



Université Sidi Mohamed Ben Abdellah

Facultés des sciences et techniques



Projet de fin d'Etude

Licence Sciences & Technique

Biotechnologie et Valorisation des Phyto-Ressources

***Xylella fastidiosa*, revue bibliographique et Analyse des échantillons
d'olivier à syndrome douteux dans la région Fès-Meknès et
l'oriental**

Présenté par :

MANHOU Meriem

Encadré par :

-Mr HAGGOUD Abdelatif

-Dr.ACHBANI EL Hassan

Soutenu le 11/06/2019:

Devant le jury composé de

- Dr.ACHBANI EL Hassan – INRA Meknès
- Pr. HAGGOUD Abdelatif – FST Fès
- Mme.AL FIGUIGUI Jamila – FST Fès

Année universitaire : 2018/2019

Dédicaces

Avec l'assistance d'**ALLAH**, nous avons réalisé ce modeste travail que nous dédions

À :

Mes parents

Pour tout le soutien qu'ils nous ont donné, leur confiance perpétuelle, leurs Motivations persistantes, leurs efforts illimités et leur présence et prières à tout Instant, nous leurs sollicitons le paradis.

Mes frères et Mes sœurs pour leur assistance et leur soutien, ainsi que **Mes Familles**.

Nos professeurs et nos encadrants pour leur potentiel qui nous a permis d'accomplir

Mes études et notre recherche.

Nos chers amis pour leurs encouragements.

Toutes les personnes qui nous ont aidées de près ou de loin.

Remerciements

Cette étude a pu être réalisée grâce aux soutiens et conseils de nombreuses personnes que je tiens ici à remercier tout particulièrement.

Tout d'abord, je remercie notre créateur, je ne saurais énumérer ses bienfaits sur nous.

Mes remerciements vont à Monsieur EL Hassan Achbani, Mon encadrant à l'INRA pour Ses valeureuses et pertinentes remarques et aussi pour son soutien et sa compréhension tout au long de la réalisation de ce travail, son attention et son énergie et cela, dans un cadre agréable de complicité et de respect, ainsi pour les conditions favorables qu'il nous a préparés pour le bon déroulement de notre projet.

Je tiens à remercier monsieur Haggoud Abdelatif mon encadrant à la FST Fès, pour son encadrement fructueux, ses conseils, sa collaboration, son aide pour réaliser ce projet durant toute la période de mon stage.

Je souhaiterais aussi adresser ma gratitude à Mme Al Figuigui Jamila, Professeur à la Faculté des Sciences et techniques de Fès, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Enfin, que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail trouvent l'expression de mes remerciements les plus chaleureux.

Liste des abréviations

% : Pourcentage

tn : Tonnes

Ha : Hectare

µl : Microlitre

FAO : Food and Agriculture Organization

USA : United State of America

COI : Conseil Oléicole International

FAOSTAT : Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database

EFSA : European Food Safety Authority

OEPP : Sigle Anglais pour Européen and Méditerranéenne pour la protection des plantes

T : Température

°C : Degré Celsius

ONSSA : Office Nationale de sécurité sanitaire des produits Alimentaires

UE : Union européenne

PCR : PCR Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérisation en chaîne

PH : potentiel hydrogène

DO : Densité optique

INRA : Institut National de la recherche agronomique

Liste des figures

Figure	Numéro de page
Figure 1 : Olivier à Kelaâ des Sraghna (Nord-Ouest du Maroc)	7
Figure 2 : Répartition des exportations mondiales pendant les années 2011-2016	9
Figure 3 : Evaluation de la superficie et de la production (tn) oléicole à l'échelle Mondiale 2013-2018	9
Figure 4 : Répartition de la superficie par région du Maroc (Interprolive, 2016)	10
Figure 5 : Maladies de l'olivier A : cochenille noir, B : verticilluose, C : l'œil de paon	11
Figure 6 : Dépérissement de l'olivier, région de pouilles, Italie, avril 2016	12
Figure 7 : Symptômes de la maladie de Pierce causée par <i>X. fastidiosa</i> sur l'olivier	17
Figure 8 : Biofilm de <i>Xylella</i> (jaune) dans un vaisseau de xylème de vigne (vert)	18
Figure 9 : Insectes vecteurs de la maladie de Pierce causée par <i>X. fastidiosa</i>	20
Figure 10 : <i>Philaenus spumarius</i> L., (Walwyn, 2008)	21
Figure 11 : Prospections des échantillons d'olivier	25
Figure 12 : Localisation géographique de 23 verges d'oliviers prospectés	25
Figure 13 : Méthodologie de travail	27
Figure 14 : Centrifugations des échantillons d'olivier pendant 15 min	28
Figure 15 : Dépôt des antigènes (anti-XF-IgG) dans les puits de la plaque de microtitration	29
Figure 16 : préparation de la sève des plantes	30
Figure 17 : Les maladies de l'olivier observés au cour de la prospection	32
Figure 18 Résultats de coloration des échantillons testés (photo personnel)	34

Liste des tableaux

Tableaux	Numéro du page
Tableau 1 : Classification taxonomique de <i>X.fastidiosa</i> (Wells et al 1987)	12
Tableau 2 : Distribution géographique de <i>X. fastidiosa</i> (OEPP, 2016)	14
Tableau 3 : Evaluation de probabilités d'entrée, d'établissement, et de dissémination de <i>X. fastidiosa</i> au Maroc. (ONSSA 2016)	23
Tableau 4 : Caractéristiques culturale des stations des oliviers observés	33
Tableau 5 : Résultat de la lecture des échantillons testés à 405nm	34
Tableau 6 : Evaluation de la détection de la bactérie en fonction de la DO	35

Résumé

Xylella.fastidiosa une des bactéries végétales les plus dangereuses au monde. Elle est responsable de plusieurs maladies sur plus de 300 plantes hôtes. En 2013, la bactérie *Xylella fastidiosa* a été détectée pour la première fois en Europe dans la région italienne des Pouilles. Cet agent pathogène bactérien décime les oliviers de la péninsule du Salento avec des conséquences économiques importantes. La bactérie est transmise par des insectes vecteurs se nourrissant de la sève brute de xylème (notamment cicadelles et cercopes, insectes piqueurs-suceurs du xylème), Compte tenu de la récente détection confirmée de *X. fastidiosa* dans l'Union Européenne, cette bactérie est en train de devenir une menace sérieuse pour le secteur agricole marocain. Une enquête a été menée le mois Mai 2019 sur la présence de *Xylella fastidiosa* dans les plantes d'olivier. Des symptômes sévères qui pourraient être associés à la bactérie ont été relevés. Un totale de 16 échantillons d'olivier de différent cultures à partir de différentes régions ont été collecté, dix échantillons ont été testés pour la présence de *Xylella fastidiosa* en utilisant un kit commercial ELISA .les résultats obtenus ne montrent aucun échantillon positif. Ces résultats préliminaires sont considérés comme une bonne première indication, étant donné que *X. fastidiosa* n'a pas été détectée au Maroc. Cependant, des enquêtes continues à grande échelle sont nécessaires pour empêcher son entrée dans le pays.

