

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
المدرسة العليا للعلوم الفلاحية الحراش - الجزائر  
Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) El-Harrach-Alger



## THESE DE DOCTORAT

En vue de l'obtention du Diplôme de

### Docteur en Sciences Agronomiques

**Département** : Botanique et Phytopathologie

**Spécialité** : Phytopathologie, Biotechnologie appliquée à la protection des végétaux

**Présenté et soutenu par :**

**Mme. EL FERRAN Ahlem**

### Thème

## CARACTERISATION DU *CITRUS EXOCORTIS VIROÏD* SUR AGRUMES EN ALGERIE

**Devant le Jury composé de :**

Mme. TELLAH.S	Professeur ENSA	Présidente
Mr. BAKLI. M	MCA SNV/Univ. Ghardaïa	Directeur de thèse
Mr. TOUMI. M	Professeur SNV/Univ. Alger 1	Examineur
Mme. BOUREGHDA. H	Professeur ENSA	Examinatrice
Mme. BOUZNADA. K	MCA ENS Kouba	Examinatrice

**Année universitaire : 2025-2026**

# TABLE DES MATIERES

AVANT PROPOS	
REMERCIEMENTS	
DEDICACES	
RESUME	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>CHAPITRE I : PRESENTATION DE LA PLANTE HÔTE</b>	
I.1 Historique .....	6
I.2 Agrumiculture : importance économique, atouts et contraintes.....	7
I.3 Agrumes : production, consommation et exportation .....	7
I.3.1 Dans le monde .....	7
I.3.2 En Algérie.....	9
I.4 Richesse et diversité génétique .....	10
I.5 Origine génétique et géographique des citrus cultivés.....	11
I.6 Classification des Agrumes.....	13
I.6.1 Classification des orangers ( <i>Citrus sinensis</i> ).....	14
I.6.2 Classification des mandariniers ( <i>Citrus reticulata</i> ).....	14
I.7 Progrès génétiques : Réalisations, atouts et contraintes.....	14
I.8 La croissance des agrumes : facteurs et milieu .....	15
I.8.1 Facteurs environnementaux.....	15
I.8.2 Facteurs biologiques.....	15
I.9 Stades phénologiques .....	16
I.10 Diversité biologique des porte-greffes conventionnels.....	17
I.11 Maladies des Agrumes transmises par greffage (suite chapitre I) .....	19
I.11.1 Gommose à Phytophthora.....	19
I.11.2 Stubborn.....	19
I.11.3 Huanglongbing.....	19
I.11.4 Chlorose variéguée .....	19
I.11.5 Mort subite des agrumes (MSA).....	20

I.11.6	Tristeza.....	20
I.11.7	Cachexie.....	20
I.11.8	Viroïdes des agrumes.....	20
<b>CHAPITRE II : PRESENTATION DE LA MALADIE DE L'EXOCORTIS</b>		
II.1	Maladies à viroïdes des agrumes.....	23
II.2	Généralités sur viroïdes.....	23
II.2.1	Notion sur la classification des Viroïdes .....	23
II.3	Exocortis (CEVd).....	25
II.4	Répartition Géographique de l'Exocortis.....	26
II.5	Incidence économique de l'Exocortis .....	26
II.6	La taxonomie et la phylogénie de l'agent pathogène de l'Exocortis .....	27
II.6.1	La particule du CEVd : .....	28
II.6.2	La réplication du CEVd.....	29
II.6.3	La symptomatologie de l'agent pathogène L'Exocortis .....	30
<b>CHAPITRE III : METHODES DE DETECTION DU CEVd</b>		
III.1	Méthodes biologiques .....	33
III.2	Méthodes physico-chimiques (Méthode d'électrophorèse PAGE pour la détection du CEVd) .....	33
III.3	Méthodes moléculaires.....	35
III.3.1	Hybridation moléculaire .....	35
III.3.2	Différentes techniques de Polymerase Chain Reaction(PCR).....	36
III.3.3	Séquençage haut débit (HTS) : .....	38
<b>CHAPITRE IV : LA LUTTE CONTRE LE CITRUS EXOCORTIS VIROÏD</b>		
IV.1	Méthodes de lutte contre le CEVd .....	40
IV.1.1	Utilisation de matériel sain certifié.....	40
IV.1.2	Prophylaxie .....	40
<b>DEUXIEME PARTIE : EXPERIMENTALE</b>		
<b>CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES</b>		
I.1	Lieu et durée de travail.....	45
I.2	Échantillonnage et zone d'étude .....	45
I.3	Prospection et Echantillonnage .....	47
I.4	Méthodes .....	50
I.4.1	La Caractérisation Biologique.....	50
I.4.2	Caractérisation Moléculaire.....	54

