 10.	Phytoplasmes dans les vaisseaux Bois noir sur vigne causé par les phytoplasmes	8
Figure 11.	<i>Xylella fastidiosa</i> agent causal de la maladie de Pierce de la vigne	9
Figure 12.	Phytoplasmes avec double Oranger infecté par le Citrus Greening CG.....	10
Figure 13.	À gauche, Motile, morphologie hélicoïdale, le premier mycoplasme d'origine végétale qui ait été mis en culture, au milieu cicadelles vectrices, à droite <i>Diaphorina citri</i> vectrice du HLB.....	10
Figure 14.	Symptômes de la flavescence dorée sur vigne : à gauche sur feuille de vigne à baies blanches, au milieu sur feuille de vigne à baies rouges, à droite le vecteur <i>Scaphoides titanus</i>	11
Figure 15 .	Composants lipodepsipeptide cyclique (Cyclic lipodepsipeptid compounds), exemple : syringomycines et syringostatines causant les nécroses secrété par : <i>Pseumonas syringae</i> pv <i>syringae</i>	12
Figure 16.	La toxine glycoprotéine (glycoprotein toxin) : causant les tâches blanches nécrotiques, secrété par <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp <i>michiganensis</i>	12
Figure 17.	Pourriture annulaire causée par <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp <i>sepedonicus</i>	13
Figure 18.	Polysaccharide extracellulaire (Extracellular polysaccharide) EPS secrété par : <i>Erwinia amylovora</i> sur fruits de poirier	13

Figure 19. D'autres hormones influençant la croissance indole acide acétique (IAA) et les cytokinines jouent un rôle important dans le développement des symptômes, citons : *Pseudomonas savastanoi* sur olivier, agent causal de la maladie de tuberculose de l'olivier..... 13

Figure 20. Nécroses causés par *Pseudomonas syringae* sur *Ribes*..... 17

Figure 21. La gale commune de pomme de terre causée par *S. scabiei*..... 17

Figure 22. Tuberculose de l'olivier 18

Figure 23. Plants de pêcher (à droite) et pommier (à gauche) infecté par *A. tumefaciens* (tumeurs dues aux cellules transformées)..... 19

Figure 24. Maladies vasculaires provoquant les flétrissements bactériens. 20

Figure 25. Chancres et nécroses causés par *Erwinia amylovora* 21

Figure 26. La pourriture molle causée par *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*..... 21

Figure 27 . Dimitri Iwanowski 24

Figure 28. Structure d'une particule virale..... 26

Figure 29. Démonstration de Samuel (1934) de la progression de l'infection du virus dans la plante à partir du site d'infection initial (Martelli, 2007) 27

Figure 30. Différentes formes et structures des phytovirus 28

Figure 31. Les plasmodemes 30

Figure 32. Processus infectieux des phytovirus 31

Figure 33. Genres et Familles des Phytovirus 33

Figure 34. A gauche : 1) migration de cellule à cellule dans le parenchyme ; 2) Passage du virus du parenchyme aux vaisseaux conducteurs ; 3) Migration du virus dans les vaisseaux conducteurs 4) Passage du virus des vaisseaux au conducteurs au parenchyme. A droite : distribution des particules virales de CTV (visualisé par marqueur protéique vert fluorescent) dans les tissus du phloème de *Citrus macrophylla* et *Citrus aurantium* 34

Figure 35. Les moyens de la transmission verticale..... 35

Figure 36. Le mode transmission non circulatoire (non-persistante et semi-persistante) et le mode de transmission circulatoire (persistante) (Astier et al, 2001). 38

Figure 37. *Apple mosaic virus AMV* *Pear vein yellow virus PVYV*..... 39

Figure 38. *Plum pox virus* (Sharka) *Prunus necrotic ringspot virus* (haut à droite)..... 40

Figure 39. Évolution de la maladie sur un plant infecté par *Citrus tristeza virus* CTV (souche virulente) 40

Figure 40. L'enroulement de la vigne (GLRV) Virus Y sur feuilles de pomme de terre 40

Figure 41. Viroïde de la filiosité des pommes de terre (*Potato spindle tuber viroid* PSTVd; genre Pospiviroid) = 359 nt..... 41

Figure 42. Aspect fusiforme des tubercules de Viroïde de la mosaïque latente du pêcher... 41

Figure 43. La cachexie (*Citrus cachexia viroid* CCVd) sur arbre de citronnier (en haut)..... 42

Figure 44. La localisation des différentes espèces de viroïdes dans la cellule hôte..... 42

Figure 45. Les deux feuilles de pomelo au centre manifestent des symptômes typiques de Citrus Greening CG, mais les tests moléculaires basés sur le 16S rRNA de confirmation sont indispensables. 46

Figure 46. Colonies d'*Erwinia amylovora* 46

Figure 47. Étapes d'indexage 47

Figure 48. Schéma des différentes étapes de l'analyse sérologique DTBIA 48

Figure 49. Schéma des étapes de l'analyse sérologique (DAS-ELISA) 50

Figure 50. Étapes de la reverse transcription RT 52

Figure 51. Étapes de la PCR (Polymérase Chain Reaction) 52

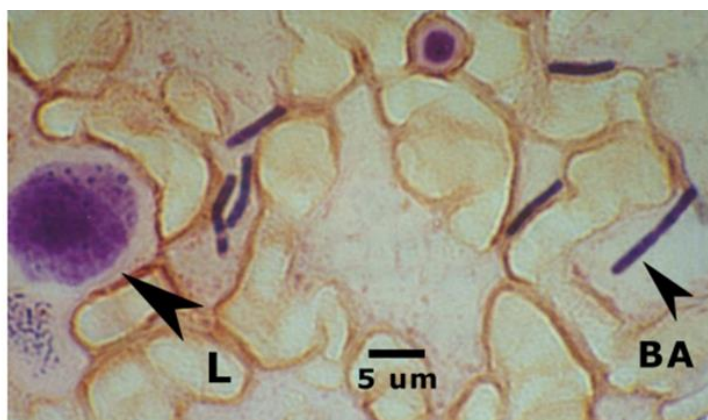
Figure 52. Résultat de l'amplification du marqueur moléculaire 16S rRNA de L'ADN de la bactérie phytopathogène <i>Ralstonia solanacearum</i> générant un amplifiat de 288pb visualisé dans un gel d'agarose 2% (Janse, 2007).....	52
Figure 53. Amplifias spécifiques générés par les marqueurs moléculaires multiples M.M.M (T30POL, VTPOL, T36POL et T3K17) a partir les cinq sources de <i>Citrus tristeza virus</i> CTV agent causal de la maladie de tristeza, ligne 1 : SY-1-ALG, ligne 2 : NN-2-ALG, ligne 3 : PC-3-ALG, ligne 4 : WN-5-ALG, ligne 5 : PL-6-ALG. Ligne 1 : marqueur 2-Log DNA Ladder 0.1-10.0kb.....	53
Figure 54. Étapes de production du matériel végétal de multiplication certifié (certification)	55
Figure 55. Insectes vecteurs de phytovirus, les espèces de la deuxième rangée transmis aussi les mollicutes (Mycoplasmes, phytoplasmes et spiroplasmes).....	57
Figure 56. Modèle d'une affiche de sensibilisation (la tristeza des agrumes)	58

1 Bactériologie végétale

1.1 Historique

Le premier homme qui a vu une cellule bactérienne est le commerçant néerlandais Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723), il a observé de colonies de bactéries sur une suspension blanche qu'il a prélevé de son appareil dentaire, le marchand a adressé une lettre à la société britannique des sciences dans la quelle il a décrit la forme des entités observés. 150 ans plus tard le nom bactérie est apparu par l'intermédiaire de l'allemand CG Ehrenberg (1795-1876), c'est lui qui a utilisé les noms *Bacillus*, *Spirillum* qui sont utilisés à ce jour.

L'allemand Robert Koch est le premier biologiste qui a pu démontrer en 1876 que les cellules bactériennes peuvent être pathogènes (Fig. 19), sous microscope optique depuis une goutte de sang d'une brebis atteinte par l'anthrax, une épidémie mortelle des ovins, Mr Koch a isolé des colonies bactériennes qui ont provoqué les mêmes symptômes sur souris inoculés, les mêmes types de bactéries ont été observé dans le sang des souris mortes. C'est grâce à cette expérimentation pionnière que le processus de Postulat du Koch est né.



à gauche: Dr Robert Koch dans son laboratoire
à droite: bactéries de types bacilles *Bacillus anthracis*
dans du sang de brebis atteinte par l'anthrax. Gram-
L: leucocytes. BA: cellules bactériennes *B. anthracis*

Figure 1. Le savant allemand Robert Koch et les premières bactéries pathogènes observées par les humains.

1.2 Structure et physiologie de la cellule bactérienne

Un microbe ou micro-organisme fait partie d'un groupe large et diversifié d'organismes. Ces organismes sont regroupés sur la base d'une seule propriété : ils sont si petits qu'ils ne peuvent être

vus sans l'aide d'un microscope. Ce mot est donc utilisé pour désigner les virus, bactéries, les mycètes, protozoaires et certaines algues (Fig. 20 et 21).

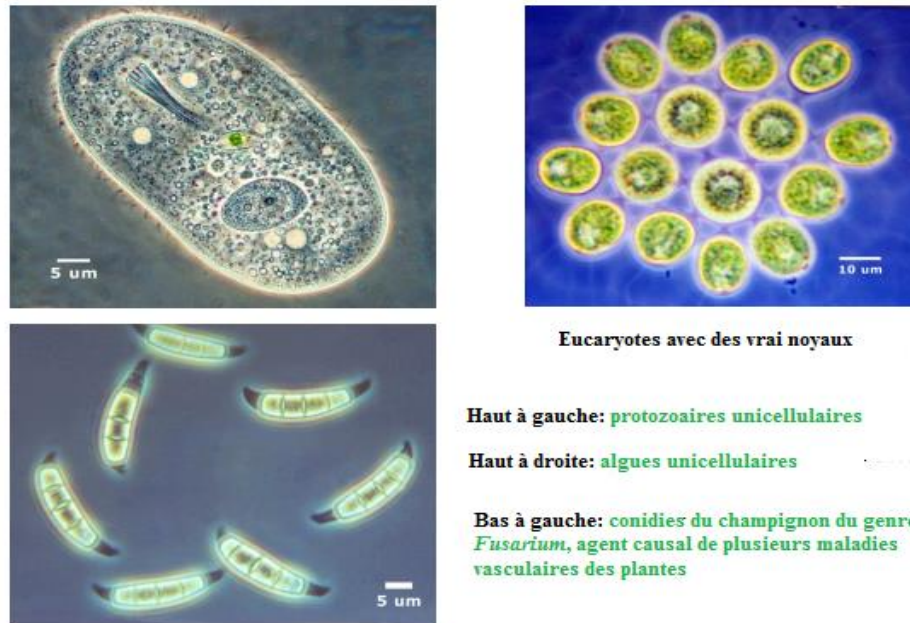
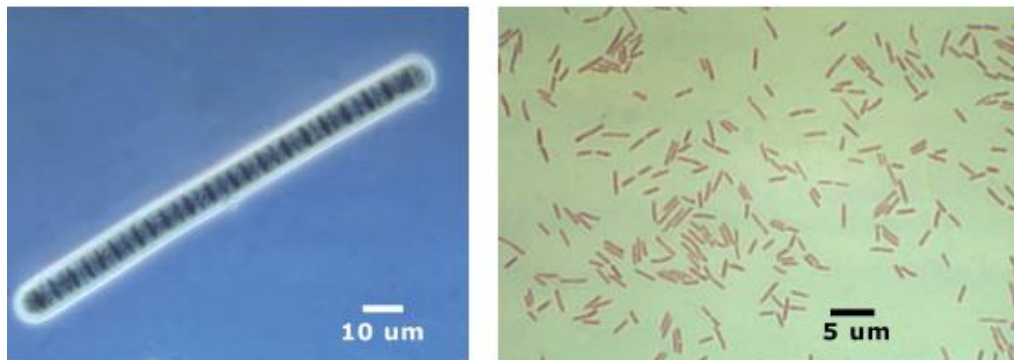


Figure 2. Les organismes eucaryotes unicellulaires



Procaryotes: organismes sans vrai noyaux (l'ADN est libre dans la cellule)

A gauche: volumineuse cellule *Cyanobacterium oscillatoria* qui vit dans les eaux douces qui forme des colonies appelées inflorescences d'algues

A droite: cellule d'une **vrai ou eubactérie** *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi* de type Gram-

Figure 3. Les Procaryotes

Au sein du monde microbien, on peut retrouver deux types de cellules : les procaryotes (Fig.20) et les eucaryotes (Fig. 19). Les bactéries sont des procaryotes, elles n'ont pas de membrane nucléaire, ni d'organelles impliquées dans la génération d'énergie telle que la mitochondrie, ou des membranes internes comme le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, qui sont présent chez les eucaryotes.

Une cellule bactérienne est composée généralement d'une membrane externe conçue de polysaccharide (c) qui entoure la cellule en entier sous laquelle réside la paroi cellulaire (CW), suivi par la membrane cellulaire ou plasmique (CPM). Dans une région de la cellule appelé nucléide dépourvu de membrane, on trouve souvent un ADN bi-caténaire circulaire dans laquelle réside l'information génétique de la bactérie (N) attaché à une de ces extrémité à la membrane plasmique. Chez la bactérie existe aussi un deuxième ADN circulaire appelé plasmide (PL) qui contient quelques gènes seulement, ces derniers codent généralement pour des protéines de résistance. L'ADN plasmidique se réplique indépendamment à l'ADN génomique. Il est capable de passer vers d'autres cellules à travers un organe nommé sex fibrium ou pilus (Sfi) qui sont plus longs que les cils (pili) de locomotion (Fi).

Les bactéries possèdent des structures appelées ribosomes (Ri) qui sont responsables de la synthèse des protéines. Quelques bactéries possèdent une structure appelée flagelle (F) qui aide la cellule ase déplacer (Fig.22).

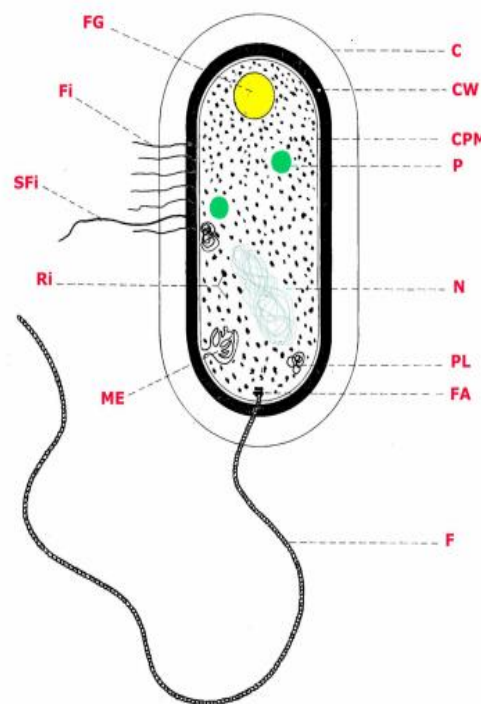


Figure 4. Schéma général d'une cellule bactérienne (Janse, 2007)

L'enveloppe cellulaire est la structure qui entoure la cellule bactérienne, composée de la membrane plasmique, la paroi cellulaire et parfois une deuxième membrane phospholipidique en plus d'une gaine ou capsule extracellulaire de polysaccharide. Une des principales fonctions de la paroi cellulaire est le maintien de la pression hydrostatique (Fig.23). Au fait l'environnement dans la cellule bactérienne est hypertonique due au différents types de molécules qu'elle contient, ceci signifie que l'eau tend à se déplacer à l'intérieur de la cellule par osmose augmentant ainsi la pression hydrostatique. Sans la paroi cellulaire, la bactérie s'éclate. Chez les cellules bactérienne, la paroi cellulaire est conçue d'une substance appelée **Peptidoglycane**, un polymère composé de sucres et acides aminés. Il est hautement maillé donnant à la cellule la rigidité, la force et la résistance aux lyses.

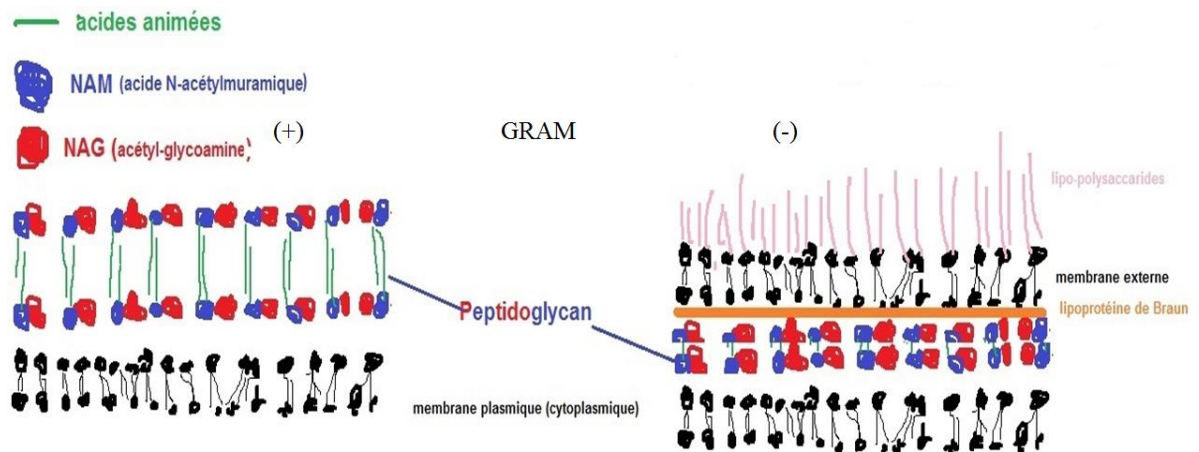


Figure 5. Schéma du Peptidoglycane et l'enveloppe en entier chez les bactéries

Gram + et Gram -

La paroi plasmique est une bi-couche phospholipidique dans laquelle sont enfouies des protéines jouant le rôle de transport et de métabolisme énergétique et la réception des signaux.

Les cellules bactériennes sont classées en fonction de la structure de leur enveloppe cellulaire suivant une technique nommée la coloration de Gram.

Les bactéries sont divisées en deux groupes sur la base de leur réaction à un colorant établi par Christian GRAM en 1884. La réaction à la coloration est liée à la structure de l'enveloppe cellulaire. Les bactéries Gram positif (+) ont une seule membrane appelée membrane plasmique entourée d'une couche épaisse appelée la paroi cellulaire ou le peptidoglycane (20-80nm). Les bactéries Gram négatif (-) possèdent une couche fine de peptidoglycane (1-3nm) mais entourée d'une membrane externe agissant comme une barrière. La membrane externe contient plusieurs structures uniques. La

lipoprotéine de Braun lie le peptidoglycane à la membrane externe chez les bactéries Gram négatif (-) (Fig. 24).

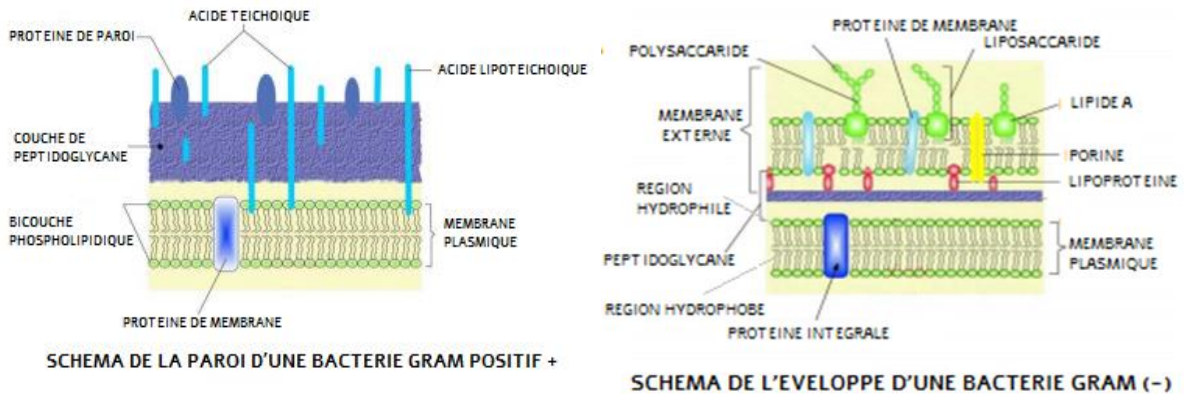


Figure 6. Schémas d'enveloppes d'une bactérie Gram + (à gauche) et une Gram - (à droite)

1.2.1 Le procédé de coloration de Gram

Les cellules fixées sont colorées par le violet cristal suivi par l'iode formant un complexe insoluble au niveau de la paroi. On y ajoute de l'alcool qui élimine la coloration violette des cellules ayant la paroi fine mais non celles à paroi épaisse. Enfin un colorant plus clair tel que la fuscine ou la safranine est ajouté et colore en rose les cellules décolorées par l'alcool, mais ne modifie pas les cellules déjà colorées en violet. Les cellules qui retiennent le colorant violet sombre (à paroi épaisse) sont appelées bactéries Gram positif (+), elles sont de couleur pourpre sombre lorsque sont observées sous microscope optique. Alors que celles qui perdent le colorant sombre (à paroi fine et entourée de membrane externe) sont appelées bactéries Gram négatif (-), elles manifestent une couleur rose à pourpre clair sous microscopie optique (Fig.25).