Mots-clés: Maroc, *Xylella fastidiosa*, insecte vecteur, enquête, Olivier, ELISA.

Abstract

X.fastidiosa one of the most dangerous plant bacteria in the world is responsible for several diseases on more than 300 host plants. In 2013, the bacterium *Xylella fastidiosa* was detected for the first time in Europe in the Italian Apulia region. This bacterial pathogen decimates the olive trees of the Salento peninsula with significant economic consequences. The bacterium is transmitted by insect vectors feeding on raw sap xylem (including leafhopper and spittlebug, biting insects-xylem suckers), Given the recent detection of confirmed *X. fastidiosa* in the European Union, this bacterium is in become a serious threat to the Moroccan agricultural sector. A survey was conducted in May 2019 on the presence of *Xylella fastidiosa* in olive plants. Severe symptoms that may be associated with the bacteria have been identified. A total of 16 olive samples from different cultures from different regions were collected, ten samples were tested for the presence of *Xylella fastidiosa* using a commercial ELISA kit. The results obtained showed no positive sample. These preliminary results are considered a good first indication, since *X. fastidiosa* has not been detected in Morocco. However, ongoing large-scale investigations are needed to prevent its entry into the country.

Keywords: Morocco, *Xylella fastidiosa*, vector insect, investigation, Olivier, ELISA

Sommaire

Introduction Générale.....	1
Chapitre I : Revue Bibliographique.....	6
I) L'olivier.....	7
<u>1-</u> Description de l'olivier.....	7
<u>2-</u> Taxonomie.....	7
<u>3-</u> Importance économique de l'olivier.....	8
3.1- Importance de l'olivier dans le monde.....	8
3.2- Importance d'olivier au Maroc.....	10
II) Les maladies biotique de l'olivier.....	10
III) Agent pathogène : <i>Xylella fastidiosa</i>	12
<u>1-</u> Description de la bactérie.....	12
<u>2-</u> Historique et répartition de la maladie.....	12
3.1 Historique.....	13
3.2 Répartition de la maladie.....	14
<u>3-</u> Caractéristiques de la bactérie.....	15
<u>4-</u> Transmission de <i>Xylella fastidiosa</i>	15
<u>5-</u> Plantes hôtes de <i>Xylella fastidiosa</i>	15
<u>6-</u> les symptômes.....	16
<u>7-</u> Cycle de la maladie.....	17
<u>8-</u> Les méthodes d'identification de <i>Xylella fastidiosa</i>	18
<u>9-</u> Les méthodes de lutte contre <i>Xylella fastidiosa</i>	18
III) Identification des vecteurs.....	20
<u>1-</u> Les insectes vecteurs infectés.....	20
<u>2-</u> Dégâts directs.....	21
<u>3-</u> Dégâts indirects.....	21
IV) Statut de <i>Xylella fastidiosa</i> au Maroc.....	21
V) L'Evaluation des probabilités d'entrée, d'établissement et de dissémination de <i>X. fastidiosa</i> au Maroc.....	22
Chapitre II: Matériel et Méthodes.....	24

1	Prospection et localisation des zones d'étude.....	25
1.1	Prospection	25
1.2	Localisations des échantillons prospectés	25
2	Matériel et outil de terrain	26
3	Acheminement des échantillons	26
4	Estimation de l'incidence des maladies d'olivier	26
5	Prélèvement des échantillons	26
6	Méthodologie de travail.....	26
6.1	Méthodologie d'échantillonnage	27
6.2	Méthode d'analyse.....	28
	Chapitre III : Résultats et Discussion	31
1.	Analyse des résultats	32
	Conclusion et perspectives	36
	Références Bibliographique	39
	Annexe	

Introduction générale

Les plantes constituent la majorité des ressources énergétiques dont dépendent l'Homme et les animaux. Malheureusement, lorsqu'une plante est atteinte d'une maladie, sa croissance, sa fertilité et sa productivité sont infectées. Des symptômes se développent et tout ou une partie de l'organisme peut mourir. Les agents responsables des maladies de plantes sont très similaires à ceux rencontrés chez l'Homme et les animaux.

Les maladies des plantes sont parfois regroupées par types de symptômes, par type d'organe, qu'elles infectent et par type de plante, mais le critère le plus utile reste la classification selon le pathogène responsable de la maladie [1].

L'olivier est parmi les plus anciens arbres fruitiers cultivés dans le bassin méditerranéen. Sa culture occupe une superficie d'environ 10 millions d'hectares avec une production moyenne de l'ordre de 16 millions de tonnes, dont 90% destinés à la Production de l'huile et 10% utilisés comme olives de table [2]. Ce dernier compte de nombreuses variétés ayant une diversité phénotypique et génétique importante. IL constitue une essence fruitière principale, tant Par le nombre de variétés cultivées que par l'importance sociale et économique de sa culture et de son rôle environnemental.

Le Maroc compte parmi les pays du bassin méditerranéen, ou l'olivier (*Olea Europe L*) trouve son air d'extension. Se classant au 6^{ème} rang mondial en superficie, cette culture a connu une extension rapide en passant de 350 000 (1992) à 640 000 Ha (2005) pour atteindre 930 000 Ha (2011) [3]. Elle constitue une alternative intéressante pour la reconversion de certaines cultures annuelles en pente, pour le développement de l'arboriculture face aux changements climatiques et au manque d'eau d'irrigation. Bien que le nombre de variétés d'olivier répertoriées au niveau mondial (1200 environ) soit élevé, 10% seulement de ces variétés sont cultivées commercialement dans des aires spécifiques [4].

Cependant, l'intensification de l'oléiculture pose un certain nombre de problèmes comme par exemple l'infection des arbres par des bactéries phytopathogènes entre autre le genre

Xylella fastidiosa, qui forme un large groupe de bactéries nuisibles, responsable de nombreuses maladies ayant des indices économiques extrêmement graves pour l'agriculture, les jardins public et l'environnement. *X.fastidiosa* est transmis et véhiculée par des insectes vecteurs se nourrissant de la sève brute du xylème et peut affecter plus de 560 espèces végétales [5] appartenant à 60 familles botaniques différentes (olivier, vigne, agrumes, luzerne, chêne, plantes horticoles, et forestières etc...les symptômes qui lui sont associés sont très variables. Ils vont d'infections asymptomatiques à la mort du végétal en fonction de l'espèce du végétal hôte, du niveau d'inoculum bactérien, de la sous-espèce concernée, voire des recombinaisons spécifiques au sein de la même sous-espèce ou entre sous-espèces, ainsi que des conditions climatiques [6] . A ce jour, six sous-espèces de *Xylella fastidiosa* ont été identifiées dans le monde : multiplex, pauca, fastidiosa, sandyi, morus, tashke. Chacune de ces sous-espèces présente un spectre de plantes hôtes spécifiques [7].