## **CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION**

II.1	Résultats de la prospection sur terrain .....	62
II.1.1	Résultat symptomatologique globale.....	64
II.1.2	Résultats de la symptomatologie par station d'étude.....	64
II.1.3	Discussion des résultats de symptomatologie Globale .....	69
II.2	Résultats du Diagnostic au laboratoire.....	70
II.2.1	Résultat de L'indexage .....	70
II.2.2	Résultats de l'inoculation mécanique : .....	74
II.2.3	Résultats du Diagnostic moléculaire du CEVD.....	82
II.2.4	Etude épidémiologique du développement du CEVd.....	84

## **CHAPITRE III : DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE**

III.1	Discussion générale.....	89
III.2	Conclusion générale .....	95
III.3	Perspectives.....	96
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIES .....</b>		<b>97</b>
<b>ANNEXES .....</b>		<b>97</b>
<b>PUBLICATION .....</b>		<b>97</b>

## RESUME

Cette étude caractérise le *Citrus exocortis viroid* (CEVd) dans les vergers algériens afin d'évaluer la prévalence de la maladie et de développer des stratégies de résistance par le remplacement des porte-greffes. Menée sur sept saisons culturales (2009-2016) dans la région de la Mitidja, la recherche a combiné des approches biologiques et moléculaires pour évaluer la distribution du CEVd et ses relations génétiques.

Des échantillons foliaires de multiples variétés d'agrumes ont été soumis à un indexage biologique sur indicateur Cédratier Etrog et à une inoculation mécanique sur une gamme d'hôtes herbacés et ligneux. Ces tests ont été réalisés sous conditions contrôlées de serre (32-34°C) au laboratoire de virologie de l'Université de Blida 1. La caractérisation moléculaire à l'INRA de Corse a utilisé la RT-PCR en une étape, la RT-PCR avec amorces aléatoires et la PCR quantitative en temps réel (qPCR) pour une détection complète du viroïde.

Les résultats de l'indexage ont démontré une prévalence globale du CEVd de 55,71%, avec une sensibilité variétale la plus élevée chez Thomson (40,60%), suivie des cultivars de citronnier et de Washington Navel. L'inoculation mécanique a révélé des taux d'infection de 33,80% chez les hôtes herbacés et 26,85% chez les hôtes ligneux. L'analyse moléculaire a confirmé la présence du CEVd dans 85,41% des échantillons par RT-PCR en une étape et 76% par qPCR. La caractérisation génétique indique une forte similarité entre les isolats algériens de CEVd et les souches de référence d'Espagne et de Corse.

Ces résultats établissent une prévalence significative du CEVd dans les zones de production agrumicole algérienne et fournissent des données essentielles pour la mise en œuvre de porte-greffes résistants et de pratiques de gestion durable.

**Mots clés :** Agrumes, Exocortis, Mitidja, Algérie, Indexage, PCR one step, PCR en temps réel, Cédratier Etrog.

## ملخص

كان الهدف من الدراسة حول توصيف فيروس الحمضيات إكزوكورتيز على أشجار الحمضيات في الجزائر هو مراقبة بساتين الحمضيات في منطقة المتيجة، وتحديد مدى انتشار فيروس *Citrus exocortis viroid* واقتراح طرق لتحسين المقاومة عن طريق تغيير الجذور الموجودة المعروفة بقابليتها للإصابة بفيروس *Citrus exocortis viroid*.