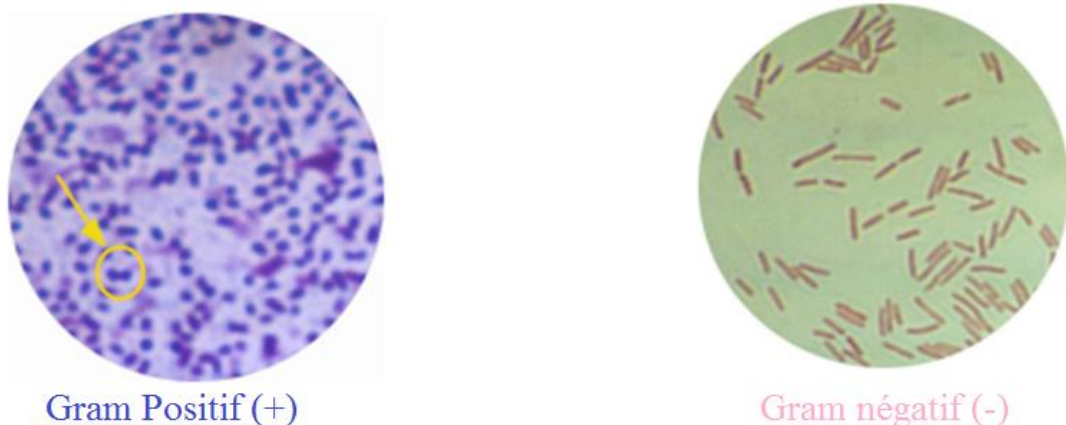


Figure 7. Coloration des bactéries après le procédé de coloration de Gram

1.2.2 La morphologie (formes) des cellules bactériennes.

Les bactéries ont des formes cellulaires avec un diamètre moyen de 1 μm . l'œil humain possède une capacité de résolution de visionner deux objets rapprochés de 1mm de diamètre. Le microscope optique doit être utilisé pour observer les bactéries.

Forme des cellules : les cellules bactériennes peuvent exister en coccus (cellule sphériques), coccobacilles (forme ovoïde), bacille droite ou inclinée, bacille sphérique, filamenteux. Dans certains cas, dans une seule colonie on peut observer plusieurs formes, ce sont des bactéries pléomorphes. Dans d'autres cas les formes de certaines bactéries changent en fonction du milieu artificiel de culture où elles se développent.

Taille des cellules bactériennes : généralement les cocci ont un diamètre qui varie de 0.1 à 1 μm , les bacilles ont un diamètre d'environ 1 à 2 μm . bien que certaine bactérie peuvent mesurer 10 μm ou plus (Fig.26). Les cellules bactériennes en combinaison : diplo-, strepto-, staphylococci- bacilles en chaîne, ou chaîne de cellules en gaine (ex trichomes des cyanobactéries).

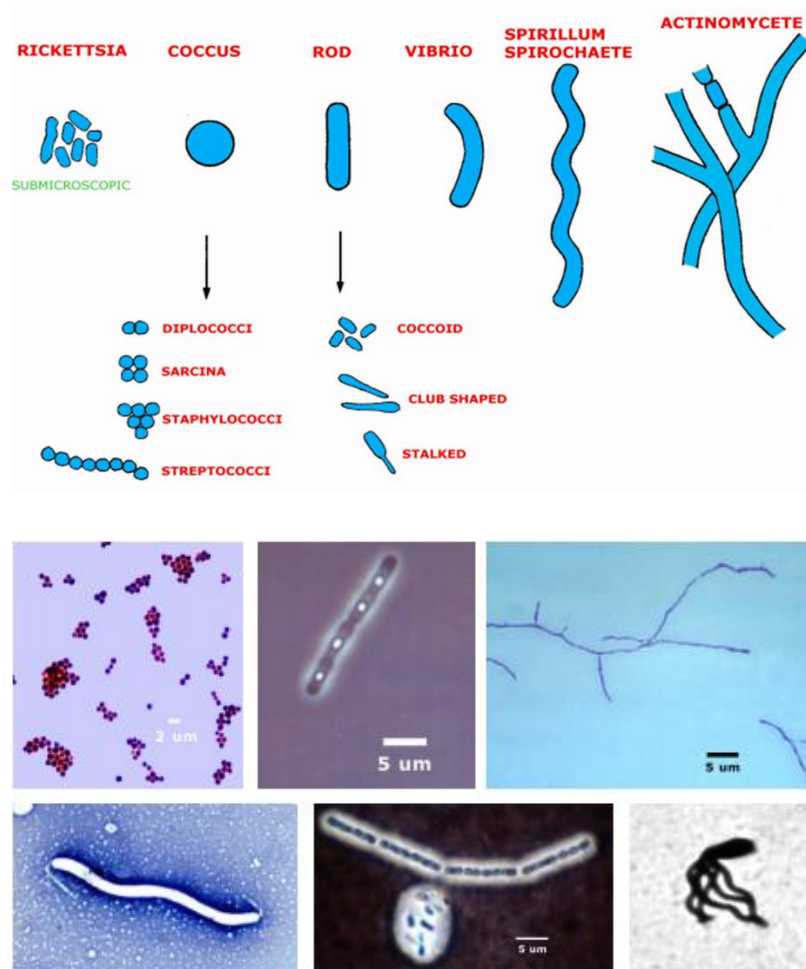


Figure 8. Formes et tailles des bactéries

1.2.3 Les plasmides et la conjugaison chez les bactéries

La conjugaison est le mécanisme par lequel le matériel génétique est transféré entre deux bactéries par des plasmides. Une cellule bactérienne contenant un plasmide conjugatif (F⁺), forme une paire avec une cellule qui ne contient pas de plasmide conjugatif + par l'intermédiaire d'un pili F à la surface de la cellule. Le pili se contracte mettant les deux cellules en contact et l'ADN est donc transféré. L'ADN transféré est un simple brin contenant des gènes nouveaux vis à vis de la cellule receveur (Fig.27).

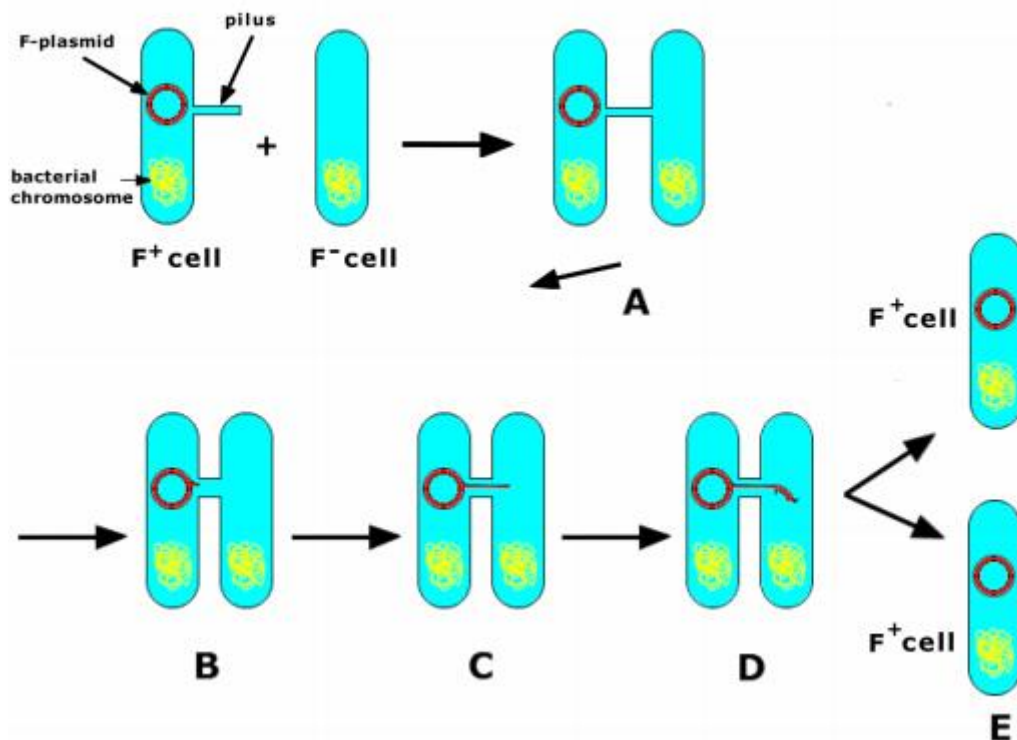


Figure 9. Transfert des gènes plasmidiques de cellules F⁺ à des cellules receveuses F⁻

Les plasmides conjugatifs ont la capacité de se transférer entre les cellules et dans certains cas de transférer des segments d'ADN chromosomique. Grâce à ce mécanisme la bactérie phytopathogène *Agrobacterium tumefaciens* est capable de transformer les cellules de la plante hôte situées autour des plaies d'entrées à des cellules cancéreuses. Les souches virulentes possèdent un grand gène plasmidique responsable de la formation des tumeurs chez la plante hôte. Ces plasmides contiennent aussi des gènes de virulence et des gènes pour la production des hormones de croissance. Provoquant ainsi des tumeurs malades au niveau d'organes basaux de la plante infectée (collet, racines et bulbes), voir paragraphe 2.3.7.4.

1.2.4 Taxonomie des Bactéries phytopathogènes

1.2.4.1 Les eubactéries :

Les bactéries causant des maladies des plantes sont de forme bacilles Gram + ou Gram -, à l'exception de l'espèce *Streptomyces spp*, elle est filamenteuse. La plupart des bactéries phytopathogènes sont intercellulaires (vivent entre les cellules végétales) et/ou necro-trophiques (vivent sur les cellules tuées).

Exemples: *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas savastanoi*, *Ralstonia solanacearum*

1.2.4.2 Les mollicutes, FPLB et FXLB :

1.2.4.2.1 Fastidious Xylem Limited Bacteria FXLB

Le groupe des bactéries (Fastidious Xylem Limited FXLB) sont des Rickettsia-similaire appartenant à la Classe des Gammaproteobacteria (Gram-). Elles sont dépourvu de paroi cellulaire, mesurant - 0.2-0.3um x 1.0-2.0um, l'ensemble des FXLBs sont pléomorphes (changent de forme selon le milieu où elles se trouvent) et elles se multiplient par scission binaire, elles vivent dans les vaisseaux conducteurs du xylème, elles sont véhiculer par les cicadelles et par voie végétative, souvent non cultivable sur milieu artificiel. L'agent pathogène le plus connu de ce groupe est sans doute *Xyllela fastidiosa* (Fig.29) et qui est à l'origine de plusieurs maladies majeures de plusieurs espèces ligneuses telles que la vigne (Pierce's disease), L'olivier (le syndrome du déclin rapide de l'olivier) et les agrumes (*Citrus Variegated Chlorosis CVC*), les symptômes communs entre ces plantes hôtes est la dessiccation des feuilles, l'hôte infecté manifeste en suite une défoliation prématurée, suivie par un déclin irréversible. C'est une maladie à répercussion économique grave (Fig.28)

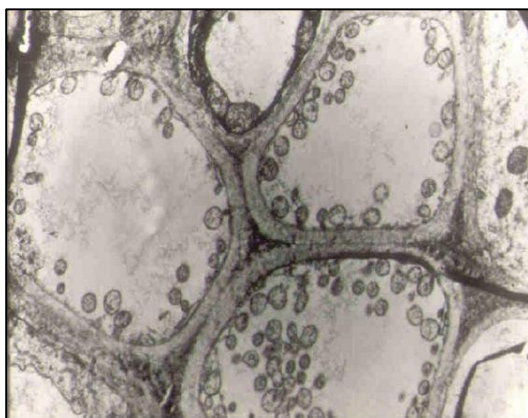


Figure 10. Phytoplasmes dans les vaisseaux Bois noir sur vigne causé par les phytoplasmes

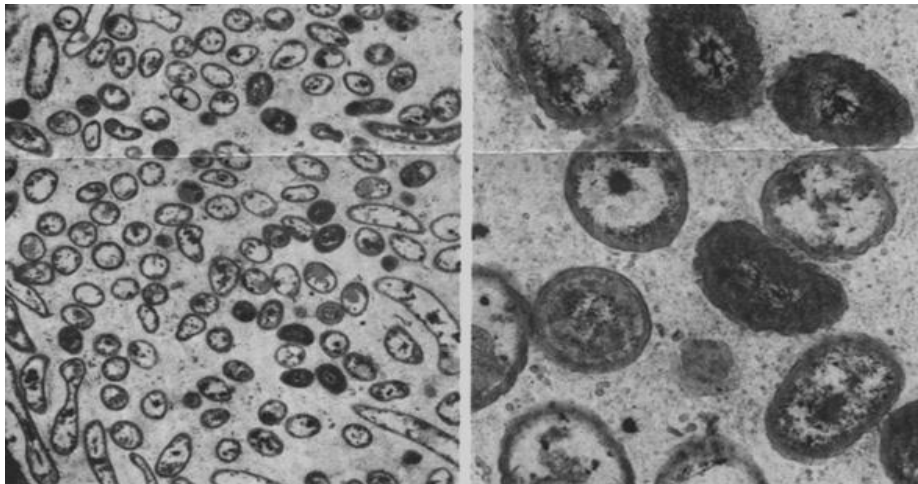


Figure 11. *Xylella fastidiosa* agent causal de la maladie de Pierce de la vigne

1.2.4.2.2 Fastidious Phloem Limited Bacteria FPLB

Dans ce groupe de bactéries appartenant à la classe des Alphaproteobacteria, ressemble aux bactéries FXLB. Le pathogène *Candidatus Liberobacter* HLB (huanglongbing) causant la maladie du greening des agrumes CG est présent sous trois souches basant sur la séquence 16S rRNA et le type du vecteur, une maladie qui est devenue la menace numéro une de la citriculture mondiale. Dans les régions tropicales de l'Afrique (Laf), en Asie (Las) et dans les Amériques (Lam). La bactérie contient une paroi cellulaire, Gram négatif – transmise uniquement par les psylles, la bactérie vit et se multiplie exclusivement dans les cellules du phloème, elle est uncultivable en dehors des cellules hôtes. Les souches Lam et Las sont transmises par le psylle *Diaphorina citri* (Fig.30), tandis que la souche africaine Laf est disséminée par *Triosia erytrae*..

Candidatus Liberibacter solanacearum' (Solanaceae haplotypes) sont vecteurs *Bactericera cockerelli* est une un pathogène affectant diverses plantes hôtes, surtout les solanacées cultivées (Tomate et pomme de terre). C'est deux maladies sont classées de quarantaine classe A1 dans la région OEPP (pour plus de détail veuillez visiter le site : https://www.eppo.int/ACTIVITIES/quarantine_activities

1.2.4.2.3 Les Mollicutes (Mycoplasmes)

Mycoplasmes est une bactérie de la classe des Mollicutes Gram négatif (+) de très petite taille (de 125-250nm jusqu'au 0,2-0,3 um) sans paroi cellulaire (free-living protoplasmes contenant une membrane, elle vit exclusivement dans une cellule hôte vivante) et elles se multiplient par scission binaire. Bien qu'il existe des phytopathogènes dans ce groupe, traditionnellement se sont les virologistes qui travaillent sur eux, principalement parce qu'ils ne sont cultivables.

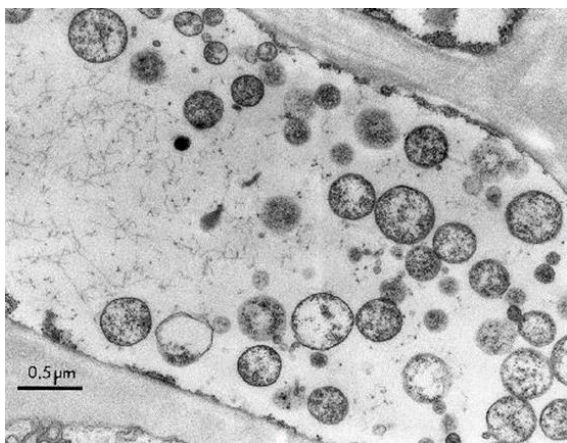


Figure 12. Phytoplasmes avec double membrane plasmique. À l'intérieur de la cellule, les ribosomes et l'acide nucléique sont visibles

Oranger infecté par le Citrus Greening CG

1.2.4.2.4 Les Mollicutes (Spiroplasma)

Les spiroplasma, *Spiroplasma citri* par contre elles sont des cultivables bactéries phytopathogènes de forme spirales, causant la maladie du Stubborn des agrumes, la maladie est transmise par les cicadelles (fig.31)

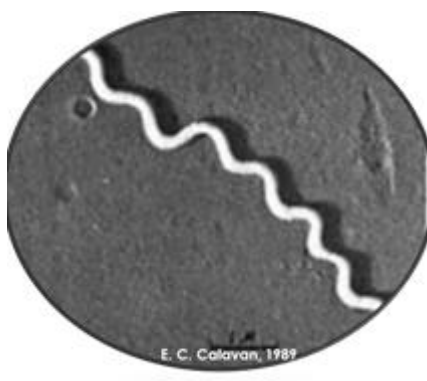


Figure 13. À gauche, Motile, morphologie hélicoïdale, le premier mycoplasme d'origine végétale qui ait été mis en culture, au milieu cicadelles vectrices, à droite *Diaphorina citri* vectrice du HLB.

1.2.4.2.5 Les mollicutes (Phytoplasmes)

Les phytoplasmes sont des minuscules bactéries appartenant à la classe des Mollicutes non cultivables vivant dans la sève au niveau des tubes conducteurs du phloème des végétaux, elles causent des chloroses suite au blocage de la sève sur une centaine de plantes hôtes, mais aussi le verdissement des fleurs et stérilité des fleurs et le syndrome de balaies de sorcière. Elles sont transmises par les cicadelles et par greffage. *Candidatus Phytoplasma pruni* agent causal de la maladie X du pêcher est l'une des phytoplasmes redoutables en Agriculture. Sur vigne le phytoplasme causant la flavescence dorée de la vigne ou Rougeau est une grave maladie encore sa

distribution est limitée en Europe mais très répandue aux Amériques. Beaucoup de phytoplasmes sont classés organismes de quarantaine (voir tableau 2).



Figure 14. Symptômes de la flavescence dorée sur vigne : à gauche sur feuille de vigne à baies blanches, au milieu sur feuille de vigne à baies rouges, à droite le vecteur *Scaphoides titanus*

1.2.5 Pathogénicité

1.2.5.1 Facteurs liés à la bactérie phytopathogène

Plusieurs bactéries phytopathogènes peuvent survivre et même se multiplier par mode saprophytique dans l'environnement. Les bactéries entrent dans la plante à travers les plaies causés par (les insectes, grêles, vents..) ou via stomates, lenticelles hydathodes, nectaries.....

Certaines via les semences, causant les maladies vasculaires.

La pathogénicité basée sur (le degré d'agressivité ou de virulence de la bactérie) est déterminé par la capacité de la bactérie de se maintenir dans les tissus de la plante et de se multiplier et souvent par le pouvoir de sécréter de substances qui influencent la croissance des cellules de l'hôte (hormones) ou bien les détériorer ou les tuer. Les bactéries phytopathogènes se divisent en parasites du Phloème, du xylème ou du parenchyme. La majorité de bactéries phytopathogènes sont des parasites necrotrophiques.

1.2.5.1.1 Toxicogénité

C'est la faculté de produire des substances toxiques, comme :

- ✓ Les exotoxines excrétées par les bactéries vivant dans des tissus (ex. glycoprotéines, lipoprotéines et polysaccharides).
- ✓ Les endotoxines : ces derniers font partie de la paroi cellulaire de la bactérie, ils se libèrent après la mort de la bactérie. Les toxines des bactéries phytopathogènes ne sont pas spécifiques mais souvent il y a une relation directe entre la toxine sécrétée et un symptôme particulier.

Quelques exemples de toxines produites par des bactéries phytopathogènes :

- ❖ Dipeptides induisant la chlorose (chlorosis inducing dipeptides) (jaunissement due à la décomposition de la chlorophylle) comme la tabtoxine secrété par *P. syringae* pv *tabaci*.



Figure 15 . Composants lipodepsipeptide cyclique (Cyclic lipodepsipeptid compounds), exemple : syringomycines et syringostatines causant les nécroses secrété par : *Pseumonas syringae* pv *syringae*.



Figure 16. La toxine glycoprotéine (glycoprotein toxin) : causant les tâches blanches nécrotiques, secrété par *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis*.

Clavibacter michiganensis subsp *sepedonicus* sous climat frais de 20 à 25°C, cause des attaques visibles en fin de cycle de pomme de terre qui se traduisent par un flétrissement des feuilles du bas et une coloration jaune brun des tissus vasculaires visible que lors de coupe de tubercules. Un exsudat bactérien crémeux peut apparaître au niveau de l'anneau vasculaire. En phase extrême, les tubercules se craquent en surface et une cavité se forme à l'intérieur *C. michiganensis* subsp *sepedonicus* est un organisme de quarantaine et il doit être éliminé de façon obligatoire au cas de présence. L'utilisation de plants (semences) certifiés est fortement recommandée (Fig.35).



Figure 17. Pourriture annulaire causée par *Clavibacter michiganensis* subsp *sepedonicus*



Figure 18. Polysaccharide extracellulaire (Extracellular polysaccharide) EPS secrété par : *Erwinia amylovora* sur fruits de poirier



Figure 19. D'autres hormones influençant la croissance indole acide acétique (IAA) et les cytokinines jouent un rôle important dans le développement des symptômes, citons : *Pseudomonas savastanoi* sur olivier, agent causal de la maladie de tuberculose de l'olivier

- ❖ Facteurs protecteurs comme la cire extracellulaire qui protège de la dessiccation, ainsi que l'immobilisation de la bactérie sur la paroi des cellules de la plante hôte.

- ❖ Facteurs de virulence ou agressives, se sont des composants a priori des enzymes tels que les pectinases, cellulases, proteases, lipases et amylases. Les principes (composants) qui sont impliqués dans la reconnaissance entre la plante hôte et la bactérie et d'autres facteurs déterminant la spécificité.
- ❖ Histo-organotropisme : la possibilité de s'installer et de se multiplier dans certains tissus ou organes.

1.2.5.2 Facteurs liés à la plante hôte

1.2.5.2.1 Facteurs intrinsèques

a) La susceptibilité et/ou la sensibilité de la plante hôte

Structure de la plante : la Cuticule (couche cireuse sur les tissus des plantes herbacées), subérine (les écorces) et la lignine (composant principal du bois) sont très difficilement décomposés par les bactéries phytopathogènes, par exemple les tubercules mures de pomme de terre possédant un pourcentage élevé de lenticelles subérifiées qui sont moins sensibles à la Jambe noire (Blackleg).
Ex: La différence de la structure de stomates des fruits de mandarines (*Citrus nobilis*) et de pamplemoussiers (*Citrus grandis*) semble être déterminant la résistance à l'égard de *Xantomonas axonopodis* pv *citri*.

b) Capacité de réagir et les mécanismes de défense.