Aux États-Unis, la bactérie est connue comme l'agent de la maladie de Pierce qui a fortement touché les vignobles californiens à la fin du 19^{ème} siècle. Elle est également responsable de la chlorose variéguée des agrumes au Brésil depuis la fin des années 1980[2].

En 2013 en Europe La bactérie *Xylella fastidiosa* a été détectée pour la première fois en dans la région italienne des pouilles. La bactérie décime les oliviers (sous espèce pauca) de la péninsule du Salento et mine l'économie de la région qui est la première région oléicole d'Italie. détruisant presque de 200,000ha d'oliviers [8].

Le Maroc observe une vigilance accrue contre la bactérie *Xylella fastidiosa* qui représente un risque phytosanitaire très sérieux pour le secteur arboricole .Actuellement le Maroc n'est pas touché par cette bactérie mais il reste que dans un souci vigilance .En effet, *Xylella fastidiosa* dite bactérie tueuse des oliviers, est désormais une menace imminente pour les oliveraies marocaines [1'].

Actuellement, il n'existe pas de moyens curatifs pour lutter contre cette bactérie. La décision européenne, visant à empêcher l'introduction et la propagation de la bactérie sur le territoire, préconise l'arrachage et la destruction des plants contaminés [1''].

Notre objectif comme laboratoire de production des plantes à l'INRA était d'évaluer la situation phytosanitaire des plantes d'olivier qui présentent des symptômes proche de celles de *X. fastidiosa*. Pour tout raisons deux objectifs ont été proposés :

- 1- Prospections des échantillons d'olivier qui présentent les symptômes proche de celle de *X. fastidiosa*
- 2- L'utilisation du test ELISA pour la détection de la bactérie

Présentation de l'institut National de la Recherche Agronomique

Il s'agit d'une institution à profond ancrage historique qui développe une stratégie de recherche actualisée pour la production de technologies, connaissances et méthodes. Les recherches du centre accompagnent la mise en œuvre des plans régionaux adoptés dans le cadre du Plan Maroc Vert et en étroite collaboration avec le développement et la profession.



Le Centre Régional de la Recherche Agronomique (CRRRA) de Meknès ; couvre la zone d'action des Directions Provinciales d'Agriculture (DPA) de Boulemane, Elhajeb, Fès, Ifrane, Khénifra, Meknès, Taounate, Taza, El Hoceima et Séfrou.

❖ Unités de Recherche

Le CRRRA de Meknès est organisé en quatre unités de Recherches :

- Unité de Recherches d'Amélioration des Plantes et Conservation des Ressources Phyto-Génétiques (URAPCRP), au sein de laquelle nous avons effectué notre stage.
- Unité de Recherches d'Agronomie et Physiologie végétale (URAPV).
- Unité de Recherches de Gestion Durable des Ressources Naturelles et de Sociologie et d'Economie Rurales (URGDRNSER).
- Unité de Recherches de la Protection des Plantes (URPP).

❖ Activités de recherche

Le CRRRA de Meknès a 11 activités de recherches :

- La sélection de variétés performantes de différents fruits et plantes et optimisation des techniques culturales pour une production de qualité en conditions cultures pluviales.
- L'amélioration de la productivité des différentes espèces de plantes.
- La diversification fruitière et sélection pour le stress biotique.
- L'amélioration de la productivité et de la stabilité du système blé en régime pluvial.
- L'amélioration et l'efficacité d'utilisation des intrants chez les légumineuses à travers la sélection variétale et les techniques culturales.
- L'amélioration de la productivité et de la qualité des oléagineux annuels (carthame, colza et tournesol d'automne) par la mise au point de matériel végétal adapté.
- Le développement de stratégies de lutte Intégrée contre les maladies, les ravageurs des plantes adventices dans le système céréales / légumineuses alimentaires, par la recherche participative des agriculteurs.
- La promotion de la pomme de terre dans le Sais et le Moyen Atlas : sélection variétale et multiplication de semences.
- L'analyse socio-économique, des filières, des modèles d'agrégation, des systèmes de production et des moyennes d'existence des populations en zones de montagne.
- L'élaboration des cartes de vocation agricole et carte de fertilité du sol de la région de Meknès.
- La gestion durable et la valorisation de la biodiversité des PAM et du câprier au Sais et Moyen Atlas.

Chapitre I : Revue Bibliographique

I) olivier

1- Description d'olivier

L'olivier est un arbre cultivé pour son fruit, l'olive, qui donne une huile recherchée « L'huile d'olive », aussi les olives de table, sont des éléments importants de la diète méditerranéenne et sont consommées en grande quantité dans le Monde entier. C'est un arbre polymorphe, de taille moyenne. Très rameux, au tronc noueux, au bois dur et dense, à l'écorce brune crevassée, il peut atteindre quinze à vingt mètres de hauteur, et vivre plusieurs siècles. Il s'adapte aux conditions extrêmes de l'environnement, mais exige une intensité lumineuse importante et un sol aéré [9]

L'olivier appartient au genre *Olea*. Ce genre regroupe une trentaine d'espèces et sous-espèces dont *Olea europaea* (ou olivier méditerranéen) est la seule espèce cultivée. Il est multiplié essentiellement par voie végétative (bouturage ou greffage), alors que les formes sauvages se multiplient par voie sexuée (graines). Il est considéré comme une espèce caractéristique de la région méditerranéenne. Il est cultivé pour son fruit, l'olive, qui donne une huile recherchée pour ses bienfaits diététique [10]. Il est caractériser par des **feuilles** opposes, ovale allongée, c'est grâce à sa feuilles que l'olivier peut survivre en milieu aride. Ses fleurs sont blanches avec un calice, deux étamines, une corolle à quatre pétales ovales et un ovaire de forme arrondie qui porte un style assez épais et terminé par un stigmate.

2- Taxonomie

Selon Wallander et Albert (2000) et Green (2002), l'olivier appartient à :

Famille : Oleaceae

Classe : oleae

Sous- classe :oleinae

Genre : olea

Sous-genre : olea

Section : olea

Espèce : *Olea europaea* L



Figure 1 : olivier à Kelaâ des Sraghna (Nord-Ouest du Maroc)

3- Importance économique de l'olivier

L'olivier est une espèce qui occupe une place importante dans le bassin méditerranéen. Il est constitué depuis toujours un des piliers de l'économie agricole. Par les deux principaux produits dérivant de sa culture, le fruit et son huile, l'Olivier joue un rôle moteur en termes d'économie, d'emploi, et d'équilibre social et environnemental des régions méditerranéennes

3.1- Importance de l'olivier dans le monde

L'olivier a connu une extension progressive à travers le monde. Actuellement la culture de l'olivier s'étale sur une superficie de 9.984.919 hectares [11] dont 98% se sont situés dans le pourtour de la méditerranée ([12] ; [13] ;). La superficie moyenne plantée annuellement en oliviers a connu un accroissement de 29% entre la campagne 2008-2009 et la campagne 2014-2015 avec respectivement 772.780 ha et 998.000 ha.