وقد تم تنفيذ هذا العمل على مدى 7 مواسم زراعية من 2009 إلى 2016، تم خلالها أخذ عينات من أوراق الحمضيات من جميع الأنواع من مختلف بساتين الحمضيات في منطقة متيجة. وقد تم إجراء التوصيف البيولوجي عن طريق الفهرسة والتلقيح الميكانيكي على الأنواع العشبية والخشبية في الدفيئة التابعة لمختبر علم الفيروسات، وهي وحدة بحثية تابعة لمختبر حماية وتطوير الموارد الزراعية الحيوية لقسم التكنولوجيا الحيوية في جامعة البليدة 1، في ظل ظروف النمو في درجة حرارة تتراوح بين 32 و34 درجة مئوية.

تم إجراء التوصيف الجزيئي في مختبر الفسيولوجيا البيئية في المعهد الوطني للبحث العلمي في كورسيكا. وشملت تحليل العينات الإيجابية للفهرسة باستخدام ثلاثة أنواع من الطرق: تفاعل البوليميراز المتسلسل أحادي الخطوة مع بادئات محددة و RT ، وتفاعل البوليميراز المتسلسل مع بادئات عشوائية، وأخيراً تفاعل البوليميراز المتسلسل في الوقت الحقيقي.

كشفت نتائج الفحص الفهرسي على Cédration Etrog عن معدل انتشار إجمالي بلغ 55.71% ومعدل انتشار لكل صنف بلغ 40.60% على طومسون، يليه الليمون وسرة واشنطن. أما فيما يتعلق بنتائج التلقيح الميكانيكي على مجموعة من العوائل العشبية والخشبية فقد كانت نسب الانتشار الكلي 33.80% و26.85% على التوالي.

فيما يتعلق بالفحص الجزيئي، تم تحليل العينات التي استجابت للفهرسة بشكل إيجابي فقط وكانت نسب الانتشار على النحو التالي 85.41% بالنسبة إلى تفاعل البوليميراز المتسلسل أحادي الخطوة و76% بالنسبة إلى تفاعل البوليميراز المتسلسل في الوقت الحقيقي؛ ووفقاً لتفاعل البوليميراز المتسلسل أحادي الخطوة فإن سلالة الـ CEVd لدينا تشبه إلى حد كبير تلك الموجودة في إسبانيا وكورسيكا.

**الكلمات المفتاحية:** الحمضيات، إكزوكورتيز، ميتيدجا، الجزائر، الفهرسة، تفاعل البوليميراز المتسلسل أحادي الخطوة، تفاعل البوليميراز المتسلسل في الوقت الحقيقي، سلالة Cédration Etrog.

## ABSTRACT

This study characterized *Citrus exocortis* viroid (CEVd) in Algerian citrus orchards to assess disease prevalence and develop resistance strategies through rootstock replacement. Conducted over seven growing seasons (2009-2016) in the Mitidja region, the research employed biological and molecular approaches to evaluate CEVd distribution and genetic relationships.

Leaf samples from multiple citrus varieties underwent biological indexing using Etrog citron indicator plants and mechanical inoculation on herbaceous and woody host ranges. These assays were performed under controlled greenhouse conditions (32-34°C) at Blida 1 University's virology facility. Molecular characterization at INRA Corsica utilized one-step RT-PCR, random primer RT-PCR, and quantitative real-time PCR (qPCR) for comprehensive viroid detection.

Indexing results demonstrated 55.71% overall CEVd prevalence, with varietal susceptibility highest in Thomson (40.60%), followed by lemon and Washington navel cultivars. Mechanical inoculation revealed infection rates of 33.80% in herbaceous hosts and 26.85% in woody hosts. Molecular analysis confirmed CEVd presence in 85.41% of samples using one-step RT-PCR and 76% using qPCR. Genetic characterization indicated high similarity between Algerian CEVd isolates and reference strains from Spain and Corsica.

These findings establish significant CEVd prevalence in Algerian citrus production areas and provide critical data for implementing resistant rootstocks and sustainable management practices.

**Keywords:** Citrus, Exocortis, Mitidja, Algeria, Indexing, one-step PCR, real-time PCR, Cédratier etrog.