A ce jour peu de réactions de défense des plantes hôtes contre les pathogènes sont connues :

Hypertrophie : excroissance des cellules

Hyperplasie : la division anarchique des cellules

1.2.5.2.2 Les mécanismes de défense

Réactions qui sont dirigées contre le pathogène et les dégâts des tissus occasionnés par les pathogènes.
Ex, La série de réactions qui mènent à la résistance ou ce qu'on appelle les réactions d'hypersensibilité (HR) où la bactérie est encapsulée et tuée.

Diverses réactions spécifiques comme la production de phyto-alexines, polyphénoloxidasés, lectines de parois cellulaires, en plus de la formation de gomme, acide carbonique, tissus crouteux et callus (bordures barrières).

1.2.5.3 Étapes de maladie

Dans un processus de la maladie (interaction entre la bactérie phytopathogène et la plante, ou pathogénicité) quatre étapes peuvent être énumérées : infection, incubation, apparition des symptômes et en fin progression (développement) ou arrêt du processus de maladie.

1.2.5.3.1 Infection

La pénétration d'une bactérie à l'intérieur de la plante hôte dépend d'interaction complexe entre la bactérie, la plante et les facteurs biotiques et abiotiques. Les bactéries comme plusieurs champignons ne peuvent pas pénétrer au tissu des plantes via l'épiderme, la porte d'entrée détermine déjà la nature du symptôme à manifester. Les bactéries ont besoin d'une humidité élevée, de l'eau et de la température pour leur développement.

Les bactéries pénètrent la plante à travers : les hydathodes, stomates, trichomes, lenticelles, les ouvertures de surfaces ou plaies (causées par insectes, mécaniques, grêle...)

1.2.5.3.2 Incubation

Durant l'incubation des bactéries, elles s'installent dans les tissus, se disséminent et se multiplient et par conséquent commencent leur influence sur l'hôte. La plupart des bactéries se propagent uniquement entre les cellules à travers les espaces intercellulaires pour tuer, pénétrer et détruire les cellules. La bactérie pathogène vasculaire peut multiplier sélectivement dans le xylème ou le phloème. Ces derniers peuvent se multiplier initialement dans les cellules du parenchyme avant de se déplacer vers les vaisseaux (*Xanthomonas oryzae*), l'inverse est aussi vrai, par exemple *Erwinia amylovora* qui n'est pas un pathogène vasculaire, peut s'établir dans les vaisseaux du xylème des feuilles, avant de gagner et coloniser les tissus du parenchyme. Les phytoplasmes du phloème (FPLB) se disséminent via les voies intercellulaires entre les cellules vivantes. Il est bien connu que les bactéries se propagent passivement et perdent leurs flagelles dans les tissus des plantes. Au niveau des couches cellulaires sub-stomatales et les espaces intercellulaires une humidité suffisante doit être présente pour le développement bactérien. Par conséquent les infections bactériennes presque toujours ont lieu sous les conditions humides. Les bactéries nécrotrophiques sont capables de maintenir les conditions humides grâce aux substances de lyse des membranes cellulaires qu'elles secrètent (pectinases, extracellulaires polysaccharides ou EPS). À cause de ces substances les nutriments et l'eau sortent des espaces intercellulaires. En raison de ce phénomène de sortie d'eau et de nutriments, plusieurs maladies bactériennes manifestent des zones humidifiées à aspect glaciale au niveau de la marge limitrophe entre le tissu sain et malade. Dans ces zones s'accumulent les bactéries au niveau des tissus morts.

1.2.5.3.3 Apparition des symptômes

Dans le cas d'un pathogène nécrotrophique, les symptômes sont causés par le dysfonctionnement du métabolisme, déchirement et mort des cellules, dégradation des tissus, et encore les premières réactions de défense et l'obstruction de l'eau. Dans le cas de bactéries formant des tumeurs et galls, l'excroissance et/ou surmultiplication des cellules devient visible.











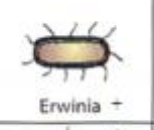

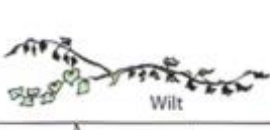



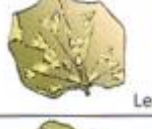


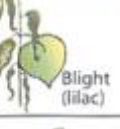

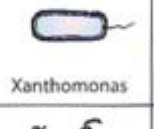


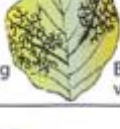



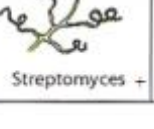

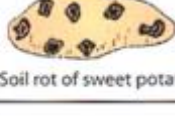
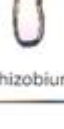
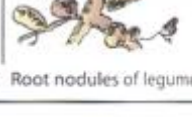
1.2.5.3.4 Développement ou arrêt de la maladie

Cette étape dépend du facteur de virulence de la bactérie phytopathogène, la sensibilité, l'âge et les réactions de défense la plante hôte et les conditions climatiques. Par exemple au cas de la galle commune de pomme de terre et les maladies foliaires, l'infection peut s'arrêter dans la saison. Très souvent, dans le cas des bactéries provocantes de maladies vasculaires ou nécrotiques, une partie ou le total du plant se détruit complètement.

1.2.6 Principaux symptômes associés aux maladies bactériennes des végétaux

Il est important de mentionner que une seule espèce de bactérie phytopathogène peut provoquer plusieurs symptômes, par exemple *Erwinia amylovora* cause les tâches, nécroses, chancres et pourritures molles sur rosacées à pépins, aussi *Xanthomonas compestris* p.v *compestris* cause les taches foliaires mais aussi le noircissement des racines. Au fait deux bactéries ou une bactérie et un autre phytopathogènes peuvent provoquer des symptômes identiques, il faut aussi rappeler qu'un pathogène secondaire peut changer significativement ses symptômes suite à une combinaison de symptômes ce qui provoque la confusion. Les principaux symptômes causés par les bactéries phytopathogènes sont décrites dans le tableau suivants :

Tableau 1. Symptômes associés à quelques eubactéries phytopathogène

 Agrobacterium	 Crown gall	 Twig gall	 Cane gall	 Hairy root		
 Clavibacter	 Potato ring rot	 Tomato canker and wilt	 Fruit spot	 Fasciation		
 Erwinia +	 Blight	 Wilt	 Soft rot			
 Pseudomonas	 Leaf spots	 Galls (olive)	 Banana wilt	 Blight (lilac)	 Canker and bud blast	
 Xanthomonas	 Leaf spots	 Cutting rot	 Black venation	 Bulb rot	 Citrus canker	 Walnut blight
 Streptomyces +	 Potato scab	 Soil rot of sweet potato	 Rhizobium	 Root nodules of legumes		

1.2.6.1 Tâches foliaires

Les taches foliaires provoquées par les bactéries phytopathogènes peuvent souvent être discriminées de celles causées par d'autres organismes par l'anneau chlorotique induit par les toxines secrétées suivi par la zone humide formée par les EPS et la zone sombre grise noirâtre ou brune sèche au centre (Fig. 35).



Figure 20. Nécroses causés par *Pseudomonas syringae* sur *Ribes*

Les taches foliaires prennent plusieurs formes de la forme longitudinale chez les graminées, à la forme angulaire chez les dicotylédones, elles pourraient être circulaires ou de formes irrégulières. Le développement des taches foliaires s'arrête quand le climat devient sec (Fig.38).

1.2.6.2 Excrécences

La bactérie filamenteuse *Streptomyces scabiei*, cause des excrécences connue sous le nom de gales dans le glossaire français, déjà la maladie est appelée gale commune de la pomme de terre (Fig.39). Sous température fraîche 13 à 17°C et une humidité excessive, la bactérie pénètre souvent via les lenticelles non encore matures (ligneuses) ou à travers les plaies. *S. scabiei* secrète des pectinases permettant le développement des hyphes entre les cellules.

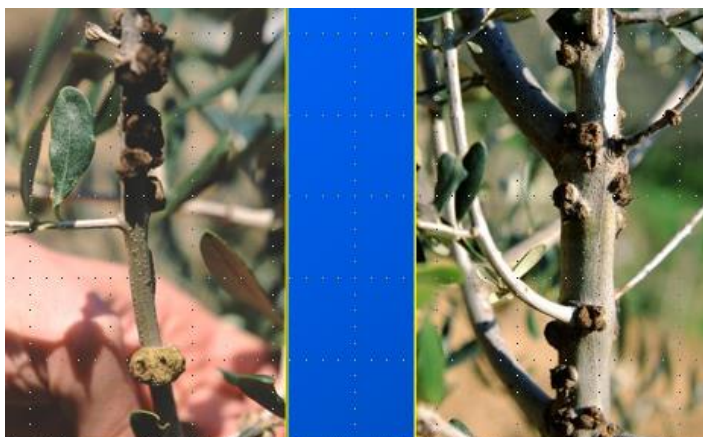


Figure 21. La gale commune de pomme de terre causée par *S. scabiei*

Lorsque les cellules meurent, une croissance intracellulaire aura lieu. Parce que *S. scabiei* ne secrète pas de toxines pour tuer rapidement les cellules, une couche superficielle liégeuse se forme loin des lésions en réseau ou non (gale en liège). La plante hôte essaye de localiser l'infection. La couche de méristème liégeuse (phellogène) parfois forme plusieurs couches de parenchyme distancées des cellules. Parfois les attaques sont plus profondes, avec présence de pustules s'enfonçant en cratères dans le tubercule (Gale en pustules ou relief) (Fig.39). Comme mesures préventives, choisir les variétés de moindre sensibilité et éviter les sols légers et soufflés.

1.2.6.3 Gales bactériennes

Dans ce cas précis, un tissu étendu est formé par hypertrophie et hyperplasie, provoqué par des hormones de perturbation de croissance secrétées par la bactérie. La galle ne se forme si c'est la bactérie est présente, contrairement aux tumeurs. Il existe les histoides qui sont de petites gales différenciées formées comme celles causées par *Pseudomonas savastanoi* p.v *savastanoi* sur olivier (Fig.40).



Gales histoides causées par *Pseudomonas savastanoi* p.v *savastanoi* sur olivier

Figure 22. Tuberculose de l'olivier

Les gales consistent de plusieurs nouvelles cellules parenchymateuses formées avec un développement spontané du tissu du xylème autour et des cavités bactériennes autour des couches croquantes. Les gales se forment sous l'influence des hormones, l'Indol acide acétique (IAA) et les cytokinines secrétées par les bactéries. Dans ce cas les cellules de la plantes hôtes ne se transforment pas comme c'est le cas des tumeurs.

1.2.6.4 Tumeurs

Des surcroissances malignes comparables au cancer des animaux et les humains, sont causées chez les plantes souvent par la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* (Fig.41). Le spectre des plantes hôtes de cette bactérie est très large avoisinant les 600 espèces dont la majorité est des dicotylédones. *A. tumefaciens* est un parasite de blessures, il est capable de transformer les cellules de la plante hôte

situées autour des plaies d'entrées à des cellules cancéreuses. Les souches virulentes possèdent un grand gène plasmidique Ti (Tumor inducing) d'une taille de 150-250kb. Ces plasmides contiennent aussi des gènes de virulence et des gènes pour la production des hormones de croissance, des gènes de production et utilisation des dérivés d'acides aminés (opines) et des gènes de réplication, transfert et de sensibilité à la bactériocine (agro84).



Figure 23. Plants de pêcher (à droite) et pommier (à gauche) infecté par *A. tumefaciens* (tumeurs dues aux cellules transformées)

Agrobacterium tumefaciens transfère l'ADN plasmidique incluant le gène (la région Ti) vers les cellules de la plante hôte, cette dernière va intégrer le génome de la plante. Les cellules transformées vont commencer une division continue sous l'effet des hormones (Indole acide acétique et cytokinines), les cellules transformées produisent aussi des opines qui servent de nutriment pour la bactérie *A. tumefaciens*. A cette phase la présence de la bactérie ne devient plus nécessaire, c'est la raison pour laquelle que parfois il est difficile d'isoler la bactérie depuis des tumeurs âgées, souvent la bactérie se limite à la couche externe de la tumeur (voir paragraphe 2.3.4).

1.2.6.5 Maladies vasculaires et les flétrissements

Les maladies vasculaires peuvent être contractées via les racines ou les stolons par des bactéries phytopathogènes telluriques (du sol) comme *Ralstonia solanacearum* agent causal du symptôme de la pourriture brune chez la tomate et la pomme de terre (Fig.42). *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* agent causal de la pourriture annulaire chez la pomme de terre et *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, agent causal du chancre bactérien chez la tomate. D'autres

possibilités d'infection viennent des semences ou des hydathodes des marges des feuilles à l'image des infections causées par *Xanthomonas compestris* pv. *Compestris*.



Flétrissement d'un plant de tomate (*Lycopersicon esculentum*) suite au blocage des vaisseaux conducteurs causé par *Ralstonia solanacearum*



Brunissement des vaisseaux de plant de tomate (*Lycopersicon esculentum*) suite à une infection par *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Figure 24. Maladies vasculaires provoquant les flétrissements bactériens.

Les bactéries phytopathogènes vasculaires secrètent des toxines (glycoprotéines) qui se diffusent plus rapidement que la bactérie provoquant ainsi le flétrissement, les chloroses et les tâches nécrotiques. Au niveau de ces nécroses la bactérie n'est pas présente. Le flétrissement survient lorsque les tissus non lignifiés des vaisseaux conducteurs sont détruits par la bactérie est par conséquent le transport des nutriments est perturbé.

1.2.6.6 Chancres et nécroses

Lorsque les bactéries envahissent rapidement un tissu et tuent leurs cellules, de larges zones morte, brune à noir tissu nécrotiques se forme. Les nécroses de l'écorce et des feuilles sont causées par *Erwinia amylovora*. Ces nécroses sont probablement dues aux Extracellular Polysaccharides EPS. Quand un hôte pérenne (arbres fruitiers par exemple) est infecté, pour limiter ces nécroses sur son écorce au niveau du cambium, des bordures barrières sont formées, au fil du temps le chancre se développe. Le chancre est une plaie ouverte du bois, causé par la destruction du bois et le cambium correspondant, entouré par les bordures barrières formées (callus) par le cambium sain (Fig.43).



Chancre sur tige de pommier suite à une attaque de *Erwinia amylovora* l'agent causal du feu bactérien



Necroses sur feuille de poirier causées par *Erwinia amylovora* agent du feu bactérien

Figure 25. Chancre et nécroses causés par *Erwinia amylovora*

1.2.6.7 Les pourritures

Les nécroses des tissus pouvaient être combinées aux exsudats et les mauvaises odeurs, qui sont les symptômes typiques des dites pourritures. Plusieurs bactéries phytopathogènes peuvent causer des pourritures par la dégradation rapides des tissus de la lamelle moyenne pectocellulosique (Fig. 44) de l'hôte à laide des enzymes comme les cellulases, pectinases, protéinases.



Pourriture molle causée par *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* sur tubercules de pomme de terre (*Lecopersicon tuberosum*)

Figure 26. La pourriture molle causée par *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*

Le meilleur exemple est la pourriture molle causée par *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* qui s'appelle désormais *Pectobacterium carotovorum* subsp *carotovorum* sur tubercules de pomme de terre (*Lecopersicon tuberosum*), elle est active sous un large spectre de température de 20 à 40°C , cette maladie est classée de quarantaine en Algérie, à cause les dégâts considérables qu'elle peut occasionnées (Tab. 2). Les colonies *E. amylovora* l'agent du feu bactérien des rosacées à pépins

pourrissent aussi les fruits de poirier et de pommier lorsque les contaminations secondaires affectent les fruits durant l'été.

Tableau 2. Liste des bactéries phytopathogènes de quarantaine en Algérie

Pour les détails veuillez visiter le site : https://www.eppo.int/ACTIVITIES/quarantine_activities

Nom	Taxonomie	Plants hôtes	Répartition (Région OEPP)	Moyens de dispersion (Source OEPP)
Apple proliferation phytoplasma Maladie des proliférations du Pommier	<i>Tenericutes</i> ; <i>Mollicutes</i> <i>Phytoplasma</i>	Pommier	France- Espagne- Italie- Allemagne	Greffage : fluorescence des tubes criblés de nervures de feuilles après coloration au 4,6 diamidino-2-phénylindole.
Apricot chlorotic leaf roll mycoplasma Enroulement chlorotique de l'Abricotier	<i>Tenericutes</i> ; <i>Mollicutes</i> <i>Phytoplasma</i>	Abricotier- pêche- prunier- plus part des prunus	Valencia- France- Italie- Grèce	Jeune plants, greffons surtout porte greffes multipliés végétativement.
Burkholderia caryophylli Chancre Bactérien de l'oeillet	<i>Gracilicutes</i>	Oeillet	Italie- France- Danemark- Royaume-Uni	Isolement à partir de tissus malades ; Immunofluorescence
Citrus greening bacterium : Greening	<i>Gracilicutes</i>	La majorité des Citrus	Absent : Arabie saoudite, Yémen	Inoculation à partir de morceaux de feuilles présentant des marbrures ; la plante indicatrice est maintenue à 24 °C ou 32°C. Marquage au gentisoyl glucoside : ELISA, Immunofluorescence.
Clavibacter michiganensis subsp. insidiosus : Jaunissement puis flétrissement bactérien	<i>Fimicutes</i>	Luzerne	Italie- Tunisie- Grèce- Royaume Uni	Agglutination en tubes : l'antisérum est ajouté à une suspension bactérienne pour en étudier la floculation. Isolement à partir de tissus frais et à croissance rapide sur milieu gélosé de Bulkholder contenant 250 ppm d'actidione. Les isolats sont incubés à 20°C et se développent en 5-7 jours.
Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis : Chancre bactérien sur Tomate	<i>Fimicutes</i>	Tomate	Allemagne - France – Espagne - Italie - y compris Sardaigne - Sicile) – Tunisie - Egypte.	Isolement à partir d'extrait de semence sur milieux semi-sélectifs ; profils d'acide gras ; hybridation moléculaire, profils protéiques.
Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus : pourriture annulaire	<i>Fimicutes</i>	Pomme de terre	Belgique (non confirmé)- Danemark -Finlande	Tests sérologique ; test de pouvoir pathogène sur aubergine.
Curtobacterium flaccumfaciens pv. flaccumfaciens : Flétrissement bactérien du Haricot	<i>Fimicutes</i>	<i>Phaseolus spp.</i> , Soja, Pois	Tunisie- Bulgarie (Localement)- Roumanie- France- Allemagne - Belgique non confirmé.	Test de culture et d'agglutination sur lame pour détection des bactéries sous l'enveloppe. Les semences infectées présentent des décolorations de l'enveloppe.
Elm phloem necrosis phytoplasma	<i>Tenericutes</i> ,		OEPP absent- Canada- U.S.A	L'écorce interne des parties inférieures du tronc et des racines principales dégagent une odeur de

(transmis par <i>Scaphoideus luteolus</i> : <i>Cicadellidæ</i>) : Nécrose du liber de l'Orme.	<i>Mollicutes</i> , <i>Phytoplasma</i>	<i>Ulmus spp</i>		salicylate de méthyle une mise pendant quelques minutes dans une bouteille fermée.
Grapevine flavescence dorée mycoplasme : Flavescence dorée.	<i>Tenericutes</i> , <i>Mollicutes</i> , <i>Phytoplasma</i>	Vigne	Allemagne- Espagne- France- Italie- Tunisie	ELISA-ISEM, possibilité de greffage sur des cépages indicateurs.
Pantoea stewartii subsp. stewartii :Flétrissement bactérien.	<i>Gracilicutes</i>	Maïs doux, maïs corné, maïs grain et pop-corn	Grèce- Italie- Pologne- Canada- U.S.A- Mexique	Méthode de détection par Immunofluorescence, ELISA et tests biochimiques et de pathogénicité.
Erwinia amylovora & eu Bactérien des <i>Pommoidea</i> et <i>Crataegus Cydonia</i> , Cotonéaster	<i>Gracilicutes</i>	cvs de Poiriers; Alexandrine, Douillard, Durondeau, passe crassane et cvs de Pommier ; Idared, red, jade, van eseltine	Allemagne- Autriche- Belgique- Chypre- Danemark- France (sauf sud-est)- Espagne (Pis-Basco)- Italie- Egypte	Immunofluorescence, le Dot ELISA et l'hybridation de l'ADN.
Peach rosette phytoplasma	<i>Tenericutes</i> ; <i>Mollicutes</i> <i>Phytoplasma</i>	Pêcher- amandier- abricotier et cerisier	Italie - U.S.A	Inoculation sur plantes indicatrice (Pêcher cvs Elberta ou GF 305) en serre ; résultats au bout de 032 mois.
Peach x-disease phytoplasma ; Peach yellow leaf roll	<i>Tenericutes</i> ; <i>Mollicutes</i> <i>Phytoplasma</i>	Pêcher- amandier- abricotier et prunier	OEPP absent - Canada- U.S.A	Sondes d'ADN : anticorps monoclonaux spécifiques
Peach yellow phytoplasma : Peach little peach	<i>Tenericutes</i> ; <i>Mollicutes</i> <i>Phytoplasma</i>	Pêcher- amandier- abricotier	OEPP absent en Inde- Liban- Syrie- Canada- U.S.A	Inoculation sur plantes indicatrice (Pêcher cvs Elberta ou GF 305) en serre ; résultats au bout de 032 mois.
Pear decline phytoplasma : Flétrissement ou dépérissement du Poirier	<i>Tenericutes</i> ; <i>Mollicutes</i> <i>Phytoplasma</i>	Poirier et Cognassier	Allemagne- Italie- Suisse- Espagne- France- Libye- Canada- U.S.A	Observation au microscope fluorescent de morceaux de tiges ou de racines congelées, colorées par un fluorochrome agglutinant d'ADN (DAPI) ; greffage de scions de racines ou de tiges sur des indicateurs sensibles (<i>Pyrus communis</i> cv. <i>Precoious</i>)
Potato stolbur phytoplasma Stolbur	<i>Tenericutes</i> ; <i>Mollicutes</i> <i>Phytoplasma</i>	Pomme de terre, Tomate, <i>Capsicum spp.</i> , aubergine	Grèce- France (localement)- Italie- Roumanie- Turquie	Colorant pour ADN détectent les phytoplasmes dans les tubes criblés.
Pseudomonas syringae pv. persicae ; Dépérissement	<i>Gracilicutes</i>	Pêcher et nectarinier	France- Yougoslavie- UE	Une méthode de quarantaine OEPP existe pour détecter la bactérie sur plantes en croissance.