L'olivier est présent sur six continents : Europe, Amérique du nord, Amérique du sud, Afrique, Asie, Océanie, mais c'est dans les pays méditerranéens que l'on trouve les principaux vergers d'oliviers : Espagne, Tunisie, Italie, Turquie, Grèce, Maroc, Syrie, Portugal [14].

Depuis les années 90, l'huile d'olive et l'olive de table sont consommées en quantités importantes à l'intérieur ou en dehors de leurs zones de production. Les consommations mondiales d'huile d'olive et d'olive de table progressent en suivant les mêmes rythmes et tendances que ceux de production [13].

Le groupe des principaux consommateurs est constitué des pays suivants : Union Européenne, U.S.A. Syrie, Turquie, Maroc, Algérie, Brésil, Japon, Australie, Canada et Tunisie. L'Union Européenne est le plus grand consommateur mondial avec une part de 66% [15]

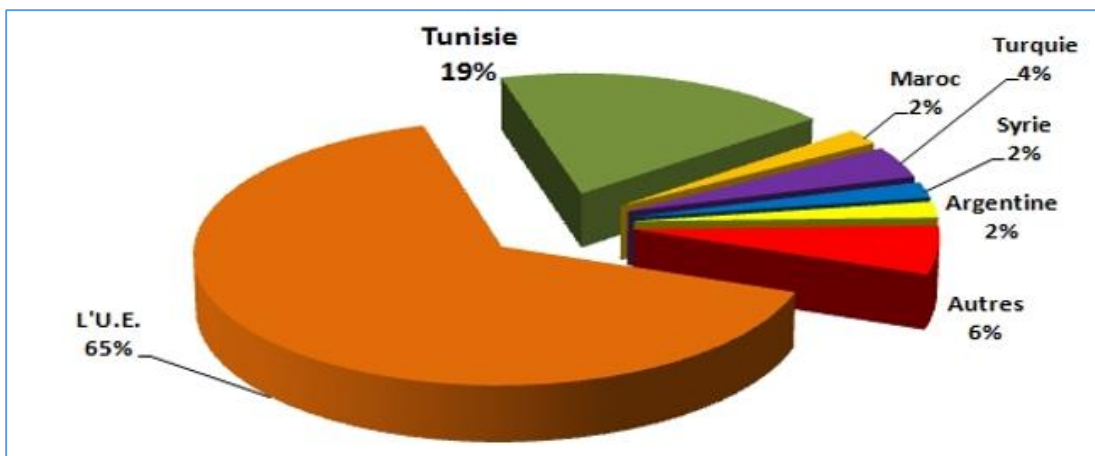
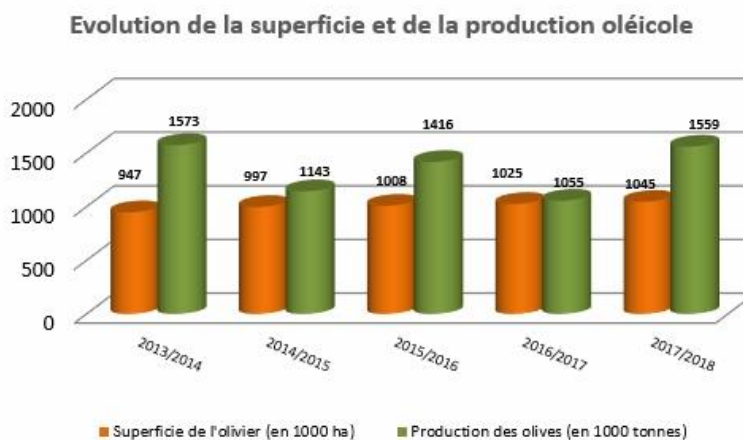


Figure 2 : Répartition des exportations mondiales pendant les années 2011-2016

Au niveau international, les dernières données publiées par le Conseil Oléicole International (COI) pour la campagne oléicole 2017-2018 montrent une augmentation interannuelle de la Production d'huile d'olive. Ainsi, selon les données présentées par les pays en 2017, la production mondiale atteindrait 2,9 millions de tonnes. La production européenne s'affiche en tête avec l'Espagne, l'Italie, la Grèce et le Portugal, dont la production atteindrait environ 1,8 million de tonnes. Le Maroc, l'Argentine, la Jordanie, la Palestine, l'Algérie, la Tunisie et Turquie enregistreraient quant à eux une production de plus de 800 000 tonnes d'huile d'olive. Le principal importateur d'huile d'olive reste les États-Unis, avec 37% du marché mondial, suivi de l'Union européenne avec 16%.



Source : MAPMDREF/DSS

Figure 3 : Evaluation de la superficie et de la production (tn) oléicole à l'échelle Mondiale 2013-2018

3-2 - Importance d'olivier Au Maroc

L'olivier peut pousser au Maroc sur une grande partie du territoire sauf en bordure côtière et régions désertiques, on le retrouve principalement dans les régions suivantes : Fès Boulemane Taounate, Meknès Tafilalet, Marrakech Tensift Haouz, Beni Mellal Tadla Azilal, Oriental, Tanger Tétouan. La région qui occupe la plus grande superficie c'est la région Meknes-Fes avec une superficie de 35.30% suivi de la région de Marrakech-Safi avec une superficie de 21,10% puis la région de l'oriental qui occupe une superficie de 11.30%, les autres régions occupent une superficie de 32.1% (Figure 4)[16].

L'oléiculture connaît actuellement une grande expansion avec un accroissement important de la superficie consacrée aux oliviers qui est passée de 763 000 ha en 2007/08 à 933 475 ha en 2012/13. En 2018 La production d'olive est passée, quant à elle, de 700 000 tonnes par an à 2 millions de tonnes, en 2019, la superficie des exploitations agricoles d'oliviers est passée de 680 000 hectares (ha), et la production d'huile d'olive a atteint les 200 000 tonnes [17].

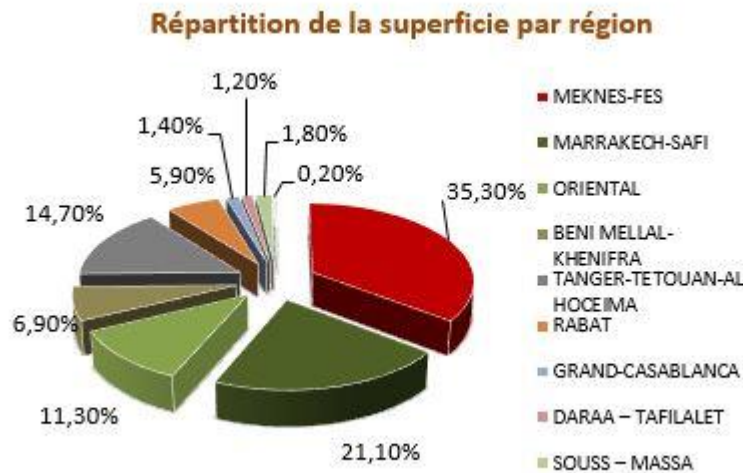


Figure 4 : Répartition de la superficie par région du Maroc [17]

II) Les maladies biotique de l'olivier

L'oléiculture est confrontée à plusieurs problèmes en particulier les attaques causées par des micro-organismes (bactéries, champignons) ou des virus et qui sont responsables de plusieurs maladies la fumagine ou « noir de l'olivier », la verticilliose (*verticillium dahliae*), l'œil de paon (*cycloconium oleaginum*), la tuberculose, mouche de l'olivier et la

cochenille noir..., ainsi que par des ravageurs (les thrips, le psylle,...) qui influent sur l'arbre et la production.[18]

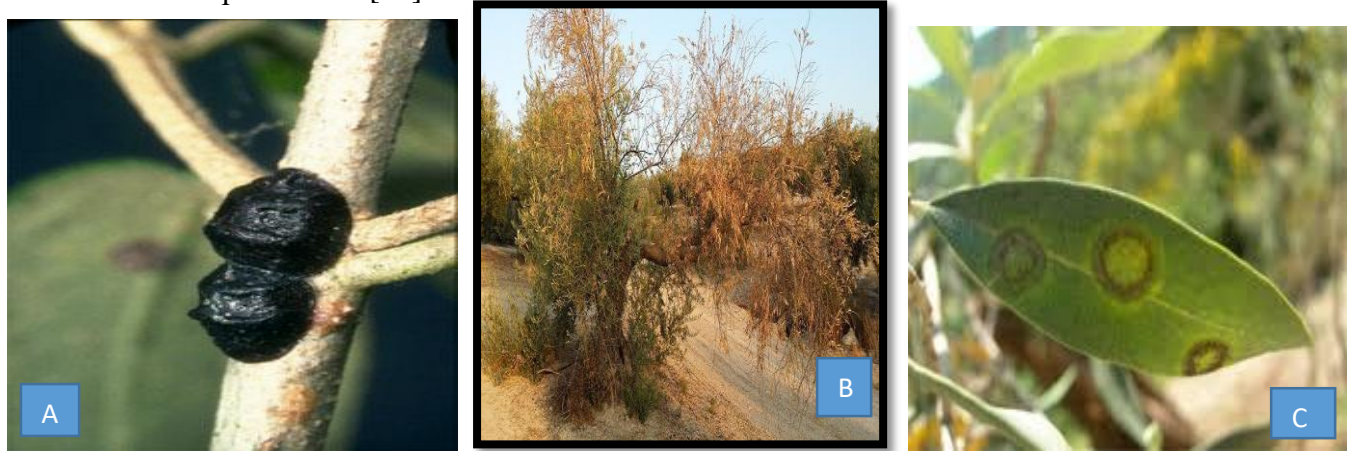


Figure 5 : Maladies de l'olivier A : cochenille noir, B : verticilliose, C : L'œil de paon

Mais ces dernières années l'olivier est attaqué par une maladie considérée comme la maladie la plus grave de l'olivier « complexe de dessèchement rapide d'olivier ».

En octobre 2013, l'Italie, considéré le troisième pays agricole de l'Union européenne et le deuxième producteurs d'olivier [19] a signalé un foyer de la maladie provoquant la mort d'olivier. Certains olivaires des Pouilles qui est considérée la plus important oléicole du pays (45% de la superficie totale oléicole) , ont signalé des cas de dessèchement d'olivier dans une zone au sud de Gallipoli dans le département de Lecce (Italie du sud) la maladie est appelée « Complexe de dessèchement rapide » ou CoDiRO qui l'abréviation de l'italienne «Complesso del disseccamento rapido dell'olivo » est une maladie bactérienne qui infecte les oliviers et se manifeste par le dessèchement de limbe des feuilles d'abord limités à des rameaux isolées puis s'étendent à des branches entiers du houppier jusqu'à affecter la totalité d'arbre.

L'agent causal sera finalement identifié est nommé en 2013 comme *Xylella fastidiosa*. Cette bactérie serait transmise d'arbre en d'arbre par des insectes suceurs, elle est surnommée « la bactérie tueuse d'olivier », considérée comme l'une des bactéries les plus dangereuses pour les végétaux à l'échelle mondiale, Depuis sa découverte il y a cinq ans,

près de dix millions d'oliviers ont été infectés et le nombre d'oliviers malades aurait triplé, entre 2017 et 2018 [1''''].



Figure6: Dépérissement d'olivier, région de pouilles, Italie, avril 2016

III) Agent pathogène : *Xylella fastidiosa*

1- Description de la bactérie

La *Xylella fastidiosa* est un agent phytopathogène limité par le xylème est responsable de nombreuses maladies qui ont des indices économiques graves.

Taxonomie

Tableau 1 : Classification taxonomique de *Xylella fastidiosa* [5]

Règne	Bacteria
Division	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Xanthomonadales
Famille	Xanthomonadaceae
Genre	<i>Xylella</i>
Espèce	<i>X. fastidiosa</i>

Sous espèces : plusieurs sous espèces ont été décrites avec des Spectre d'hôtes larges mais différents .Toutefois six sous espèces Généralement reconnues par la communauté scientifiques sont les suivants :

- ***X. f. subsp. Fastidiosa*** , responsable de la maladie de Pierce sur vigne, mais également présente sur caféiers et de très nombreuses autres plantes, 42 familles sont ainsi listées dans le rapport de [19].
- ***X. f. subsp. Multiplex*** , présente entre autre sur *Prunus* sp., *Quercus* sp., olivier, érable, orme, platane, micocoulier etc...[20].
- ***X. f. subsp. Sandyi*** , présente sur laurier rose et caféiers
- ***X. f. subsp. Pauca*** , présente sur citrus, caféiers et oliviers, avec pour chacun de ces hôtes des souches différentes
- ***X. f. subsp. Morus***, présente sur mûrier (*Morus* sp.)
- ***X. f. subsp. tashke***, présente sur *Chitalpa tashkentensis*

2- Historique et répartitions de la maladie

- Historique
- En 1884 : La première description de la maladie a été effectuée par Pierce en 1884 sur des vignes en Californie (USA).
- En 1890 : les mêmes symptômes ont été observés sur pêcher en Géorgie.
- En 1937 : la maladie a été observée en Italie sur luzerne en Californie.
- En 1940 : l'identification de des insectes vecteurs sur pêcher et vigne a été réalisée.
- En 1978 : la bactérie a été isolée à partir des plantes de vigne infectée et classé en tant que *Xylella fastidiosa*.
- En 1987 : la chlorose panachée des *Citrus* (Citrus Variegated Chlorosis – CVC) a été décrite au Brésil.
- En 2010 : la maladie a été observée sur l'olivier pour la premier fois en Italie
- En 2013 : la confirmation de l'agent causale de cette maladie sur l'olivier
- En 2015 : Découverts des premiers foyers de *Xylella fastidiosa* en corse sur des plantes de polygalla myrtifolia.
- En 2016 : Découverte des premiers foyers de *Xylella fastidiosa* sur lauriers-roses

(*Nerium oleander*) et sur des plantes de cerisier dans l'île de Majorque (Iles Baléares).