bactérien du Pêcher				
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>psii</i> Graisse ou brûlure bactérienne du Pois	<i>Gracilicutes</i>	Pois	France- Bulgarie- Grèce- Maroc (non confirmé)- Pays bas- Liban- Canada- Mexique	Immersion des semences de pois broyées dans un tampon à 4°C pendant 4-16h et isoler ensuite le pathogène du surnageant après centrifugation, isolement direct à partir des tissus malades ou de semences sur milieu B de King, en y ajoutant si nécessaire de l'acide borique, la celalexine ou la cycloheximide. Des tests biochimiques, sérologiques et des tests sur hôtes sont nécessaires.
<i>Pseudomonas woodsii</i>		Oeillets		
<i>Ralstonia solanacearum</i> : Bactériose vasculaire ou flétrissement bactérien	<i>Gracilicutes</i>	Pomme de terre et Tomate	Egypte- Espagne (probable)- France (signalements isolés)- Grèce- Pays Bas- signalement ancien)- Tunisie- Mexique	IFAS et un test du pouvoir pathogène sur tomate pour confirmer un IFAS positif ; ELISA de PCR ; tests biochimiques, l'analyse d'acide gras, la RFLP et l'analyse des protéines.
<i>Stawberry witches broom phytoplasma</i> : witches broom of strawberry	<i>Tenericutes</i> : <i>Mollicutes</i> : <i>Phytoplasma</i>	Fraisier	OEPP absent Canada- U.S.A	Transmission par greffage à des clones indicateurs de <i>Fragaria vesca</i> ou <i>F. virginiana</i> .
<i>Xanthomonas arbricola</i> pv. <i>pruni</i> : Taches bactériennes (bactériose)	<i>Gracilicutes</i>	<i>Prunus spp.</i>	Liban- Bulgarie (localement)- Italie- Roumanie- Arabie saoudite	Tests biologiques sur feuilles détachées et par isolement
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>citri</i> : Chancre bactérien des agrumes.	<i>Gracilicutes</i>	<i>Citrus spp.</i>	OEPP absent - Asie	Sérologie par les anticorps polyclonaux, la sensibilité aux bactériophages, l'analyse de la composition de l'ADN génomique, analyse par RFLP et analyse de la composition en acides gras.
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> : Brûlure bactérienne	<i>Gracilicutes</i>	Fève	Espagne- Egypte- Maroc (non confirmé)- Liban- Asie- Afrique- Canada- U.S.A	Semences stérilisées et pilées sont mises à incuber dans un milieu sélectif (milieu MXP) ; coloration par immunofluorescence.
<i>Xanthomonas campestris</i> (toutes les souches pathogènes de Citrus) : Chancre bactérien des agrumes	<i>Gracilicutes</i>	<i>Citrus spp</i>	OEPP absent	Sérologie, anticorps monoclonaux, tests sur plantes hôtes.
<i>Xanthomonas fragariae</i> .	<i>Gracilicutes</i>	Fraisier	Espagne (localement)- Grèce-	Isolément direct ou méthode IFAS sur des suspensions obtenues par macération des tâches
Taches angulaires			Italie- Portugal- Roumanie	saturées d'eau dans un mortier additionné d'un petit volume d'eau distillée.
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> : Maladie bactérienne des feuilles de riz.	<i>Gracilicutes</i>	Riz	Russie- Asie- U.S.A- Mexique	ELISA avec anticorps monoclonaux.
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzicola</i> : Brûlures ou stries bactériennes.	<i>Gracilicutes</i>	Riz	OEPP absent- Asie- Nigeria- Sénégal	ELISA avec anticorps monoclonaux.
<i>Xanthomonas populi</i> : chancre bactérien.	<i>Gracilicutes</i>	<i>Populus spp</i>	Irlande- Allemagne- Danemark- France	Symptômes au champ ; chancres, inspection pendant la période végétative.
<i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>translucens</i> : Glume noire, brûlure bactérienne.	<i>Gracilicutes</i>	Orge, seigle, blé, triticale	France (non établie)- Espagne- Libye- Maroc- Syrie- Tunisie- Turquie- Canada- U.S.A- Mexique.	Milieu Wil Brink modifié ; immunofluorescence et tests par dot- immunobinding, ELISA, PCR.
<i>Xanthomonas vesicatoria</i> : galle bactérienne.	<i>Gracilicutes</i>	Tomate et Poivron	Egypte- Espagne- France- Maroc- Tunisie- Mexique- U.S.A	Milieux partiellement sélectifs ; IF suivi d'un isolement ; tests sérologiques (agglutination sur lame, IF ; Dot- ELISA), test du pouvoir pathogène sur feuilles.
<i>Xylella fastidiosa</i> (transmise par cicadellidae: <i>Carneciocephala fulgida</i> , <i>Draeculacephala miverna</i> et <i>Graphocephala atropunctata</i>) : Maladie de Pierce.	<i>Gracilicutes</i>	Vigne	OEPP absent	Observation des vaisseaux sur des sections transversales des pétioles ; greffes sur plantes indicatrices ; ELISA. Anticorps fluorescents.
<i>Xylophilus ampelinus</i> : Nécrose bactérienne de la Vigne.	<i>Gracilicutes</i>	Vigne	Espagne- France- Grèce- Italie- Turquie- Tunisie	Immunofluorescence dans les filtrats de feuilles infectées ou dans des homogénats de tissus ligneux.

2 Virologie végétale

2.1 Histoire de la virologie végétale

Le 12 Février 1892, Dimitri Iwanowski, un botaniste russe a soumis un article à l'académie des sciences de St Petersburg dans laquelle il a démontré qu'un extrait de plant de tabac peut transmettre une maladie à un autre plant sain après le passage de l'extrait à travers un très fine filtre à céramique suffisant de retenir des petits particules pathogènes telles que les bactéries. Cet article est considéré comme le début de la virologie végétale. La première étude concernant la structure et la réplication des virus impliquaient fréquemment le virus de la mosaïque du tabac (TMV). Ce virus, qui provoque une nécrose des feuilles du tabac. En 1935 le TMV a été cristallisé et observé entant qu'une protéine globulaire. Le TMV a été le premier virus à être observé sous microscope électronique et chez qui il a été démontré le rôle infectieux intrinsèque de l'ARN.

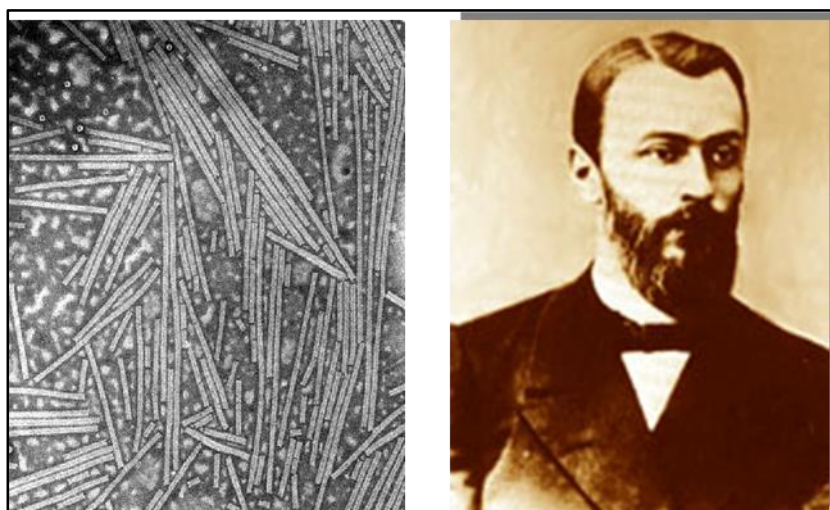


Figure 27 . Dimitri Iwanowski

Les maladies à virus des plantes sont la cause des pertes considérables de la production agricole mondiale : la Variole de la sharka des pêchers, prunier, abricotiers a ravagé, en 15 ans, l'ensemble des vergers méditerranéens, comme la tristezza, 20 ans en avant, détruit les agrumes d'Amérique du sud.

2.2 Les Virus des végétaux

L'impact des virus sur les plantes dans le monde est énorme, les pertes dues aux infections virales sont estimées à 70 milliards de dollars par an. Les cultures de tout type peuvent être atteintes. Une maladie, la tristezza, a rendu non productifs plus de 50 millions d'orangers. Des cultures annuelles comme le riz, l'orge et les cultures maraichères ont toutes affectées par des viroses avec un impact économique

significatif. De nombreuses espèces vivaces sont infectées de manière chronique. Une infection végétale se manifeste morphologiquement en général par des chloroses. La photosynthèse, la respiration, la nutrition et régulation hormonale de la croissance peuvent toute être atteintes.

Les virus occasionnent chez les plantes des maladies persistantes, le végétal, une fois contaminé, l'est pour le restant de son existence. Chez l'homme, lorsque il est contaminé par un virus, de la fièvre par exemple (Influenza), après quelques jours, les symptômes commencent à disparaître, en effet, les corps animaux bénéficient de quatre mécanismes réactionnels efficaces :

- 1- Lorsque la température s'élève dans le corps malade, la réplication des souches communes des virus ralentit ou stoppe, ceci est dû essentiellement à la nature thermosensible des virus.
- 2- Le système immunitaire se déclenche il comprend des lymphocytes B qui libèrent dans le sang des anticorps spécifiques qui viendront bloquer les protéines virales.
- 3- Les lymphocytes T qui tuent les cellules infectées par les virus.
- 4- Les ARN interféron produites par les cellules induisant la production d'enzymes inhibiteurs de réplication virales.

Chez les plantes, les trois premières réactions n'existent pas, quant aux ARN l'interféron végétal, se sont des molécules similaires à ceux présentes chez les cellules animaux, mais leur efficacité est notoirement insuffisante pour contenir la progression des virus.

Les virus sont des entités infectieuses porteuses d'information génétique, intracellulaire stricte, obligatoire dont la pérennité dépend de leur capacité à se répliquer au sein d'une cellule hôte. Pour se multiplier doivent infecter des cellules végétales dont ils détournent le métabolisme en utilisant la machinerie cellulaire pour leur propre multiplication. Certains phytovirus peuvent se multiplier chez les insectes vecteurs.

Les maladies virales sont **persistantes** et **incurables**.

Persistance : Le végétale malade reste une source de virus toute sa vie et l'épidémie peut donc progresser lentement et inévitablement, sans risque de s'éteindre. Toutes les infections virales chez les plantes débutent par des symptômes accusés, surtout si les plantes sont inoculés à un stade précoce de leur développement, parfois les mécanismes réactionnels apparaissent et dans le cas où la souche est modérée la manifestation de la maladie devient moins violente, au cas contraire, l'action des interférons est modeste, dans les deux cas, l'agent infectieux persiste.

Incurabilité : Bien-que l'on possède effectivement de nombreux inhibiteurs de la réplication virale, leur toxicité pour la cellule les rend inutilisables.

Le virus est constitué essentiellement d'un acide nucléique (2-40%) qui peut être du ADN ou ARN (jamais les deux), circulaire ou linéaire protégé par une carapace constituée de protéines de capsid (60-95%). Chez quelques phytovirus, cette capsid peut contenir en outre des molécules d'une enzyme capable d'assurer la transcription de l'acide ribonucléique viral (ARN polymérase virale), tandis que dans de rares cas, elle est entourée d'une enveloppe lipidique (4 à 37%) (Fig.2).

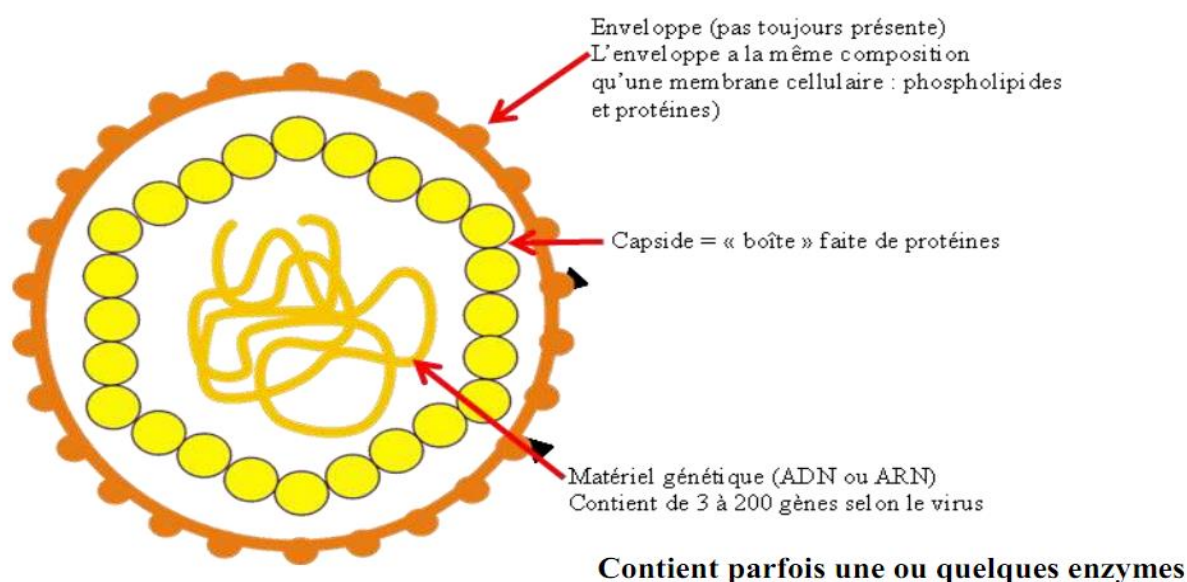


Figure 28. Structure d'une particule virale

2.2.1 Structure moléculaire des virus

La taille des génomes des phytovirus varie énormément en termes de nombre de nucléotides avec une capacité codante de 4 à 12 gènes. Les *Closteroviridae* possèdent le génome le plus large, par exemple le génome du *Citrus tristeza virus* CTV mesure ~19.3kb et porte 12 cadres de lecture codant pour 19 protéines. Le rôle de certains gènes reste peu connu.

Les virus n'ont pas d'autonomie : ce sont des parasites obligatoires. Ils se multiplient aux dépens de la plante qu'ils infectent et vont détourner à leur profit la machinerie cellulaire. La cellule va synthétiser les protéines et les acides nucléiques viraux nécessaires à la formation de nouvelles particules virales, au lieu de produire les molécules dont la plante a besoin en plus des corps d'inclusions. En quelques semaines, le virus va envahir l'ensemble de la plante et il y aura des quantités considérables (parfois des milliards...) de particules virales produites dans une plante infectée. Il existe plus de 1000 virus végétaux classés par l'ICTV. Ils peuvent être des virus à ADN double brin (Caulimovirus, ex : mosaïque du chou-fleur), à ADN simple brin (Geminivirus : ex : striure du maïs), à ARN double brin (Reovirus : ex : tumeurs des blessures), à ARN simple brin bidirectionnel (Rhabdoviridae, ex : jaunisse

nécrotique de la laitue), à ARN simple brin de sens positif en une partie (Tobamoviridae, ex : mosaïque du tabac), à ARN simple brin en deux parties (Comoviridae, ex : mosaïque du niébé) et à ARN simple brin en trois parties (Cucumoviridae, ex : mosaïque du concombre). Les virus végétaux codent pour peu de protéines, mais comme dans le cas de protéines des bactéries phytopathogènes, elles sont multifonctionnelles et la plupart de leurs interactions avec l'hôte provoquent des lésions, même ci-cela est en dehors des procédés de réplication.

Les virus des plantes présentent trois caractéristiques principales qu'il faut connaître pour bien comprendre leur biologie :

1. Les virus des plantes provoquent le plus souvent des maladies généralisées. Ils infectent presque tous les organes d'une plante : ils se multiplient aussi bien dans les racines que dans les tiges ou les feuilles. Seuls, certains massifs cellulaires en cours de différenciation, les méristèmes (que l'on trouve au cœur des bourgeons) peuvent être indemnes de virus (Fig.3).

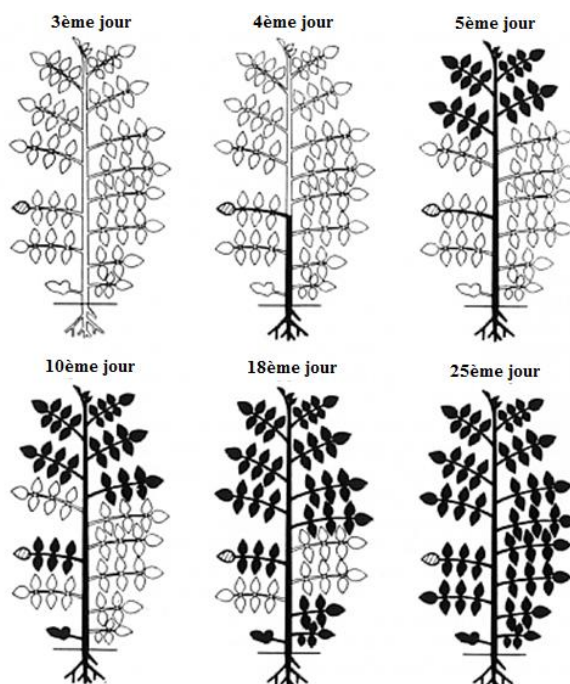


Figure 29. Démonstration de Samuel (1934) de la progression de l'infection du virus dans la plante à partir du site d'infection initial (Martelli, 2007)

Deux types d'infections virales sont connues chez les plantes : localisée et généralisée (ou systémique). Ceux-ci donnent lieu soit à des « lésions locales » chlorotiques ou nécrotiques, soit à symptômes diffusés sur toute la plante.

2. Les maladies à virus sont incurables au champ : une plante infectée par un virus le restera toute sa vie, qu'elle soit annuelle ou pérenne. En effet, les plantes ne disposent pas de système de défense

immunitaire : elles ne produisent pas d'anticorps qui permettent aux animaux supérieurs ou à l'Homme d'éliminer les virus qui les agressent.

3. Comme tous les autres virus, les virus des plantes sont des parasites obligatoires : ils ne peuvent se multiplier que dans des plantes ou des organes végétaux vivants. Les virus ne survivent généralement pas ou très peu de temps, en dehors des cellules vivantes. Ils ont donc absolument besoin d'un moyen pour passer des cellules d'une plante malade aux cellules d'une plante saine, sinon ils disparaîtraient à la mort des plantes qu'ils infectent.

2.2.2 Taille et forme de Virus

La taille et l'aspect des virus sont très variés, mais ils ont pour caractéristique commune d'avoir des dimensions extrêmement réduites : à quelques exceptions près, ils ne sont observables qu'au microscope électronique alors que les microorganismes de plus grande taille, telles les bactéries, sont visibles au microscope optique.

De nombreux virus ont une forme pseudo-sphérique très simple sans aucune symétrie, dont le diamètre varie entre 60 et 300 nanomètres (1 nm équivaut à $1/10^6$ mm). Les plus petits, dont la forme est icosaédrique (polygones à vingt côtés), mesurent entre 18 et 20 nm de large (voir figure 6). Les plus longs virus sont les virus en bâtonnet ou filamenteux, dont certains peuvent atteindre plusieurs microns (1 μm équivaut à $1/10^3$ mm) de longueur, mais mesurent généralement moins de 100 nm de large (Fig.3)

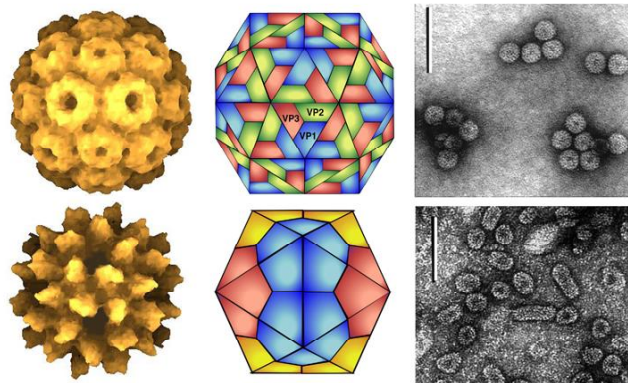


Figure 30. Différentes formes et structures des phytovirus

2.2.3 La réplication chez les phytovirus

La multiplication virale est un phénomène complexe au cours duquel le virus va détourner la machinerie cellulaire à son profit. En effet, du fait de leur simplicité extrême, les virus ne peuvent pas se multiplier, du moins se multiplier par eux-mêmes. Connaître et bien comprendre les différentes étapes du cycle de multiplication virale est un objectif majeur pour le développement de molécules antivirales. Certaines étapes sont spécifiques du virus et constitue une cible idéale pour une molécule antivirale. La multiplication d'un virus consiste en l'introduction du génome viral dans

une cellule et c'est elle qui va fabriquer de nouveaux virus selon un procédé de biosynthèse que l'on appelle réplication. La multiplication d'un virus comporte six étapes :

2.2.3.1 L'attachement :

La première étape est l'entrée en contact du virus et de la cellule. C'est l'attachement de la surface virale sur la surface cellulaire. Cet attachement se fait par une structure de la capsid pour les virus nus, par des glycoprotéines d'enveloppe pour les virus enveloppés. Ces protéines ou glycoprotéines s'attachent à des récepteurs situés sur la membrane cytoplasmique de la cellule hôte. Ce besoin de récepteurs cellulaires de la membrane cytoplasmique pour les virus explique qu'un virus donné ne peut infecter qu'un nombre restreint d'espèces. La sensibilité d'une cellule pour un virus définit sa capacité à pouvoir être infectée par un virus donné. L'ensemble des cellules sensibles à un virus définit son spectre d'hôtes.

2.2.3.2 La pénétration

On distingue trois mécanismes permettant l'entrée du virus à l'intérieur de la cellule, le plus souvent par micro-phagocytose pour les virus nus et, pour les virus enveloppés, par fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cytoplasmique en une membrane unique, fusion suivie de lyse, par formation d'un pore (trou) qui s'élargit et laisse passer la capsid dans le cytoplasme. Un troisième mécanisme associe l'endocytose et la fusion.