➤ En 2017 ; la maladie a été observée sur l'amandier en Espagne

- Répartition de la maladie

Tableau 2 : Distribution géographique de *Xylella fastidiosa* [21]

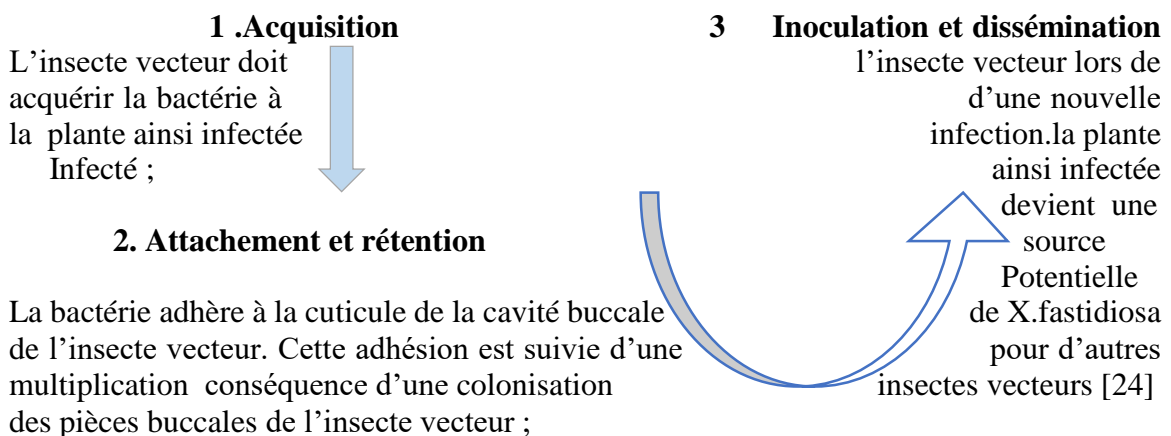
Amérique du Nord	Canada (Goodwin et Zhang, 1997 ; FIDS, 1992 ; Northover et Dokken-Bouchard, 2012) ; Holley, 1993). Etats-Unis : Alabama, Arizona, Arkansas, Californie, Delaware, District de Columbie, Floride, Géorgie, Indiana, Kentucky, Louisiane, Maryland, Mississippi, Missouri, Montana, Nebraska, New Jersey, Nouveau-Mexique, New York, Caroline du Nord, Oklahoma, Oregon, Pennsylvanie, Caroline du Sud, Tennessee, Texas, Virginie, Washington, Virginie-Occidentale (OEPP PQR, 2014)
Amérique Centrale	Costa Rica (Nunney <i>et al.</i> , 2014) ; Mexique (Legendre <i>et al.</i> , 2014) ; Elle a été rapportée sur des envois en provenance du Honduras interceptés en Europe (EUROPHYT, en ligne)
Amérique du sud	Argentine (Leite <i>et al.</i> , 1997 ; De Coll <i>et al.</i> , 2000 ; Haelterman <i>et al.</i> , 2015) ; Brésil (Bahia, Espirito Santo, Goias, Minas Gerais, Parana, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, Santa Catarina, São Paulo, Sergipe) ; Equateur (Legendre <i>et al.</i> , 2014) ; Paraguay, Perou et Venezuela
Europe	France (Corse et Provence-Alpes-Côte d'Azur ; 2015) Italie (région des Pouilles) (OEPP.2013)
Afrique	Non rapportée
Asie	Inde (Jindal et Sharma 1987), Iran (Aminifar et al 2014), Taiwan (Leu et Su, 1993)

3- Caractéristiques de la bactérie

X. fastidiosa, est une bactérie Gram négative en forme de bacille, catalase, positive et oxydase négative. Elle est aérobie et capable d'infecter plusieurs espèces végétales comprenant des espèces fruitières, cet agent pathogène peut également s'entendre à d'autres régions plus froides. Des essais ont cependant montré que la bactérie ne pouvait pas survivre à des $T < 8\text{ }^{\circ}\text{C}$, c'est une bactérie non flagellée caractérisée par une croissance optimale à $26\text{-}28\text{ }^{\circ}\text{C}$ et à un PH de 6.5 à 6.9. Elle très difficile à cultiver sur milieu artificiel à causes d'exigence nutritionnelle très spécifique.

4- Transmission de *Xylella fastidiosa*

La bactérie est transmise d'un végétal à un autre par des insectes piqueurs-suceurs qui s'alimentent de la sève brute du xylème [22] Presque tous les insectes piqueurs-suceurs sont capables de transmettre toutes les souches de *X. fastidiosa*. Ces insectes possèdent des pièces vocales un rostre court et deux stylets permettant d'atteindre les vaisseaux du xylème afin de se nourrir de sève brute. la valeurs nutritionnelle de la sève xylémienne est très pauvre, c'est pourquoi les insectes suceurs de sève brute en ingèrent de grande quantité [23]. La bactérie est persistante dans l'insecte adulte contaminé, cela signifie qu'il est capable de transmettre le pathogène probablement jusqu'à sa mort. Sa transmission par le vecteur se fait suivant 3 étapes :



5- Plantes hôtes de *Xylella fastidiosa*

X. fastidiosa possède une très large gamme d'hôtes naturels, notamment les amandiers, les pêchers, les pruniers, les abricotiers, les vignes, les agrumes, les caféiers et

les oliviers, le tournesol ainsi que sur le chêne et l'orme. Il est important de noter que les végétaux peuvent être porteurs de la bactérie sans présenter de signe de maladie. Les experts de l'EFSA (Autorité européenne de sécurité des aliments) ont conclu que *X. fastidiosa* pouvait être présente sur un éventail très large de plantes hôtes connues dans l'UE, y compris des plantes cultivées pour la production agricole mais aussi des espèces sauvages indigènes communes en Europe. En outre, il existe un grand nombre d'espèces qui pourraient être infectées par la bactérie mais qui n'y ont jamais été exposées ; il est par conséquent difficile d'établir la probabilité de son impact [5].