2.2.3.3 La décapsidation

Les structures virales vont ensuite être dégradées, à l'exception du génome qui, débarrassé de la capsid, se trouve libéré. Il est nécessaire que la capsid soit détruite pour que le génome, décortiqué, puisse fonctionner, livrer son information génétique à la machinerie cellulaire. En général cette étape se fait à l'aide de l'enzyme décapsidases cellulaires. Après ces étapes d'initiation de l'infection prend place la phase de réplication et d'expression du génome viral.

2.2.3.4 La réplication

Le génome viral doit être transcrit, traduit et répliqué. Pour cela, le génome viral libéré prend la direction des synthèses, dans la cellule. Il se substitue en totalité ou en partie au génome cellulaire qui jusqu'alors organisait les synthèses cellulaires. Désormais dirigée par le génome viral, la cellule va détourner la machinerie cellulaire au profit du virus et va ainsi produire des virus entraînant dans certains cas une inhibition des synthèses d'ARN et d'ADN cellulaires.

Plus précisément, la cellule va faire des copies, (répliques) du génome viral, des répliques de protéines virales, protéines de capsid et glycoprotéines d'enveloppe. La stratégie de multiplication est dépendante de la nature et de la structure du matériel génétique : ADN ou ARN, génome bi-

caténaire ou monocaténaire, segmenté ou non, circulaire ou linéaire. Selon le type de virus la réplication sera plus ou moins complexe.

2.2.3.5 L'assemblage et la maturation

Les nouveaux génomes fabriqués par la cellule s'entourent de nouvelles protéines virales fabriquées par la cellule. C'est l'encapsulation des génomes qui aboutit à la formation de nouveaux virus. Les mécanismes peuvent être simples avec auto-assemblage des protéines de capsid et encapsulation du génome. Ils peuvent être plus complexes avec l'intervention de protéines virales spécifiques.

2.2.3.6 La libération des virus

S'il y'a un domaine où les virus de plantes se démarquent radicalement des virus des animaux c'est celui qui concerne leur propagation au sein de l'hôte. En effet, à l'inverse des virus des animaux qui quittent la cellule infectée par bourgeonnement ou par lyse cellulaire puis recommencent à l'identique l'infection d'une nouvelle cellule, la présence d'une paroi rigide chez les cellules végétales constitue un obstacle à la sortie des phytovirus par ces mécanismes, ce qui les contraint à emprunter la voie des plasmodesmes.

Les plasmodesmes: est le canal traversant la paroi cellulaire des plantes, constituant les voies de passage de l'eau, des solutés, des phytohormones et des virus phytopathogènes qui se répandent à travers la plante (Fig.5).

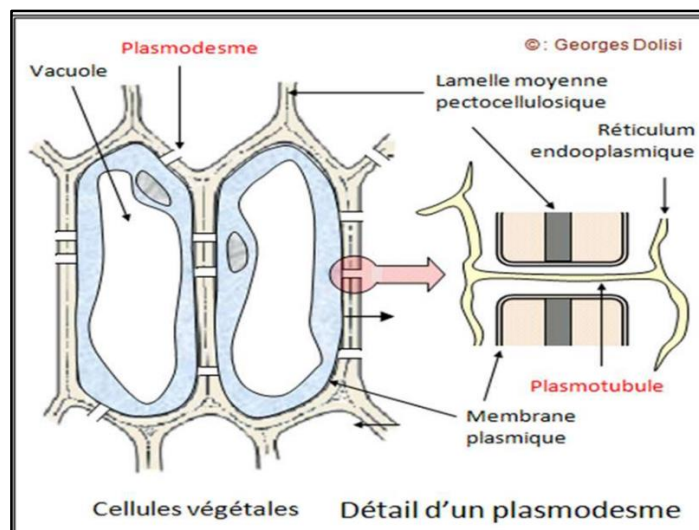


Figure 31. Les plasmodesmes

2.2.4 Mode d'infection des phytovirus

Le virus infectant pénètre dans la cellule par effraction. La nucléoprotéine virale appelé virion est désassemblé et libère son ARN génomique (ARNg). L'ARN polymérase virale est directement

traduit à partir de l'ARNg. En fait, cette enzyme transcrit des ARN messagers (ARNm), dont celui de la protéine de capsid, et synthétise de nouveaux ARNg. Ces derniers seront ensuite encapsidés, et les virions ainsi formés vont infecter d'autres cellules par passage trans-cellulaire et transport à longue distance, et éventuellement d'autres plantes (Fig.6).

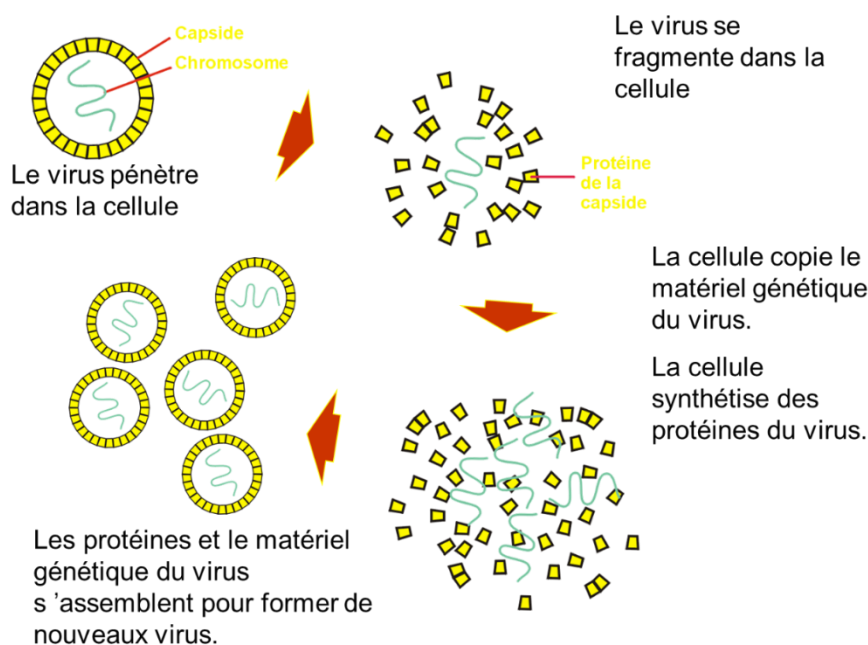


Figure 32. Processus infectieux des phytovirus

De nombreux phytovirus peuvent infecter de nombreuses plantes cultivées. Certains virus ont une gamme d'hôtes très restreinte ils infectent, en condition naturelles, qu'une seule ou un nombre limité d'espèces végétales apparentées c'est le cas de *Grapevine fanleaf virus* (GFLV), l'un des virus du court noué de la vigne ou le *Plum pox virus* PPV agent de la sharka sur le genre *Prunus*.

D'autres virus sont capables d'infecter de nombreuses espèces végétales c'est le cas de *Arabis mosaic virus* (ArMV), virus proche de GFLV, qui provoque des symptômes de court-noué chez la vigne et qui infecte d'autres espèces telles que la betterave.

2.2.5 La classification des phytovirus.

Plusieurs classifications peuvent exister selon les objectifs poursuivis. Les relations entre virus et leurs hôtes se manifestent par des symptomatologies différentes qui peuvent être les paramètres de classification choisi dans un objectif de diagnostic. La classification moléculaire des virus ne tient pas compte de la symptomatologie ou de la gamme d'hôtes du virus, mais elle se base sur les relations phylogénétiques (en fonction de l'organisation génomique des virus et des homologies de séquences rencontrées).

Au départ, la classification était basée sur les caractères morphologiques et biologiques (gamme d'hôtes, vecteur des virus...) puis elle a dévié vers une approche moléculaire (séquences génomiques et des protéines) avec les progrès de la génétique. Cette évolution a permis de définir des espèces ou des souches. Ces dernières peuvent avoir un pouvoir pathogène différent sur une plante donnée. Elles se distinguent par leurs effets pathologiques (symptômes, dégâts). Il existe donc des souches dites hypo-virulentes qui provoquent peu de dégâts et à l'inverse, des souches dites hyper-virulentes. Le système international de taxonomie virale est basé sur la structure et la composition de la particule virale. Dans certains cas, le mode de réplication est également utilisé comme critère de classification.

2.2.5.1.1 Taxonomie : QU'EST-CE QUE C'EST ?

La taxonomie est la science de la catégorisation. Il englobe la « classification », c'est-à-dire l'arrangement des entités biologiques en catégories taxonomiques (taxons) sur la base de similitudes et/ou de relations (phylogénie), tandis que la nomenclature est l'attribution de noms de taxons, selon les règles internationales.

2.2.5.2 La taxonomie des virus

Actuellement, la taxonomie des virus englobe un certain nombre de TAXA (catégories taxonomiques) qui ont différents niveaux hiérarchiques :

Les espèces sont les éléments constitutifs de la construction taxonomique. Le concept d'espèce virale a été défini par Van Regenmortel (1989)

Espèces de virus : La plus importante hiérarchie au niveau de classification, caractérisé par des propriétés qui le distinguent des autres espèces.

Genres du virus : regroupements d'espèces de virus qui partagent des caractéristiques communes et sont distinct des virus membres d'autres genres. Les noms de genre se terminent par –virus.

Familles de virus : regroupements de genres de virus qui partagent des caractéristiques communes et sont distinct des virus membres d'autres familles. Les noms de famille se terminent par : viridae.

Ordres de virus : regroupements de familles de virus qui partagent des caractéristiques communes et sont distinct des autres ordres et familles. Les noms des ordres se terminent par -virales. Il y a trois ordres actuellement reconnues.

2.2.5.3 L'écriture des noms des taxa

Les noms des taxa sont écrites en italique avec le première lettre en majuscule : *Mononegavirales* (ordre), *Tombuviridae* (famille), *Tobamovirus* (genre). Noms des espèces de virus sont en anglais mais sont écrits en italique ou en caractères de type romain, exemples : *Tobacco mosaic virus*, *Strawberry latent ringspot virus*, *Citrus tristeza virus*

2.2.5.4 Quelques propriétés des virus utilisés dans la taxonomie des virus

Morphologie (ADN/ARN, simple/double brin, segmenté/non segmenté, linéaire/circulaire...)

Propriétés physicochimiques et physiques

Structure du génome et stratégie de répllication

Relations phylogénétiques (résultats des alignements nucléotidiques)

Propriétés antigéniques (relations sérologiques)

Propriétés biologiques

Gamme d'hôtes

Épidémiologie (types de transmission)

Pathogénicité

Cytopathologie (corps d'inclusion)

Le comité international de taxonomie des virus ICTV, fondé en 1966 dont son principal rôle est l'établissement d'une taxonomie internationale consensuelle des virus et une nomination universelle des virus et les mises à jour périodiques, liste 1950 virus classée en trois (03) ordres, 76 familles et 287 genres. Les phytovirus sont groupés en un seul (01) ordre, 19 familles et 88 genres (Fig. 7).

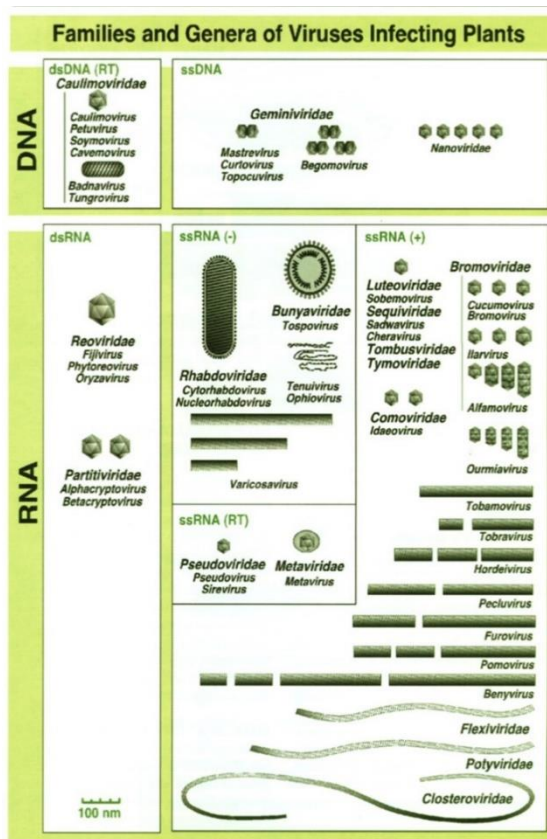


Figure 33. Genres et Familles des Phytovirus

2.2.6 Migration des virus dans la plante

Le déplacement des phytovirus dans la plante s'effectue principalement selon 2 modes :

a. De cellule à cellule : ou transport à courte distance qui est un mouvement lent (mm/jour) de la cellule infectée au tissu adjacent.

b. Systémique : à longue distance qui comparativement au précédent est un mouvement rapide (cm/hr), par les tissus vasculaires le virus envahit la plante vers les tissus en croissance, même sens que les produits de la photosynthèse.

Au cours de l'infection par les virus, ces 2 types de transport ont lieu. Ainsi, Atabekov et Taliansky (1990) relient et subdivisent ces 2 modes de transport du virus en 4 phases :

1. Migration à courte distance de cellule à cellule dans l'épiderme ou le parenchyme des feuilles inoculées.
2. Transfert du génome viral du parenchyme infecté vers les tissus conducteurs. Cette phase correspond à une étape de transition entre le mouvement du virus à courte distance et le mouvement à longue distance (Fig. 8).
3. Migration du virus à longue distance par les tissus conducteurs.
4. Passage du virus des vaisseaux conducteurs aux tissus parenchymateux, mouvement inverse de la phase 2.

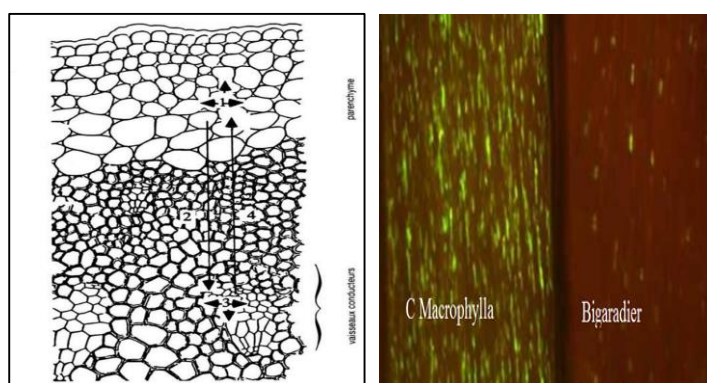


Figure 34. A gauche : 1) migration de cellule à cellule dans le parenchyme ; 2) Passage du virus du parenchyme aux vaisseaux conducteurs ; 3) Migration du virus dans les vaisseaux conducteurs 4) Passage du virus des vaisseaux au parenchyme. A droite : distribution des particules virales de CTV (visualisé par marqueur protéique vert fluorescent) dans les tissus du phloème de *Citrus macrophylla* et *Citrus aurantium*

À chacune de ces phases correspondrait une barrière que le virus doit surmonter. Ainsi, au cours de certaines interactions virus-plantes, ces barrières ne sont pas surmontées et le transport viral n'a pas lieu. Dans de telles situations, la plante est dite résistante à la migration du virus. Par ailleurs, d'autres virus restent confiné aux tissus vasculaires, principalement le phloème où ils sont introduits par les vecteurs.

2.2.7 La transmission des phytovirus

2.2.7.1 La transmission verticale

Elle correspond à la transmission du virus à la descendance d'une plante infectée. Elle est très fréquente chez les plantes à multiplication végétative (Fig. 8). Tous les organes de multiplications - boutures, greffons, tubercules, bulbes...- prélevés sur une plante- mère virosée (infectés). Ainsi, une pomme de terre infectée par le virus Y de la pomme de terre (Potato virus Y, PVY), produira des tubercules qui seront tous porteurs du PVY. Si ces tubercules sont plantés, ils donneront tous naissance à des plantes qui seront infectées par le PVY (Fig.9).

L'importance de cette transmission à la descendance a justifié la mise en place, chez de nombreuses espèces à multiplication végétative, de schémas de production de plants ou de semences certifiées sans virus.

Quelques rares virus de plantes pérennes peuvent être transmis par le pollen. Le pollen produit par une plante contaminée par un phytovirus pourra être disséminé par le vent ou par un insecte pollinisateur et venir féconder une fleur sur une plante saine. En germant, le grain de pollen transmettra le virus à la plante saine.

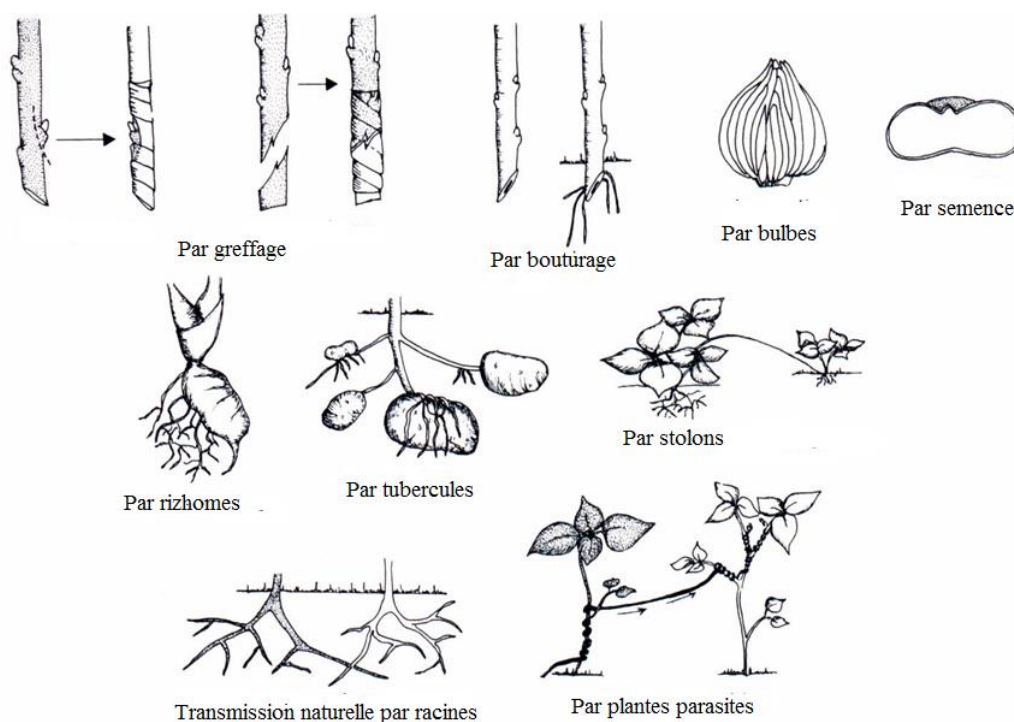


Figure 35. Les moyens de la transmission verticale

Dans la grande majorité des cas, les virus ne sont pas transmis par les graines : ainsi un melon infecté par le virus de la mosaïque du concombre (*Cucumber mosaic virus*, CMV) produira des graines qui

en germant, donneront naissance à des plantules qui seront toutes indemnes de CMV. Malheureusement, cette règle admet des exceptions et certains virus économiquement importants peuvent être transmis par la graine comme le virus de la mosaïque de la tomate (*Tomato mosaic virus*, ToMV) chez la tomate ou le virus de la mosaïque de la laitue (*Lettuce mosaic virus*, LMV) chez la laitue. Des efforts particuliers doivent être faits par les producteurs de graines pour garantir la qualité sanitaire des lots de semences commerciales.

2.2.7.2 La transmission horizontale

La plupart des virus végétaux dépendent d'un certain type d'agents qui leur permet de se disséminer dans l'environnement. Les animaux invertébrés sont les principaux agents tels que les pucerons (Homoptera : Aphididae), les cicadelles (Homoptera : Cicadellidae), les aleurodes (Homoptera : Aleurodidae), les cochenilles (Homoptera : Pseudococcidae), les thrips (Thysanoptera : thripidae) les acariens (Acari : Tetranychidae) et les nématodes. Certains virus peuvent se transmettre aux plantes hôtes par l'intermédiaire des champignons et du pollen. Sur les 1000 phytovirus décrits, environ 70% sont transmis par des arthropodes, nématodes et champignons, parmi ces derniers 78% sont transmis par les insectes piqueurs suceurs. Dans la plupart des cas, un virus n'est transmis que par un unique vecteur.

2.2.7.2.1 Transmission persistante des virus

En mode de transmission circulatoire, les particules virales sont acquies par les insectes vecteurs à partir des tubes de sève, qui se diffusent à travers l'hémocèle, puis transportés aux glandes salivaires, ensuite injectés avec la salive lors de l'alimentation sur une plante hôte. La transmission persistante des luteovirus implique généralement une relation symbiotique (bactérie-insecte), les symbiontes se localisent au niveau de cellules spécialisées chez les insectes, connues sous le nom de « Bactériocytes. Chez les pucerons par exemple, la symbionine, une protéine bactérienne sécrétée dans l'hémocèle par la bactérie *Buchnera aphidicola* (Sub-Division: Pro bacteria), dans la majorité des aphides elle forme un complexe avec la capsid de protéine mineure du virus, ce qui est déterminant dans la transmission du virus. La transmission persistante du virus de l'excroissance de veine CVEV (vein enation virus) via *A. gossypii* et *M. persicae* (Fig.10).

2.2.7.2.2 Transmission non/semi-persistante des virus

Durant le processus de transmission semi-persistant, des régurgitations répétées de l'insecte vecteur afin de tester la qualité de la sève où le virus entre en contact avec une surface large de l'appareil buccal du vecteur dont la valve et la pompe du stylet, permettant la dissémination de l'infection virale de l'insecte à la plante et vice-versa. La différence entre le mode non-persistant et le mode semi-persistant résident dans la durée de rétention au niveau du stylet du puceron.

Les virus non persistants : Ces virus ont une durée de vie très brève en dehors de la plante. Le repas d'acquisition est de très courte durée et il doit être inoculé très rapidement pour pouvoir se propager. Ils sont transmis par pucerons. Le terme de non-persistance du virus dans son vecteur a été défini selon différents critères quantitatifs : (i) le temps minimal d'acquisition par leur vecteur est réduit (quelques secondes à quelques minutes), (ii) il n'y a pas de phase de latence (c'est-à-dire que le vecteur peut transmettre le virus immédiatement après son acquisition), (iii) il n'y a pas de passage dans l'hémolymphe du vecteur, (iv) le virus est perdu lors de la mue de son vecteur et (v) la période de rétention du virus par son vecteur est courte (quelques minutes à quelques heures).