6- Les symptômes

La présence de *X.fastidiosa* dans la plante peut être asymptomatique ou provoquer une diversité de symptômes allant parfois jusqu'à la mort du végétal. Cette variation des symptômes est due à un grand nombre d'espèces de plantes hôtes, à la diversité de l'agent pathogène et aux différentes conditions climatiques [25]. La plupart des plantes infectées par la bactérie ne présentent aucune manifestation. Les symptômes présentent généralement un flétrissement puis un dessèchement partant du bord des feuilles et des brûlures foliaires (Figure 5) [26].

Dans certains cas, surtout dans l'olivier relativement jeune (50-60), les symptômes peuvent être limités à la dessiccation de petites branches. En revanche, les oliviers centenaires semblent être les plus gravement touchés par un syndrome sévère de dessiccation s'étendant dans toute la canopée et causant la mort des arbres [27]. Les symptômes sont plus importants vers la fin de l'été lorsque la demande en eau, maximale, n'est pas satisfaite dû aux vaisseaux xylémiens bloqués par les biofilms bactériens [24].

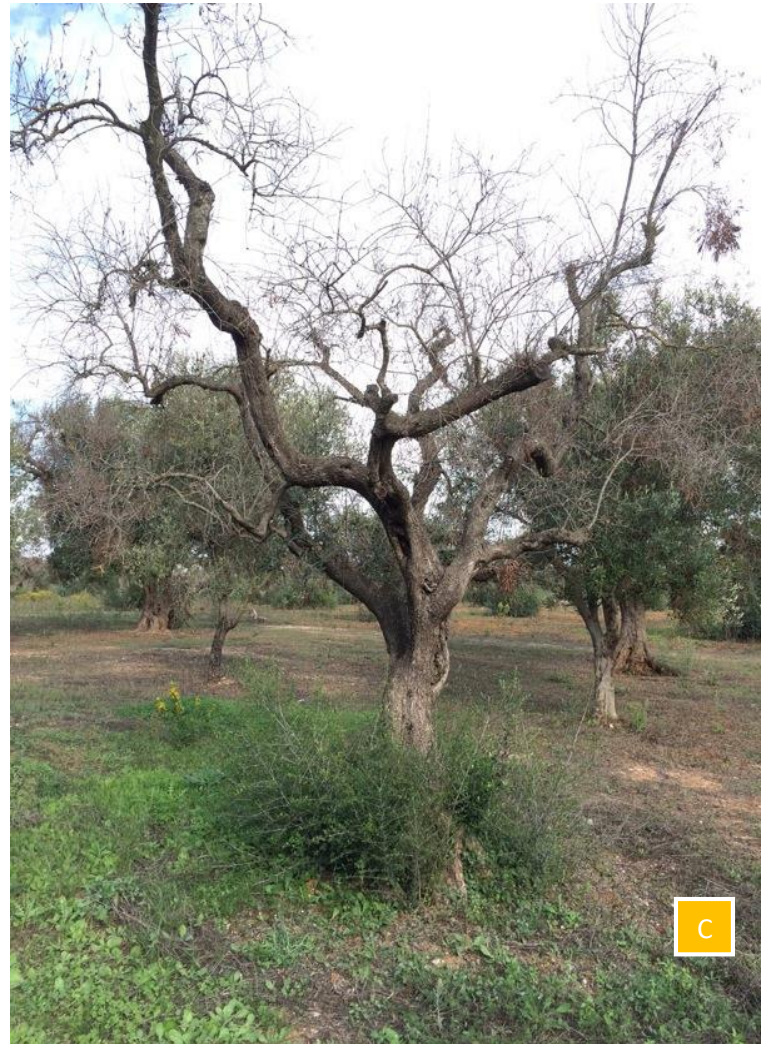


Figure 7 : symptômes de la maladie de Pierce causée par *X. fastidiosa* sur l'olivier. A : développement des symptômes, B : Brûlures foliaires, C : la mort de l'arbre

7- Le Cycle de la maladie

X. fastidiosa, est une bactérie qui colonise les vaisseaux de xylèmes des plantes hôtes où elle peut se déplacer vers le haut comme vers le bas de la plante [28]. Elle peut également circuler dans les vaisseaux voisins, à travers les ponctuations du vaisseau xylémiens, dû à la dégradation de leur membrane déclenchée par un signal diffus de la bactérie [29]. elle peut également circuler dans les racines, dans les feuilles, où elle se multiplie [30]. Lors de la circulation de la bactérie dans la plantes, cette dernière ne présent aucun symptôme extérieur. La pathogénicité de *X.fastidiosa* repose sur l'utilisation de nombreux facteurs pathogéniques à savoir : les adhésines qui facilitent son adhérence et son attachement. En

outre, elle produit des exopolysaccharides (EPS) permettant la formation d'un biofilm. D'autres structures protéiques disposées à la surface de la paroi comme les pili qui contribuent également à la formation de ce biofilm et l'agrégation des cellules. La plante peut réagir en produisant du latex et tylose, une substance collante dans les vaisseaux.

Les vaisseaux xylémiens peuvent être obstrués par ces biofilms bactériens empêchant ainsi le passage de la sève brute et provoquant les symptômes de dessèchement [30].

. Le transport vers différentes parties de la plante dépend de l'espèce végétale.



Figure 8 : Biofilm de *Xylella* (jaune) dans un vaisseau de xylème de vigne (vert)
(Electron Microscopy Laboratory, U.C. Berkeley)

8- Les méthodes d'identification de l'agent pathogène

Étant donné que *X.fastidiosa* est présente dans les tissus du xylème de ses hôtes, le pétiole et la nervure centrale prélevés sur les feuilles constituent la meilleure source de diagnostic car ils contiennent un plus grand nombre de vaisseaux du xylème [31]. Il est existant plusieurs méthodes de détection de *X . fastidiosa*.

1- Tests de dépistage :

L'isolement de *X. fastidiosa* n'est pas recommandé en tant que test de dépistage, car il est très difficile d'isoler cette bactérie. Les échantillons doivent être considérés comme des

« des échantillons infectés par *X. fastidiosa* » Lorsqu'au moins deux tests de dépistage sont positifs. L'attribution des sous-espèces par les tests moléculaires et / ou une analyse de séquençage doit ensuite être effectuée. L'isolement doit également être tenté. Pour les zones dans lesquelles l'organisme nuisible est présent ou dans les zone de tampon, un test positif suffit pour considérer un échantillon comme « échantillon infectée par *X.fastidiosa*. Si les résultats des deux tests sont contradictoires, il est recommandé de refaire les tests et / ou de refaire de nouveau l'échantillonnage [32]

2- Tests sérologiques :

Les tests sérologiques développés au cours des années incluent ELISA [33], l'immunofluorescence par piégeage membranaire (MEIF) [34], le test de immuno-liaison par points (DIBA), le Western blotting [35] et IF [36]. L'immuno-analyse directe par transfert tissulaire (DTBIA) a récemment été rapportée comme une alternative au test de dépistage rapide pour la détection de *X. fastidiosa* dans des échantillons d'olivier [37].