Les virus semi persistants : Ces virus ont une durée de vie plus longue en dehors de la plante (quelques heures), de plus pour pouvoir se propager le repas d'acquisition et le repas d'inoculation doit être plus long (quelques heures également). Ces virus sont souvent localisés dans les vaisseaux du phloème, le vecteur devrait donc effectuer une piqûre plus profonde pour les acquérir. Ce type de piqûre correspond à une phase d'alimentation plus longue que la phase de piqûre d'essai. Quoiqu'il en soit, ces critères de semi-persistance ne tiennent pas compte des mécanismes utilisés par le virus dans le vecteur. Certains de ces virus (à transmission semi-persistante) ont été localisés dans le tube digestif antérieur et appelés « virus du tube digestif antérieur » par opposition aux « virus de stylets » (à transmission non-persistante).

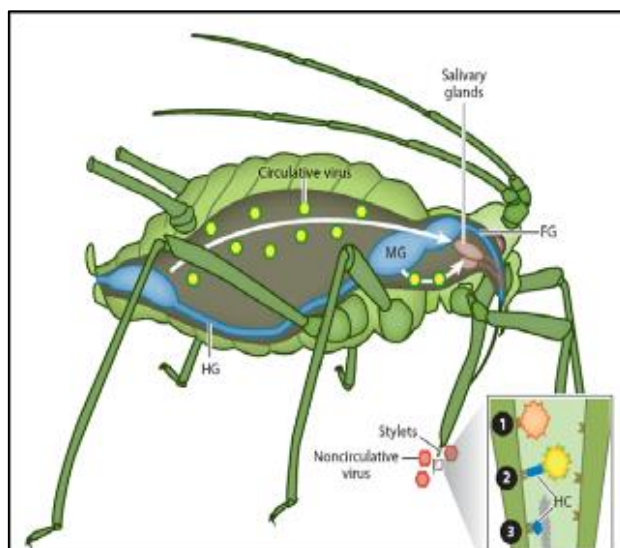


Figure 36. Le mode de transmission non circulatoire (non-persistante et semi-persistante) et le mode de transmission circulatoire (persistante) (Astier et al, 2001).

2.2.8 Importance des sources de virus.

Les sources de virus qui vont être à l'origine des épidémies dans une culture sont diverses. Il peut s'agir de plantes issues d'organes de multiplication végétative contaminés ou plus rarement de graines contaminées. Dans ce cas, dès le début de la culture, il y aura des plantes malades dans la parcelle. Il peut également s'agir de cultures voisines plus âgées ou de repousses, elles-mêmes contaminées. Ce peut être aussi des plantes sauvages que l'on appelle les 'hôtes alternatifs' ou 'plantes réservoirs' qui sont parfois fréquentes autour des cultures. Certaines de ces plantes peuvent survivre pendant l'hiver et permettre aux virus de se maintenir dans la nature, pendant les périodes où il n'y a pas de cultures en place. Le nombre des espèces réservoirs varie beaucoup d'un virus à l'autre, selon la capacité du virus à infecter des plantes appartenant à des familles différentes.

Le CMV est un virus capable d'infecter près de 1000 espèces végétales différentes, parmi lesquelles on compte des adventices comme le séneçon ou la stellaire, des cultures maraîchères d'hiver comme l'épinard ou la laitue, voire même des arbres fruitiers comme le bananier ou le cerisier. Il va sans dire que ce virus trouvera facilement des hôtes alternatifs dans la nature, et que les sources de virus seront abondantes, en début de culture. Le PRSV présente quant à lui, une gamme d'hôte très réduite, qui comprend surtout des cucurbitacées. Le virus aura alors beaucoup plus de difficultés à survivre pendant l'hiver dans les régions tempérées car il ne trouvera pas d'hôte alternatif. Les épidémies de PRSV seront beaucoup plus irrégulières, et dépendront de l'introduction du virus de régions plus méridionales où les cultures de cucurbitacées peuvent survivre pendant l'hiver.

D'une manière générale, la fréquence et la proximité des hôtes réservoirs conditionnera pour une bonne part la précocité des épidémies d'un virus. On comprend ainsi pourquoi des hivers très rigoureux, en détruisant des plantes adventices, réservoirs de virus ou de vecteurs, peuvent contribuer

à réduire l'importance des attaques virales la saison suivante. Beaucoup plus rarement, le vecteur lui-même peut permettre à un virus de se conserver d'une saison à l'autre : c'est le cas de certains virus transmis par champignons ou nématodes.

2.2.9 Différents symptômes des maladies virales

La multiplication des particules virales généralisée à l'ensemble de la plante provoque des perturbations métaboliques conduisant à l'expression de symptômes variés. Les symptômes provoqués chez les plantes peuvent varier, selon le virus, la variété ou l'espèce atteinte, l'environnement et l'état physiologique dans lequel se trouvent les plantes. De nombreux virus provoquent sur le feuillage des symptômes de mosaïque (Fig.11, à gauche), c'est à dire une coloration irrégulière bien visible au niveau des jeunes feuilles, parfois associée à des déformations (cloques, aspect filiforme ou gaufré, réduction de taille).



Figure 37. *Apple mosaic virus AMV*

Pear vein yellow virus PVYV

D'autres maladies virales provoquent des jaunissements du feuillage, souvent plus marqués sur les feuilles âgées. Enfin certains virus induisent des nécroses plus ou moins généralisées sur les feuilles, les fleurs, les fruits ou les tiges, (Fig.12, à droite) ; ces nécroses entraînent parfois un dépérissement de la plante (Fig.13). D'une manière générale, les maladies virales réduisent la croissance et donc le potentiel global de production d'une plante, mais dans le cas des fruits et des légumes elles peuvent aussi altérer l'aspect et donc la qualité commerciale de la récolte.



Figure 38. *Plum pox virus* (Sharka)

Prunus necrotic ringspot virus (haut à droite)

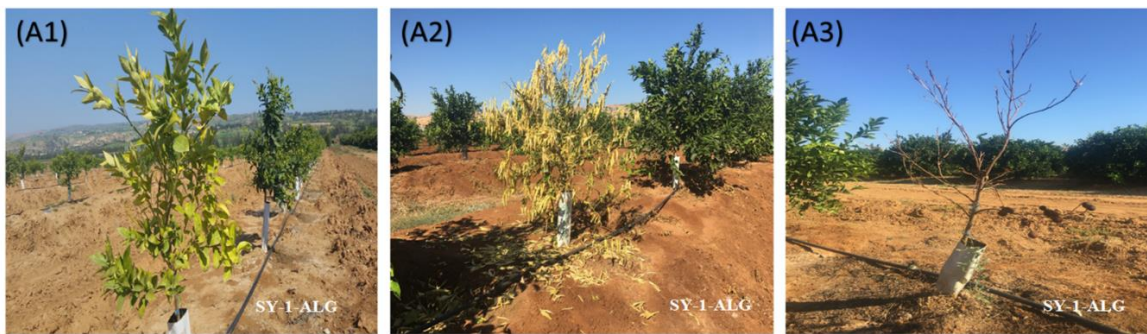


Figure 39. Évolution de la maladie sur un plant infecté par *Citrus tristeza virus* CTV (souche virulente)



Figure 40. L'enroulement de la vigne (GLRV) Virus Y sur feuilles de pomme de terre

2.2.10 Les viroïdes

Les viroïdes sont de petites molécules d'ARN simple brin dépourvues de capsid (le plus petit pathogène connu). Il existe environ 25 viroïdes qui varient par leur séquence nucléotidique. Le premier à avoir été détecté et étudié en détail fut le viroïde des tubercules en fuseau de la pomme de terre (*Potato spindle tuber viroid* PSTVd), responsable de pertes significatives dans l'industrie de pomme de terre. Les viroïdes sont transmis mécaniquement à travers les outils de taille (sécateurs) et à travers le matériel végétal infecté. Les viroïdes sont des thermophiles, des températures entre 30-33°C sont optimales pour leur réplication.

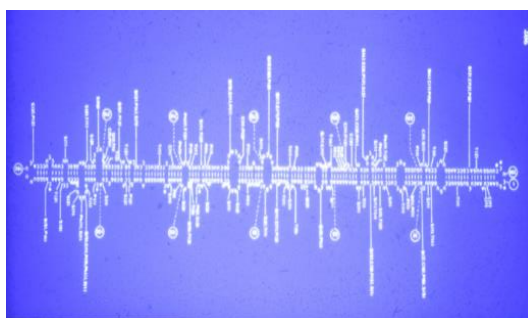


Figure 41. Viroïde de la filiosité des pommes de terre (*Potato spindle tuber viroid* PSTVd; genre Pospiviroid) = 359 nt

2.2.10.1 Principales maladies à viroïdes



Figure 42. Aspect fusiforme des tubercules de pomme terre causé par PSTVd



Viroïde de la mosaïque latente du pêcher
PLMVd



Figure 43. La cachexie (*Citrus cachexia viroid* CCVd) sur arbre de citronnier (en haut)
Le chancre pustuleux du poirier *Pear blister canker viroid* PBCVd (en bas)

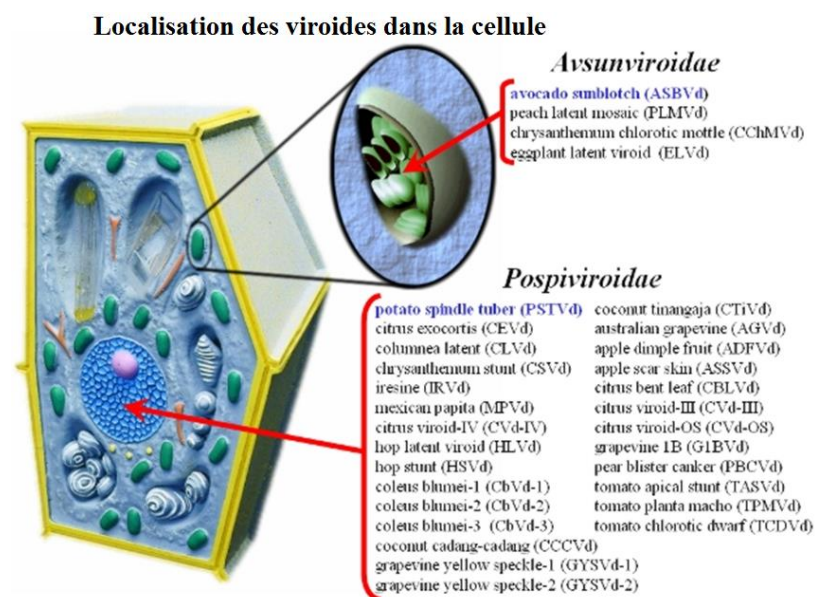


Figure 44. La localisation des différentes espèces de viroïdes dans la cellule hôte.

L'ARN des viroïdes se trouve en cercle fermé de façon covalente et sa taille varie de 246 à 3 347 nucléotides. L'ARN possède une structure secondaire et tertiaire complexe qui lui donne une forme de bâtonnet et une résistance aux nucléases. L'ARN ne possède pas un cadre de lecture caractéristique et donc n'agit pas tant qu'ARN messenger. Comment alors que cet ARN provoque une maladie reste inconnue. Il se réplique dans la cellule de plante hôte grâce aux enzymes cellulaires (ex : ARN polymérase II).

Il est noté que vu la nature thermophiles des viroïdes, et considérant que l'agriculture du sud prend de la place et vraisemblablement elle constituera la futur principale corbeille alimentaire des Algériens, les viroïdes profitant des conditions très favorables à leur multiplication vont constituer une menace sérieuse à plusieurs cultures annuelles et vivaces présentes dans ces nouvelles zones agricole. A ce propos, dans une récente étude a révélé la présence du *Citrus Bark Cracking Viroid* (CBCVd) et *Citrus Dwarfing Viroid* (CDVd) au sud de l'Egypte, associés au syndrome du bois strié et craquelure de l'écorce sur porte greffe *C. volkameriana*, qui est considérée comme maladie émergente et dominante dans cette région.

Tableau 3. Listes des virus, viroïdes et virus-similaires de quarantaine en Algérie

Pour les détails veuillez visiter le site : https://www.eppo.int/ACTIVITIES/quarantine_activities

Nom	Taxonomie	Plantes hôtes	Répartition (Région OEPP)	Méthodes de détection (NormesOEPP)
<i>Apple mosaic ilarvirus sur Rubus</i> (<i>Prunus necrotic ringspot</i> : ApMV.	Bromoviridae <i>ilarvirus</i>	Commun dans des cultures de Rosaceae, rarement chez les <i>Rubus</i> dans la région OEPP	Largement répandu	Inoculation mécanique de sève à des plantes indicatrices herbacées. Prélever des échantillons à tester en différentes parties de la plante. Le tampon d'extraction doit avoir un pH de 8-9 et contient un antioxydant.
<i>Arabid mosaic virus</i> ArMV, <i>Arabid mosaic</i>	Comoviridae <i>Nepovirus</i>	Fraisier, houblon, vitis spp, framboisier.	Allemagne, Belgique, Danemark, France, Italie, Suisse, Turquie.	Inoculation mécanique de sève à des plantes indicatrices herbacées qui réagissent par des lésions chlorotiques suivies de taches systémiques (<i>Chenopodium quinoa</i> et <i>Camaranticolor</i>). Test ELISA par des antisérums polyclonaux.
<i>Barley stripe mosaic hordeivirus</i> BSMV. <i>Barley stripe mosaic</i> .	<i>Hordeivirus</i>	Orge	Bulgarie- Danemark- Espagne- Grèce- Liban- Syrie- Tunisie.	Inoculation de sève brute des plantes malades à des espèces indicatrices; résultat en 10-14 jours après inoculation. Agglutination sur latex pour l'examen des semences; immunodiffusion double; diffusion simple; ELISA; Microscopie électronique; Coloration orange sur tissus végétaux en microscopie optique.
<i>Beet curly top hybrigeminivirus</i> (transmis par cicadelles: <i>Circulifer tenellus</i>): BCTV. <i>Curly top, yellows, green dwarf</i> .	Geminiviridae, <i>Hybrigeminivirus</i> .	Pomme de terre, tomate, betterave sucrière, autres.	Egypte-Espagne-Italie-Turquie-Canada-USA	Inoculation sur plantes indicatrices (<i>Nicotiana tabacum</i> cv. <i>White Burley</i>): un éclaircissement des nervures de se développe suivie d'un raccourcissement des entre nœuds d'où rabougrissement des plantes. Les plus jeunes feuilles sont naines et bombées extérieurement.
<i>Beet leaf curl rhabdovirus</i> BNYVV, <i>Rhizomania</i>	<i>Furovirus</i>	Betterave fourragère et sucrière	Allemagne -Turquie-Pologne	Il n'existe pas encore de méthode sérologique de détection du virus.
<i>Black raspberry latent ilarvirus</i> BRLV	Bromoviridae <i>ilarvirus</i>	<i>Rubus</i> spp	OEPP absent- Fréquent sur <i>Rubus</i> sauvage et cultivés du Canada et aux USA.	Inoculation mécanique de sève de <i>Rubus</i> à des plantes indicatrices. Prélever des échantillons en différentes parties de la plante. Le tampon d'extraction doit avoir un pH de 8-9 et contenir un antioxydant. Les tests sérologiques doivent inclure des antisérums spécifiques de différentes souches.

Cherry leafroll nepovirus sur <i>Rubus</i> : CLRV	Comoviridae Nepovirus	Se rencontre fréquemment sur des espèces ligneuses à travers toute l'Europe, la Russie et l'Amérique du Nord, mais pas les <i>Rubus</i> dans la région OEPP.	Quelques individus du Sud d'Angleterre non observé sur <i>Rubus idaeus</i> .	Tests sérologiques avec antisérums contre différentes souches du virus.
Cherry little cherry disease (andlines): petite cerise.	Incertain	Cerisier, les cerisiers d'ornement portent des infections latentes.	Allemagne- Belgique- Espagne- France- Italie- Suisse- Roumanie	inoculation de bourgeons sur des plantes indicatrices d'un an ou par double bourgeonnement. Sur une coupe transversale de pétiole en microscope UV, on observe des inclusions fluorescentes sur les parois des cellules du phloème après coloration à l'acridine orange
Cherry necrotic rusty mottle disease Mosaïque rouge nécrotique du cerisier	Incertain	Cerisier, cultivars Bing, Elton, Lambert, Napoléon, Sam, occasionnellement Windsor.	France- République- Tchèque- Royaume- Uni- Suisse	Tests sérologiques
Cherry rasp leaf nepovirus (transmis par le nématode <i>X. americanum</i>) CRLV. Feuilles râpeuses	Comoviridae Nepovirus	Cerisier, pêcher et pommier, porte-griffe <i>Prunus Mahaleb</i> et le framboisier y sont sensibles.	OEPP absent- Canada	inoculation de sève à des plantes indicatrices (<i>Chenopodium quinon</i> et <i>C. murale</i>). Test ELISA et test sur gélose par double diffusion (ne donne pas de résultats en fin de printemps et été car faible concentration de virus).
Citrus blight disease CiLV, Young tree decline	Inconnu	Citrus surtout pamplemoussier et orange	Turquie (non confirmé)- USA	Utilisation d'un anti-sérum des feuilles d'agrumes malades, mais les résultats restent à prouver.
Citrus leprosis rhabdovirus (transmis par les faux tetranyques): <i>Brevipalpus californicus</i> et <i>B. obovatus</i>). Léprose des agrumes CiLV.	Rhabdovirus non déterminé	Citrus surtout pamplemoussier et orange	OEPP absent- USA	Transmission mécanique à partir d'un extrait de tissu infecté, congelé dans l'azote liquide, avec un tampon tris ou phosphate contenant divers agents réducteurs, pour donner des lésions sur orange ou plantes indicatrices herbacées (ex: <i>Chenopodium amaranticolor</i>)
Citrus mosaic badnavirus CIMV	Badnavirus	Oranger, citronnier, fortune/la spp, andarinier	OEPP absent- Inde	Greffage sur cv. Mandarinier Darjeeling orange et pomelo; PCR et ISEM possibles.

Plum pox virus: PPV, Sharka, plum pox	Potyviridae Potyvirus	Prunus: abricotier pêcher, prunier, majorité des espèces sauvages et ornementales du genre <i>Prunus</i>	Egypte, Espagne, Grèce, Italie, Syrie, Turquie, Allemagne, localement en France	ELISA ; Immunofluorescence ; anticorps monoclonaux ; hybridation moléculaire basée sur des séquences d'acides nucléiques spécifiques complémentaires de l'ARN viral.
Raspberry leaf curl virus 'luteovirus' (transmis par <i>Aphis rubicola</i> et <i>A. rubifolii</i>): RLCV	Luteovirus	<i>Rubus spp</i>	OEPP absent- Canada- USA	Ce virus ne se transmet pas par inoculation de sève de <i>Rubus</i> sur plantes indicatrices. La transmission par puceron induit un enroulement des feuilles prononcées en 10 jours.
Raspberry ringspot nepovirus PRSV, taches annulaires du framboisier	Comoviridae, Népoviru	Framboisier, fraisier et cerisier	France- localement établi en Allemagne- Belgique- Espagne- Finlande- Grèce- Irlande	Tests sérologiques. Les cvs Haronova et Havana de <i>Nicotiana tabacum</i> réagissent par des anneaux nécrotiques systémiques et clairsemés.
Rose wilt				
Satsuma dwarf nepovirus SDV	Comoviridae Nepovirus	Majorité des espèces d'agrumes	Turquie	Le sésame blanc est la meilleure plante herbacée indicatrice et test ELIS avec des anticorps polyclonaux.
Strawberry crinkle cytorhabdovirus : SCrV, Strawberry crinkle	Rhabdoviridae Cytorhabdovirus	Fraisier	Allemagne, Belgique France, Italie, Portugal	Transmission par puceron ou par greffe sur plantes indicatrices sensibles : les cvs UC-4, UC-5, UC-6 de <i>Fragaria vesca</i> et <i>F. vesca var Semperflorens cv. Alpin</i> manifestent des symptômes typiques : lésions sur pétioles ou stries des pétales.
Strawberry latent C rhabdovirus	Rhabdoviridae	Fraisier	OEPP absent	Greffage sur clones indicateurs de <i>Fragaria vesca</i> ou <i>F. virginiana</i> .
Strawberry veinbanding caulimovirus SVBV	Caulimovirus	Fraisier	Localement établi en Hongrie- Irlande- non confirmé en Allemagne- Italie	Greffage sur clones indicateurs UC-6 de <i>Fragaria vesca</i> et UC-12 de <i>fragaria virginiana</i> ; Test ELISA
Tobacco ringspot nepovirus TRSV	Comoviridae Nepovirus	Soja, Tabac, Cucurbitacées, aubergine, cerisier, pommier, vigne	Bulgarie- Italie- Maroc, ailleurs non confirmé.	Test ELISA ; transmission à des plantes indicatrices : <i>Chenopodium amaranticolor</i> , <i>Lycopersicon esculentum</i> .

<i>Tomato black ring nepovirus</i> TBRV	Comoviridae Nepovirus	Vigne, arbres fruitiers, pomme de terre, nombreuses plantes potagères.	France- Allemagne- Finlande- Grèce- Hongrie- Irlande- Italie non confirmé	Inoculation de sève à de nombreuses plantes herbacées ; si le virus provient de plantes ligneuses, l'inoculation mécanique doit se faire dans une solution à 2 % (en volume) de sulfate de nicotine (pH 9,3). Test ELISA ou hybridation d'acides nucléiques.
<i>Tomato ringspot nepovirus</i> (Tobacco ringspot virus N°2, transmis par <i>Xiphinema americanum sensu lato</i>) TomRSV, Ringspot et mosaïc.	Comoviridae Nepovirus	Framboisier, vigne, tomate de plein champ, pêcher, pélagonium	Allemagne (rare)- Bulgarie- Italie (rare)- Turquie- Egypte- Grèce	Sur plantes indicatrices <i>Chenopodium amaranticolor</i> et <i>C. quinoa</i> se développent de petites lésions locales chlorotiques et une nécrose apicale systémique. Sur ligneux on utilise le Cerisier cv Elberta ou gr 305, <i>Prunus tomentosa</i> IR 473/1 ou IR 474/1. Test direct ou indirect, ISEM.

Virus et organismes similaires de la pomme de terre :

<i>Adrean potato latent tymovirus</i> APLV	Tymovirus	Pomme de terre	OEPP absent	Plantes indicatrices <i>Nicotiana bigelovii</i> qui montre des lésions locales, une mosaïque systémique et un masquage systémique des nervures; test d'agglutination du latex; test dot-ELISA sur membrane de nitrocellulose.
<i>Andrean Potato mottle comovirus</i> <i>Arracacha b virus (oca strin)</i> APMoV	Comoviridae Comovirus	Pomme de terre	OEPP absent	<i>Nicotiana bigelovii</i> montre une mosaïque caractérisé par des tâches verts sombres et des zones nécrotiques; test dot-ELISA sur membrane de nitrocellulose.
Isolats non européens de: <i>Potato A potyvirus</i> <i>Potato leaf roll luteovirus</i> <i>Potato M carlavirus</i> <i>Potato S carlavirus</i> <i>Potato X potexvirus</i>				
<i>Potato Y potyvirus (y compris Yo Yn Ye)</i> : PYV (Transmis par <i>Mysus persicae</i>)	Bromoviridae Alphavirus	Pomme de terre	OEPP absent	Le cole DTO 28 et cv. <i>Mariva</i> de <i>S.tuberosum</i> présente un jaunissement du feuillage, suivi plus tard par une nécrose et la mort de la plante; DAS-ELISA pour l'analyse des semences.
<i>Potato black ringspot nepovirus</i> PBRV	Comoviridae Nepovirus	Pomme de terre, Amaranthacées, Solanacées, Fabacées, Cucurbitacées	OEPP absent	Les plantes indicatrices <i>Chenopodium quinoa</i> et <i>C.amaranticolor</i> montrent des lésions nécrotiques locales puis une nécrose apicale systémique; <i>Nicotiana tabacum</i> présente des taches annulaires et des arabesques chlorotiques et nécrotiques, locales et systémiques; Test ELISA.
<i>Potato spindel tuber viroid</i> PSTVd, potato spindel tuber	Viroid	Pomme de terre, tomate et autres <i>Solanum spp</i>	Egypte- Pologne	Electrophorèse « aller-retour », test sur plantes indicatrices ou sondes d'acides nucléiques
<i>Potato T capillovirus</i> #PTV	Trichovirus	Pomme de terre, Chenopodiacees, Fabacées et Solanacées	OEPP absent	Test sur plante indicatrice <i>Chenopodium amaranticolor</i> ; Test ELISA
<i>Potato yellow vein disease</i> (transmis par <i>Trialeurodes vaporariorum</i>): potato yellow vein 'virus'	Incertain	Pomme de terre	OEPP absent	Transmission mécanique à <i>Datura stramonium</i> ; Pas de méthodes fiables

3 Diagnostic des maladies bactériennes et virales.

La détection précoce d'une maladie virale ou bactérienne permet de mettre en œuvre en temps utile une lutte adéquate. La détection et l'identification des virus font appel à différentes méthodes. Ces méthodes se caractérisent par leur spécificité et la sensibilité. On peut citer trois grands types de méthode de détection : la détection biologique qui se fonde sur les propriétés symptomatologiques, la détection sérologique qui cible la protéine de capsid par un anticorps ou des anticorps spécifiques et la détection moléculaire qui cible l'acide nucléique.

3.1.1.1 Le diagnostic visuel !

Les symptômes causés par les virus et viroïdes se manifestent sous variables formes alimentant souvent des situations de confusion, tandis que ceux dues à des bactéries sont aussi diverses et divisés en sept groupes comme nous les avons vus en haut.



Figure 45. Les deux feuilles de pomelo au centre manifestent des symptômes typiques de Citrus Greening CG, mais les tests moléculaires basés sur le 16S rRNA de confirmation sont indispensables.

Nous pouvons seulement faire une idée préliminaire sur la nature du dysfonctionnement chez la plante, avant de passer au laboratoire, dans ce dernier, une observation sous-microscope de micro-organismes dans les tissus atteints ne signifie pas encore une fois que se sont les pathogènes recherchés. L'isolement et la réalisation des étapes de diagnostic requises sont nécessaires.

3.1.1.2 Échantillonnage et isolement (*Eubactéries*)

Pour isolé une bactérie il est souvent recommandé de couper un morceau du tissu situé entre la partie malade et celle saine, la désinfecter avec le l'alcool 70% et la faire incubé dans du Phosphate buffer saline (PBS, pH 7.2). Le tissus et laisser 30 minutes durant laquelle les bactéries vont se diffuser dans la solution. Ensuite un volume 100-200µl de solution est prélevé et mis dans un milieu de culture solide préalablement préparé. Le milieu de culture est solidifié par Agar-Agar qui est un polysaccharide obtenu depuis les algues rouges.

Il faut toujours stériliser les milieux par autoclavage pendant 20 minutes sous 115 à 120 minutes. La

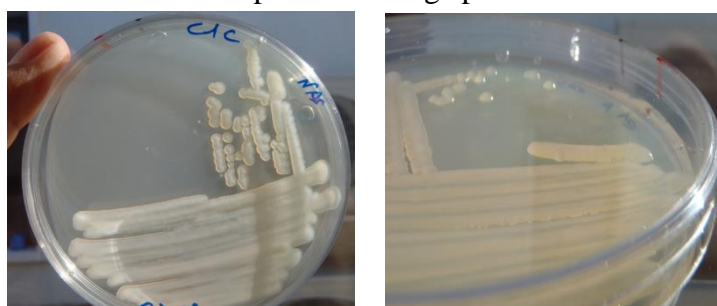


Figure 46. Colonies d'*Erwinia amylovora*

plupart des bactéries se développe bien dans une atmosphère oxygénée à 25-27°C. Après 2 à 5 jours d'incubation, des colonies séparées vont se former sur le milieu de culture. Chaque colonie est composée de millions de bactéries et manifestent des couleurs et formes typiques. Ensuite pour

L'identification plusieurs protocoles de tests biochimiques, morphologiques et physiologiques sont utilisés en fonction de l'agent recherché.

3.1.1.3 Le diagnostic biologique.

L'indexage ou le diagnostic biologique est une méthode non spécifique qui permet de détecter la présence du pathogène indépendamment du sérotype présent dans la plante testée. Elle est pour certaines viroses par exemple, la seule méthode de dépistage connue. Pour utiliser cette méthode, on procède à des inoculations mécaniques, en infectant les plantes tests par simple frottement avec du jus de plante infectée. Cette méthode ne peut s'appliquer en cas de maladie virales qu'aux virus transmissibles mécaniquement (virus de parenchyme), mais largement utilisé dans le cas de bactéries. Dans ce cas les plantes pourraient être ligneuses ou herbacées.

Pour identifier les virus de la vigne, des agrumes ou des rosacées à noyaux, on utilise des variétés indicatrices.

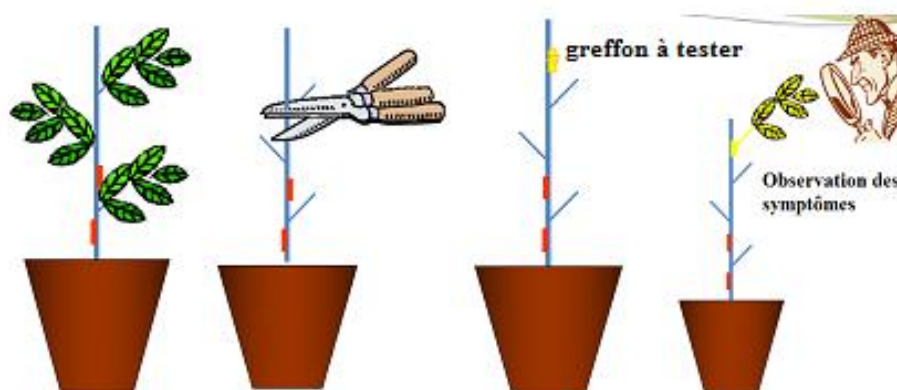


Figure 47. Étapes d'indexage

La variété indicatrice est utilisée comme porte-greffe et la plante à tester comme greffon (Fig.47). On rabat les feuilles du greffon et on laisse se développer les feuilles du porte-greffe indicateur. La variété utilisée dépend du virus recherché. Exemples : *Vitis rupestris* St George est utilisé pour diagnostiquer le *Grapevine rupestris stem pitting associated virus*(GRSPaV) et les népovirus européens dont le *Grapevine fanleaf virus* et *Arabis mosaic virus*. Alors que *Citrus sinensis* Var : Lime mexicaine est largement utilisé pour détecter le *Citrus tristeza virus* CTV.

3.1.1.4 Détection sérologique

Les méthodes sérologiques de détection sont largement utilisé de nos jours contre les phytopathogènes bactériens et virales vu leur sensibilité et efficacité, plusieurs virus phytopathogènes sont efficacement détectés grâce aux technique sérologiques tels que le CTV,

PNRSV, PDV, ApMV, Virus Y..., aussi plusieurs eubactéries et mollicutes phytopathogènes sont détectées par cette méthode telles que les spiroplasmes (*Spiroplasma citri*), FXLB comme *Xylella fastidiosa*, *Erwinia amylovora*. Il est signalé que les viroïdes ne peuvent être détectés par sérologie vu qu'ils sont dépourvus de capsid.

Deux méthodes d'analyses sérologiques sont largement adoptées : le choix de la méthode adoptée n'est pas lié au principe puisque il est le même, mais il est associé surtout au coût et la taille de l'échantillon et à l'urgence de l'opération, à ce titre la DTBIA semble moins coûteuse et le test est plus rapide, alors la DAS-ELISA est plus sensible, mais plus lente et parfois coûteuse. La DTBIA offre un avantage précieux, qui est la possibilité de garder les membranes empreintées une période relativement longue avant leur développement pendant ce temps on peut les transporter ou même les utiliser pour d'autres fins comme extraire les acides nucléiques pour une éventuelle PCR.

3.1.1.4.1 Test d'immunofluorescence directe ou DTBIA (Direct Tissue Blot Immuno Assay)



Figure 48. Schéma des différentes étapes de l'analyse sérologique DTBIA

a) Empreintes sur membranes

Les surfaces lisses finement taillées des pétioles foliaires, des rameaux issus des pousses et pédoncules des fleurs du végétal (organe choisi en fonction du virus/bactérie recherché, stade phénologique du plant ...) à tester sont pressés soigneusement sur une membrane de nitrocellulose.

Chaque carré sur la membrane contenant les empreintes d'un échantillon représente un sujet. Ensuite les membranes sont séchées pendant 30 à 40 min puis conservées ou développées.

b) Fixation de la membrane

Les membranes et leurs empreintes de tissus sont placées dans un récipient approprié (conteneur hermétique), puis recouvert avec une solution d'albumine sérique bovine à 1 % (BSA) diluée dans de l'eau distillée et incubée. Il existe deux méthodes, l'incubation pendant 2 heures à température ambiante ou jusqu'au lendemain (environ 16 heures) à 4 °C. Une légère agitation pour favoriser cette étape, à l'issue de laquelle, la solution de BSA est éliminée avec la conservation des membranes dans le même récipient.

c) L'ajout des anticorps spécifiques conjugués à la phosphatase alcaline

Une solution de conjugué contenant les anticorps spécifiques virus phytopathogène recherché associé à la phosphatase alcaline est ajouté sur les membranes et le tout a été incubé pendant 2 à 3 heures à température ambiante sous agitation, avant d'être éliminé.

d) Lavage des membranes

Le rinçage des membranes est réalisé avec le tampon de lavage (PBS à pH 7,2-7,4 contenant 0,05 % de Tween20), avec agitation manuelle durant 5 min, suivi par élimination du tampon de lavage (l'opération de lavage est répétée deux fois).

e) Développement de la membrane

Une solution de développement contenant le substrat (comprimés Fast BCIP/NBT (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate/nitro bleu de tétrazolium), est versée sur les membranes, lesquelles sont incubées jusqu'à l'apparition d'une coloration pourpre-violet dans les témoins positifs (soit environ 10-15 min). La réaction est stoppée en lavant les membranes avec de l'eau du robinet. Les membranes sont ensuite étalées sur du papier absorbant pour séchage.

f) Lecture des membranes

Les différentes empreintes sur la membrane sont observées à l'aide d'une binoculaire de marque à faible grossissement de X10 à X20. La présence d'un précipité pourpre-violet dans la zone vasculaire du matériel végétal indique la présence de l'agent pathogène.

3.1.1.4.2 Test DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assay)

La DAS-ELISA est une méthode immunochimique qui met en œuvre successivement deux anticorps pour détecter des antigènes. Dans un premier temps, des anticorps sont déposés et se lient à la surface

d'une plaque de microtitration ; ils permettent la capture des antigènes recherchés. La présence des antigènes dans l'échantillon analysé est alors détectée grâce à ces anticorps secondaires spécifiques couplés à la phosphatase alcaline (EPPO, 2015). Au final, l'addition du substrat de l'enzyme (pNPP) provoque l'apparition d'un produit jaune qui absorbe à 450 nm, révélant la présence éventuelle des antigènes. Les analyses par la technique sérologique DAS-ELISA ont été réalisées suivant le protocole recommandé par l'organisation européenne et méditerranéenne de la protection des plantes (EPPO, 2015).

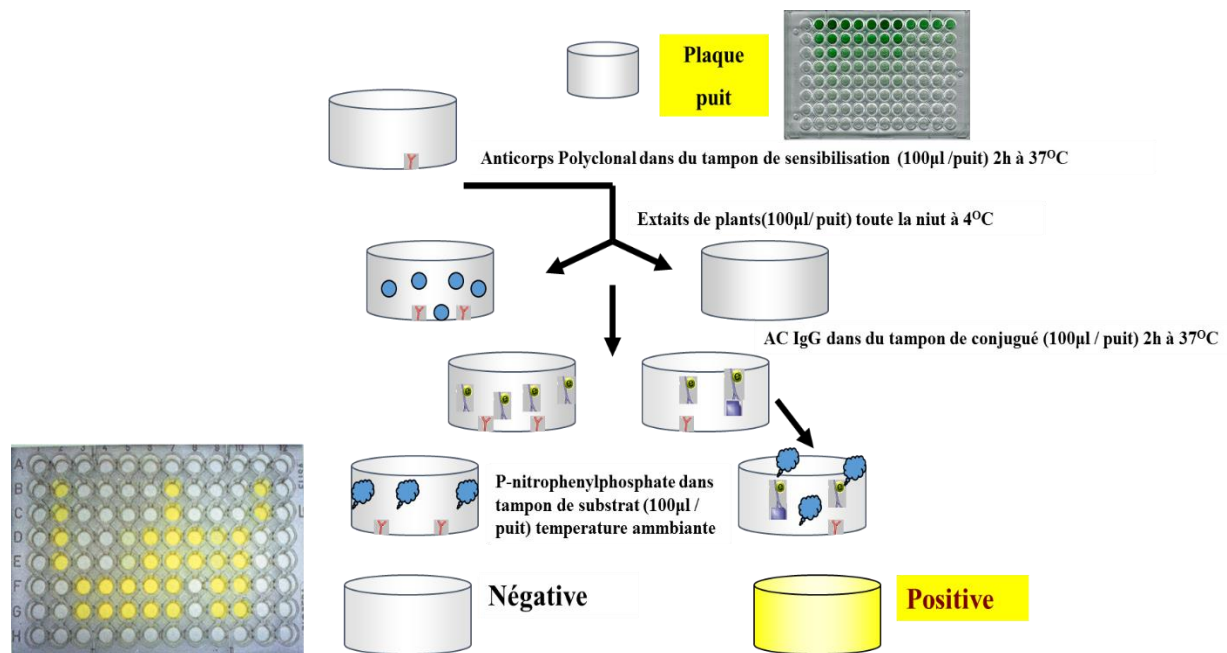


Figure 49. Schéma des étapes de l'analyse sérologique (DAS-ELISA)

a) Étape de sensibilisation

Après dilution des anticorps de sensibilisation dans un volume de tampon carbonate 1× à pH 9,6 (Na_2CO_3 , 1,59 g ; NaHCO_3 , 2,93g dans 1 litre d'eau distillée), 100 µl de dilution est versé dans chaque puits. La plaque est incubée pendant 2 h à 37 °C. Ensuite les puits sont lavés trois fois avec le tampon de lavage (PBS à pH 7,2-7,4 contenant 0,05 % de Tween 20).

b) Dépôt des échantillons (fixation des antigènes)

Une quantité de 0.5-1g de l'échantillon est broyée dans 5ml-10ml de tampon de broyage (10g de PVP, 0.5ml tween20 et 1L PBS.PH=7.3) dans un mortier, en écrasant bien à l'aide d'un pilon. puis 100 µl d'extrait végétal est ajouté dans chaque puits, suivi d'une incubation pendant 16 h à 4 °C. Les plaques sont lavées cinq fois comme précédemment.

c) Dépôt des anticorps conjugués à l'enzyme

Dans chaque puits, 100 µl de tampon contenant l'anticorps conjugué est ajouté, correspondant à environ 0,1 µg/ml dans du PBS contenant 0,5 % de BSA, mélangé aux anticorps spécifiques conjugués à la phosphatase alcaline, successivement. La plaque est incubée pendant de 2 à 3 heures à 37 °C.

d) Dépôt du substrat

Une solution de 1 mg/ml de phosphatase alcaline (p-nitrophénylphosphate) est préparée dans un tampon substrat correspondant à 97 ml de diéthanolamine dans 800 ml d'eau distillée ; le pH est ajusté à 9,8 en ajoutant de l'acide chlorohydrique HCl; 100µl de cette solution sont déposée dans chaque puits.

e) Lecture des plaques

Les plaques sont ensuite incubées à température ambiante en mesurant la densité optique (DO) des puits à 405 nm à intervalle régulier pendant 120 mn. Le test ELISA est jugé négatif si la DO moyenne de chaque puits de l'échantillon en duplicata est $< 0,1$ ou bien $< 2 \times$ la DO moyenne obtenue avec les témoins négatifs composés d'extraits de plantes saines. Le test ELISA est jugé positif si la DO moyenne de chaque puits de l'échantillon en duplicata est $\geq 2 \times$ la DO moyenne obtenue avec les témoins négatifs composés d'extraits de plantes saines.

NB. Pour certain phytovirus la TAS-ELISA (Triple Antibody sandwich-Enzyme linked immunosorbent Assay), dont le principe est le même sauf qu'on utilise deux anticorps de détection au lieu d'un seul).

3.1.1.4.3 Polymerase chain reaction PCR

Principe

C'est une technique qui permet de recopier en plusieurs exemplaires une séquence d'ADN. Le principe de la PCR consiste à utiliser, de manière répétitive, l'une des propriétés de l'ADN polymérase à synthétiser un brin complémentaire d'ADN qu'à partir d'une amorce.

Remarque: a l'exception des bactéries phytopathogènes, la grande partie de phytovirus et l'ensemble des viroïdes ont pour génome de l'ARN. Il est alors nécessaire de rajouter une étape préliminaire appelée la transcription réverse (synthèse d'ADN complémentaire) d'un fragment du génome viral avant de procéder à la réaction PCR. Cette transcription réverse peut se réaliser avec de courts oligomères de séquences aléatoires (hexamères aléatoires en général) ou bien parfois une paire d'amorces spécifiques, en plus de l'enzyme reverse transcriptase de type MMLV ou AMV. Aujourd'hui avec les larges épidémies de pathologies végétales et l'amplification des problèmes phytosanitaires dans le monde ainsi à cause de la croissance sans précédentes des échanges commerciaux entre les pays, il était nécessaire d'améliorer les outils de diagnostic et les accommoder à cette réalité, du coup la PCR à temps réelle est devenu l'outil le plus utilisé surtout

dans le cadre des enquêtes à grandes échelles, au opérations du contrôle aux frontières et au cours de s programmes de certifications. Le principe est le même que la PCR à point finale, sauf que au lieu de la visualisation du produit PCR via électrophorèse sur gel, des ondes (probes fluorescentes) sont utilisé est visualisé grâce à des lecteurs optiques. Cette technique permet des un grand nombre de tests durant un temps plus court avec des résultats très fiables.

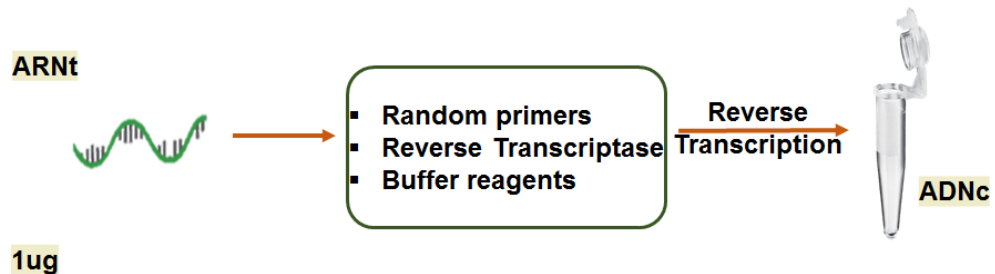


Figure 50. Étapes de la réverse transcription RT

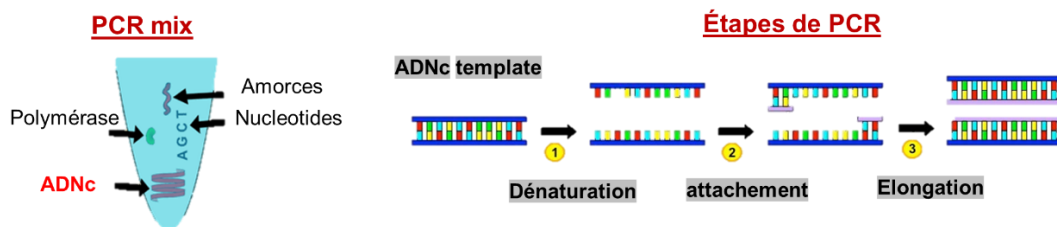


Figure 51. Étapes de la PCR (Polymérase Chain Reaction)

Concernant les bactéries phytopathogènes (eubactéries et mollicutes), les Séquences d'ARNr sont Hautement conservés, par conséquent la petite sous-unité de l'ARN ribosomique (16S) est largement utilisée comme marqueur moléculaire pour la détection et ainsi pour établir les relations évolutives entre différentes bactéries. Chez les bactéries incultivables tels que la plupart des Mollicutes ainsi que les Alphaproteobacteria et Gammaproteobacteria, la séquence 16S du ARN ribosomique est cruciale pour la détection et la caractérisation ses souches.

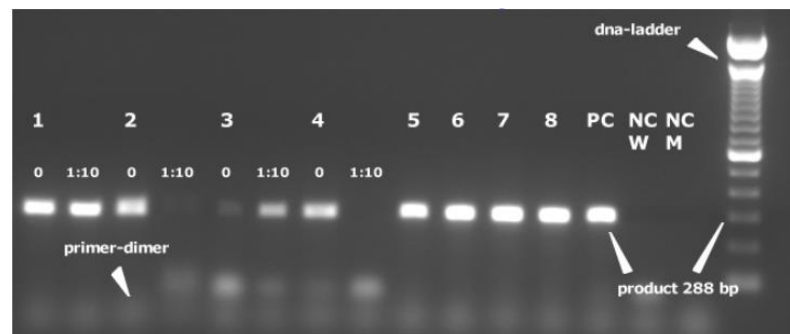


Figure 52. Résultat de l'amplification du marqueur moléculaire 16S rRNA de L'ADN de la bactérie phytopathpgène *Ralstonia solanacearun* générant un amplifiat de 288pb visualisé dans un gel d'agarose 2% (Janse, 2007).

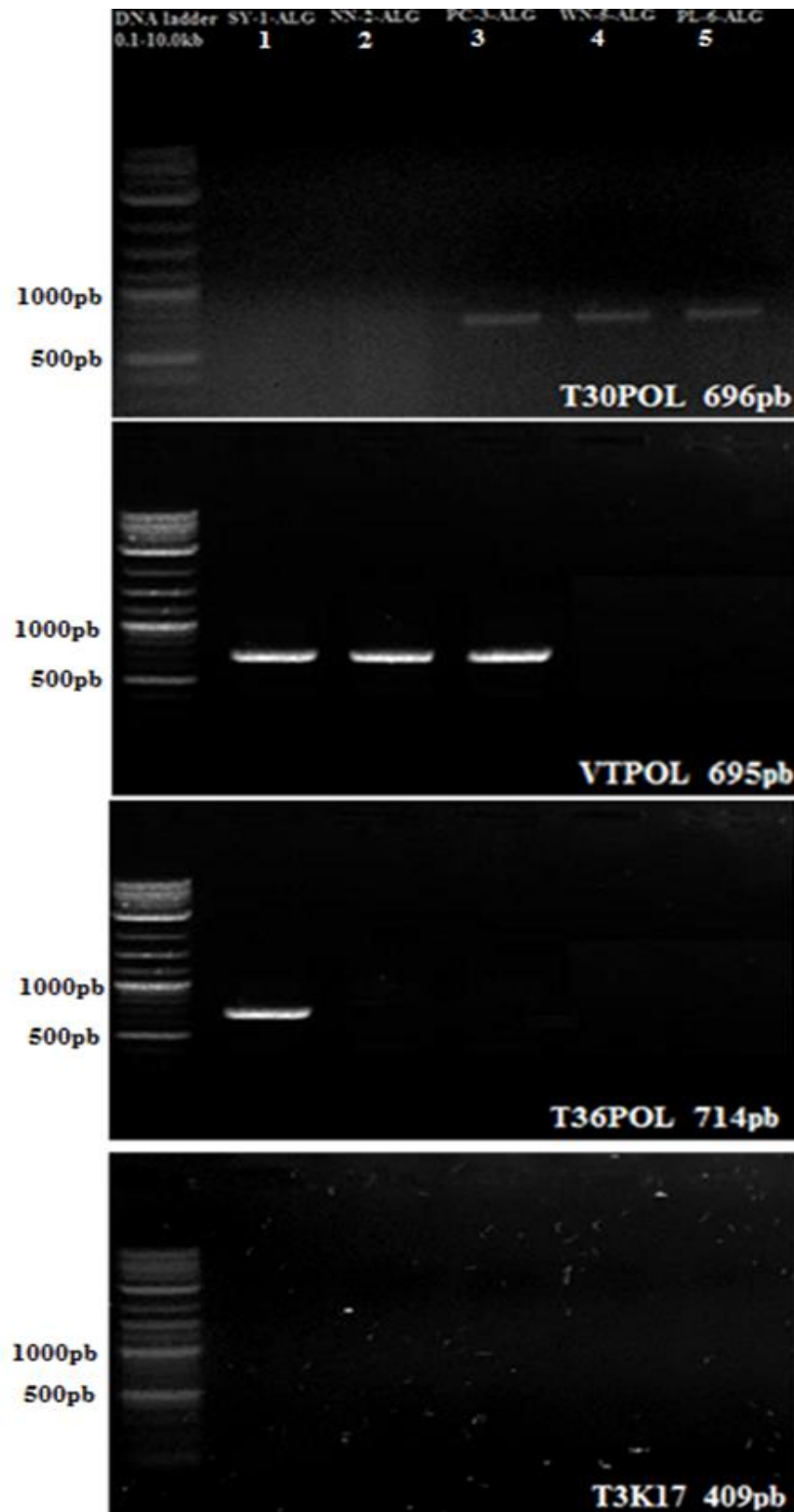


Figure 53. Amplifias spécifiques générés par les marqueurs moléculaires multiples M.M.M (T30POL, VTPOL, T36POL et T3K17) a partir les cinq sources de *Citrus tristeza virus* CTV agent causal de la maladie de tristeza, ligne 1 : SY-1-ALG, ligne 2 : NN-2-ALG, ligne 3 : PC-3-ALG, ligne 4 : WN-5-ALG, ligne 5 : PL-6-ALG. Ligne 1 : marqueur 2-Log DNA Ladder 0.1-10.0kb

4 Gestion des maladies virales et bactériennes

En absence de virucides ou bactéricides (à l'exception des antibiotiques), il n'y a pas de stratégie de contrôle standard contre les maladies virale ou bactérienne applicable à toutes les situations, par conséquent plusieurs approches ont été utilisées pour contrôler les pertes causées par les maladies causées par les viroses et les bactérioses. Chez les cultures annuelles, l'utilisation des graines saines, choix de la date de semis ou plantation, contribuent à réduire les infections. Pour les cultures pérennes, l'éradication d'arbres ou plants infectés est la juste mesure afin d'éviter ou retarder une épidémie si la maladie est de faible incidence et les arbres contaminés sont groupés en nombre limité. Si l'incidence est élevée, les mesures d'éradication peuvent offrir divers degrés de réussite. Si les arbres infectés dans les vergers peuvent être éliminés en nombre plus grand que l'initiation de nouvelles infections, le maintien de l'incidence à un seuil gérable est possible. Une fois le seuil augmente et dépasse le seuil de tolérance, la stratégie de d'éradication devient difficile à appliquer, en conséquence d'autre mesures s'imposent, sauf pour le cas de champs de culture annuelle tels que les cultures maraichères et céréalières ou l'éradication ou la destruction est un moyen efficace vu que les conséquences économiques sont limitées dans le temps. Pour les maladies à viroïdes, la désinfection des sécateurs lors des opérations de taille est indispensable afin de prévenir à propagation de l'inoculum primaire en cas de présence.

4.1.1.1 Exclusion et quarantaine

Quand une maladie virale (ex. CTV, PPV) ou causée par des mollicutes (Xyllela, HLB) est absente ou rare, des efforts préventifs devraient être faits afin d'éviter l'introduction de l'épidémie dans la zone de la culture par une mesure de quarantaine sur le matériel végétal vivant. La méthode la plus pratique est de limiter les importations aux zones connues indemnes du pathogène menaçant, ceci évitera aux agriculteurs le recours à des voies illégales d'introduction de nouvelles variétés, semences et germoplasmes.

4.1.1.2 Programmes de certification

La certification est devenue un outil très important pour l'amélioration de la qualité des plants utilisés, aussi bien du point de vue variétal que sanitaire. Le contrôle méticuleux du matériel de propagation reste l'unique meilleur moyen pour éviter l'extension rapide des épidémies de types virales et d'autres types de maladies (bactériennes).

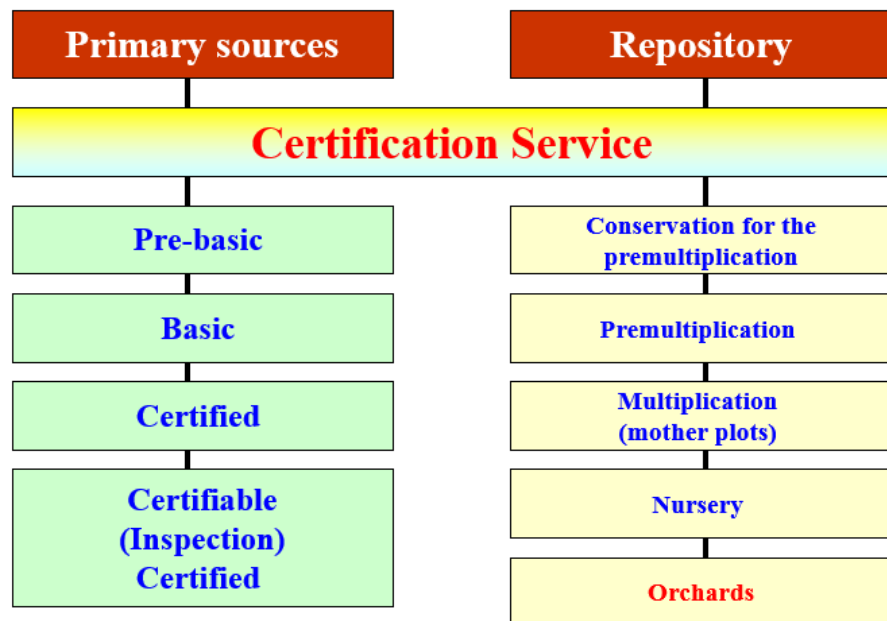


Figure 54. Étapes de production du matériel végétal de multiplication certifié (certification)

La plupart du matériel végétal est multiplié par l'utilisation de greffons ou semences à partir de variétés sélectionnées. Le bois ou semences de multiplication est obtenu généralement depuis des plants vigoureux est directement utilisé dans les pépinières pour produire le maximum de plants à partir d'une seule source. Donc la propagation du matériel végétal infecté peut être évitée par l'usage de plantes mères indemnes des maladies et protégées des infections naturelles par les serres d'isolation ou l'utilisation des cultures in vitro et micro greffage.

4.1.1.3 Éradication et suppression

Si quelques arbres ou plants seulement sont détectés contaminés par une maladie virale ou bactérienne dans une région indemne de cette maladie, et les espèces vecteurs locales ne sont pas considérées d'efficaces vecteurs, la dissémination naturelle peut être freinée par un programme d'éradication et de suppression. Néanmoins, une campagne de dépistage est cruciale, les arbres ou plants malades doivent être immédiatement éradiqués et la surveillance devrait être maintenue. L'éradication est rarement efficace quand la maladie est installée, spécialement en présence de vecteurs efficaces.

4.1.1.4 Tolérance des hôtes

Quand la stratégie d'éradication atteint ses limites, due à la dispersion rapide du virus à travers les vecteurs, la propagation du matériel végétal tolérants/résistants est la seule option viable pour gérer les viroses. Bien qu'un nombre de facteurs limitants rend compliqué le choix de combinaisons greffons/porte greffes résistantes ou tolérantes concernant les arbres fruitiers dans une zone contaminée par une maladie virale ou bactérienne donnée telles leurs réponses aux types de sols ou

encore vis-à-vis des maladies telluriques et d'autres maladies de dégénérescence. Alors que pour les cultures maraichères et céréalières ainsi qu'industrielles des efforts énormes en termes d'amélioration sont faites pour offrir des variétés hybrides résistantes aux maladies virales et bactériennes les plus redoutables.

4.1.1.5 Protection croisée

Pour les phytovirus des cultures pérennes, en cas de dissémination de souches sévères de virus, l'utilisation de la résistance spécifique au virus ou de variété protégée par croisement avec des souches atténuées appropriées est nécessaire. Cette approche a résolu le problème de souche SP du virus de la tristeza qui a causé la baisse de production et la réduction de calibre des fruits de variété économiquement importante en Brésil tel que l'oranger Pera et le pamplemoussier Marsh en Afrique de sud. Des isolats protecteurs sont souvent sélectionnés depuis les arbres de vergers de quelques cultivars qui ont vécu plusieurs années sans manifester de significatifs symptômes de la maladie.

4.1.1.6 L'amélioration génétique pour la résistance

Les croisements réalisés pour but d'incorporer des gènes de résistance chez les cultivars commerciaux est considéré comme la meilleure approche afin d'éviter des pertes causés par les pathogènes, mais différentes fonctions liées à la biologie des espèces, particulièrement leurs complexes biologiques, génétiques et de reproduction, ainsi que en cas des arbres leur grande taille des ont considérablement freiné l'amélioration génétique à travers les croisements conventionnels. Contrairement à cela, concernant les plantes annuelles des progrès énormes ont été réalisés.

4.1.1.7 Contrôle des vecteurs

Le contrôle des vecteurs devrait être l'une des composantes d'une stratégie de gestion intégrée et durable des maladies virales et bactériennes, puisque les virus et les bactéries sont transmis que par différent types de vecteurs qui colonisent les cultures (Fig.55). Les populations de vecteurs sont souvent trop variables pour fournir suffisamment d'ennemis naturels pour un contrôle efficace du vecteur. Les insecticides puissent ne pas agir assez rapidement pour prévenir l'infection primaire par les vecteurs infectieux, la réduction des populations des espèces vectrices diminuerait la propagation secondaire. L'efficacité du contrôle insecticide dépend de la longévité de la rémanence et l'efficacité de la molécule utilisée et de l'étendue de la zone traitée par rapport au réservoir d'inoculum et à l'activité migratoire du vecteur. Le contrôle insecticide des populations de vecteurs peut être utile dans la réduction des infections secondaire et dans des situations spécifiques, telles que dans les pépinières, aux parcs à bois et les champs de culture maraichères.

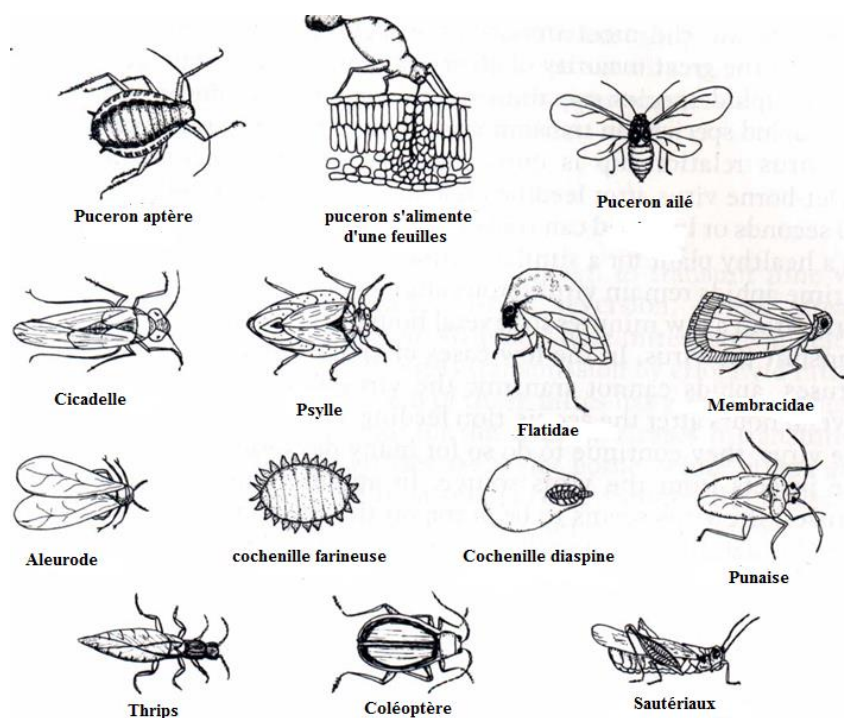


Figure 55. Insectes vecteurs de phytovirus, les espèces de la deuxième rangée transmettent aussi les mollicutes (Mycoplasmes, phytoplasmes et spiroplasmes)

Les insecticides systémiques résiduels avec un impact minimal sur les auxiliaires sont recommandés. La concentration des virus et bactéries est plus élevée au moment de la croissance végétative. Les populations des vecteurs atteignent aussi leur optimum en même moment, et par conséquent, ces périodes devraient être ciblées pour entamer des actions de lutte. En cas où les vecteurs sont des invertébrés du sol tels que les nématodes (par exemple *Xiphinema index* vectrice GFLV agent du court-noué de la vigne) la stratégie de lutte repose sur l'assolement (sol infecté en repos) pendant au moins 3 ans avant de planter de la vigne.

4.1.1.8 La vulgarisation et la formation

La sensibilisation est au cœur d'un programme de surveillance réussi, les activités de vulgarisation doivent être menées de manière intensive à tout moment de la surveillance, que la maladie soit présente ou non. Seule la vulgarisation peut progressivement sensibiliser les parties prenantes (agriculteurs, associations professionnelles, organismes publics, etc.) aux risques liés à la propagation des maladies virales et bactériennes ou n'importe quelle autre maladie de dégénérescence dans une région. En effet, il s'agit d'une véritable catastrophe naturelle qui peut balayer l'industrie d'une culture donnée dans un pays, et de graves répercussions socio-économiques, mettant également en danger les ressources paysagères d'un territoire.



Figure 56. Modèle d'une affiche de sensibilisation (la tristeza des agrumes)

Cette campagne d'information doit également être menée en mobilisant les experts techniques impliqués dans l'étude et le contrôle des phytopathogènes à effet irréversible, ainsi que par le biais de la communication (brochures, affiches, vidéos, publicités télévisées, cours, ateliers, sites Web, etc.). La formation des responsables de la surveillance et le diagnostic est fondamental pour le succès de toutes les opérations qui doivent être effectuées dans le respect des lois en vigueur, en temps utile et avec professionnalisme.

4.1.1.9 Les techniques de génie génétique

Ces techniques nouvelles ont permis de fabriquer des plantes qui montrent de la résistance naturelle aux infections virales et maladies apparentées. Des essais de transformer des plantes en lui ajoutant un gène de la protéine de la capsid du TMV, on l'a ensuite misent face au TMV virulent. La plante transgénique s'est montrée résistante à l'infection. Ce phénomène est appelé résistance induite par le pathogène vis-à-vis des maladies virales. Pourquoi et comment que ce phénomène fonctionne n'est pas clairement compris bien qu'en pratique la technique fasse le sujet d'une attention particulière par les phytopathologistes chercheurs.

5 Références

Agrios GN (2004) Plant pathology. 5ème edition. Elsevier Academic print, 948p

Ali Arous S, Guenaoui Y, Draï MI et Djelouah K (2019) First detection of a virulent strain of Citrus tristeza virus (Closteroviridae) in a citrus orchard of Chlef Valley (Algeria). Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 49 (2), 321-326.

Chouibani M, Ouizbouben A, Kaack H (2001) Protection intégrée en agrumiculture. Coopération Maroc-allemande, Projet contrôle phytosanitaire, DPVCTRF-GTZ. Maroc. 81p.

CIPV (2016) DP7 *Viroïde des tubercules fusiformes de la pomme de terre* (diagnosis protocols, International standard for phytosanitary measure 27). Rome. P32.

Cornuet P (1987) éléments de virologie végétale. INRA, Paris. 201 p

Dawson WO, Garnsey SM, Tatineni S, Folimonova SY, Harper SJ et Gowda S (2013). Citrus Tristeza virus-host interactions. Frontiers in microbiology 4, 88-98.

Digiario M. Control of fruit tree viruses: Certification. International Agronomic Mediterranean Institute of Bari. A.Y 2006-2007. Valenzano. Italy. 162p

Hammond, R. W., et Owens, R. A. 2006. Viroids: New and continuing risks for horticultural and agricultural crops. APSnet. St Paul, MN, American Phytopathological Society (APS). Document consultable à l'adresse suivante: <http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/Viroids.aspx> (dernière consultation: 15 Janvier 2022).

Hilf ME et Garnsey SM (2000) Characterization and classification of Citrus Tristeza virus isolates by amplification of multiple molecular markers. In: 14th Conf. Int. Organ., Riverside, CA. Citrus Virol, 18-27.

J Nicklin et al (2000) L'essentiel en microbiologie. Port Royales Livres. Berti Edition. Paris. 353p

Jaap D Janse. Introduction to phytobacteriology. International course. A.Y 2006-2007. International Agronomic Mediterranean Institute of Bari. A.Y 2006-2007. Valenzano. Italy. 106p

Martelli GP. Virus, virus like and control. International Agronomic Mediterranean Institute of Bari. A.Y 2006-2007. Valenzano. Italy. 27p

Meziane M. Cours de virologie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. A.A 2005-2006. Université de Chlef UHBC. 37p

OEPP (2022). Organisation européenne et méditerranéenne de la protection des plantes. Documents consultables à l'adresse suivante : https://www.eppo.int/ACTIVITIES/quarantine_activities. (dernière consultation : 15 Janvier 2022)

Osler R. Le virosi delle pomacee e la selezione fitosanitaria. International Agronomic Mediterranean Institute of Bari. A.Y 2006-2007. Valenzano. Italy. 238p.

Saponari M, Loconsole G, Potere O, Palmisano F et Boscia D (2014.)CNR-UNIBA. Current tools for detection of *Xyllela fastidiosa* in host plants and vectors. Workshop manual. Ed. Morelli M. CNR. Bari, Italy. 30p

Hanani A, Khater M, Draï MI et Djelouah K (2018) First report and molecular characterization of citrus dwarfing viroid (CDVd) and citrus bark cracking viroid (CBCVd) on Citrus volkameriana in Egypt. Journal of Plant Pathology. Società Italiana di Patologia Vegetale (S.I.Pa.V.) 2018. <https://doi.org/10.1007/s42161-018-0134-7>.

Mallet M. Guide de champ : Maladies et ravageurs de la pomme de terre en Algérie. Kouba. Alger. 2006, Syngenta Agro Services AG. 68p