3- Tests moléculaires :

Bien que plusieurs tests PCR aient été développés pour détecter efficacement l'ADN de *X. fastidiosa* dans un extrait d'ADN purifié, la présence d'inhibiteurs est un problème récurrent dans certaines matrices (Ces effets peuvent être surmontés par des protocoles d'extraction d'ADN adéquats et des dilutions de l'extrait.

Pour la PCR conventionnelle, le test est basé sur la méthode de *Minsavage et al* [38]. Pour la PCR en temps réel, plusieurs tests de PCR en temps réel ont été validés tels que la méthode de *Harper et al* [39] , celle de *Francis et al.*[40], d'*Ouyang et al.* [41].

9- Les méthodes de lutte contre *xylella fastidiosa*

Il n'existe pas de moyens directs de lutte, biologique ou chimique, contre *Xylella fastidiosa*. Les mesures les plus efficaces sont d'ordre préventif et visent à entraver la propagation de la bactérie. C'est pourquoi depuis 2016, un passeport phytosanitaire est obligatoire pour toutes les plantes-hôtes de *X.fastidiosa* plantes malades sont importées, elles doivent être détruites immédiatement. En cas de dissémination de la bactérie dans l'environnement toutes les plantes-hôtes potentielles doivent être détruites dans un périmètre de cent mètres autour du foyer d'origine.

III) Identification des vecteurs

1- Les insectes vecteurs infectés

Xylella fastidiosa est une bactérie qui se transmet de plante en plante essentiellement par l'action d'un insecte piqueur-suceur, qui s'alimente essentiellement de sève brute au niveau du xylème de la plante hôtes. Parce que la bactérie était uniquement présent depuis plus d'une centaine d'années sur le continent américain les principaux insectes vecteurs connus ont été identifiés et étudiés dans cette zone biogéographie [22]. Tous les vecteurs connus de la bactérie sont des Hémiptères qui appartiennent au sous-ordre des Auchenorrhyncha. Il s'agit essentiellement de cicadelles, de cercopes, , d'aphrophorides et éventuellement de cigales, ([42; [22]; [28];).

Environ 39 espèces appartenant à 19 genres de la famille des Cicadellinae et 5 espèces de la famille des Cercopideae ont été rapportées vecteurs de *X. fastidiosa* [27]. Ces insectes sont dotés d'une capacité à enfoncer profondément leur rostre dans la plante et à aspirer la sève brute directement à partir des vaisseaux conducteurs du xylème.



Homalodisca vitripennis

Draeculacephala minerva

Figure 9: insectes vecteurs de la maladie de Pierce causée par *X. fastidiosa*

Après la détection de la présence de *X. fastidiosa* sous-espèce *pauca* dans la région des Pouilles en 2013 [43], seule l'espèce, *P. spumarius* a été identifiée comme responsable de la transmission de la bactérie présente dans la péninsule du Salento [44]. Il reste, à ce jour, le seul vecteur identifié en Europe.



Figure 10: *Philaenus spumarius* L., [45]

2- Dégâts directs

Cet insecte était rarement considéré comme un ravageur bien qu'il pouvait causer occasionnellement des dégâts aux fraisiers. Néanmoins, aux États-Unis, c'est un ravageur important de la luzerne cultivée (*Medicago sativa* L.) et des fraisiers [46]. Les nymphes sont très voraces, elles peuvent consommer jusqu'à 280 fois l'équivalent de leur poids en sève en 24 heures [47]. Elles provoquent des déformations et flétrissements de jeunes plantes et parfois une malformation des fleurs. L'adulte ne cause pas de dégâts directs [48].

3- Dégâts indirects

En production ornementale, il peut y avoir une dépréciation des plantes due à la présence d'amas spumeux sécrétés par la larve [49].

En Europe, l'imago du cercope des prés infecté peut transmettre la bactérie *X.fastidiosa* à différentes plantes hôtes telles que l'olivier (*Olea europea* L.), l'oléandre (*Nerium oleander* L.), la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus* L.) [28] et l'amandier (*Prunus dulcis* Mill.) [45]. La transmission aux oléandres est la plus efficace de toute, suivie de la pervenche de Madagascar et de l'olivier [50] ce qui provoque les symptômes de dessèchement.

IV) Statut de *Xylella fastidiosa* au Maroc

Xylella fastidiosa est inscrit sur la liste des organismes nuisible de quarantaine au Maroc [51]. La réglementation phytosanitaire nationale stipule des mesures spéciales

notamment l'interdiction de son introduction, l'obligation de déclaration de sa suspicion, de lutte et d'éradication en cas de sa détection.

L'analyse des risques phytosanitaires pour le Maroc a conduit que la probabilité d'introduction de *X. fastidiosa* au Maroc est très élevée ; *Xylella fastidiosa* présente un risque majeur pour l'économie marocaine vu qu'elle a le potentiel d'induire la maladie une fois établie, surtout que les plantes hôtes, les insectes vecteurs existent au Maroc. *Xylella fastidiosa* peut affecter plusieurs cultures telles que la vigne, les agrumes, l'olivier, les rosacées mais aussi plusieurs plants d'ornement (laurier-rose, platane ...) et forestiers (chênes, acacias, eucalyptus), [21].

Les insectes piqueurs-suceurs présents au Maroc sont considérés des vecteurs potentiels de *Xylella fastidiosa*. Par ailleurs le Maroc dispose d'un climat et de conditions environnementales favorables au développement de la maladie et des insectes vecteurs.

Mais actuellement Le Maroc est **indemne** de cette bactérie redoutable.

V) L'évaluation des probabilités d'entrée, d'établissement et de dissémination de *X. fastidiosa* au Maroc

L'évaluation des probabilités d'introduction et de dissémination est résumée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3 : Evaluation de probabilités d'entrée, d'établissement, et de dissémination de *X. fastidiosa* au Maroc. [21]

Probabilités		Entrés	Etablissement	dissémination
Estimation	Très improbable			
	Improbable			
	Modérément improbable			
	Probable			
	Très probable	X	x	x
Niveau D'incertitude	Faible	X	x	x
	Modéré			
	Elevé			

En conclusion la probabilité totale de l'introduction et de la dissémination du *X. fastidiosa* au Maroc est considérée **très probable** avec une incertitude **faible**.

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

1 Prospection et localisation des zones d'étude

1.1 Prospection

Considérant le risque potentiel présenté par *X. fastidiosa* sur plusieurs cultures au Maroc, des Enquêtes sur le terrain ont été menées le mois mai 2019 dans 23 vergers d'olivier des régions différentes (Fès Boulemane , birtamtame, Meknès , Oued Amlil , Tazaa , El Aioun Sidi Mellouk, Berkane , Oujda , Taourirt , Guercif) (Fig 11).



Figure 11 : Prospections des échantillons d'olivier

1.1 Localisations des échantillons prospectés

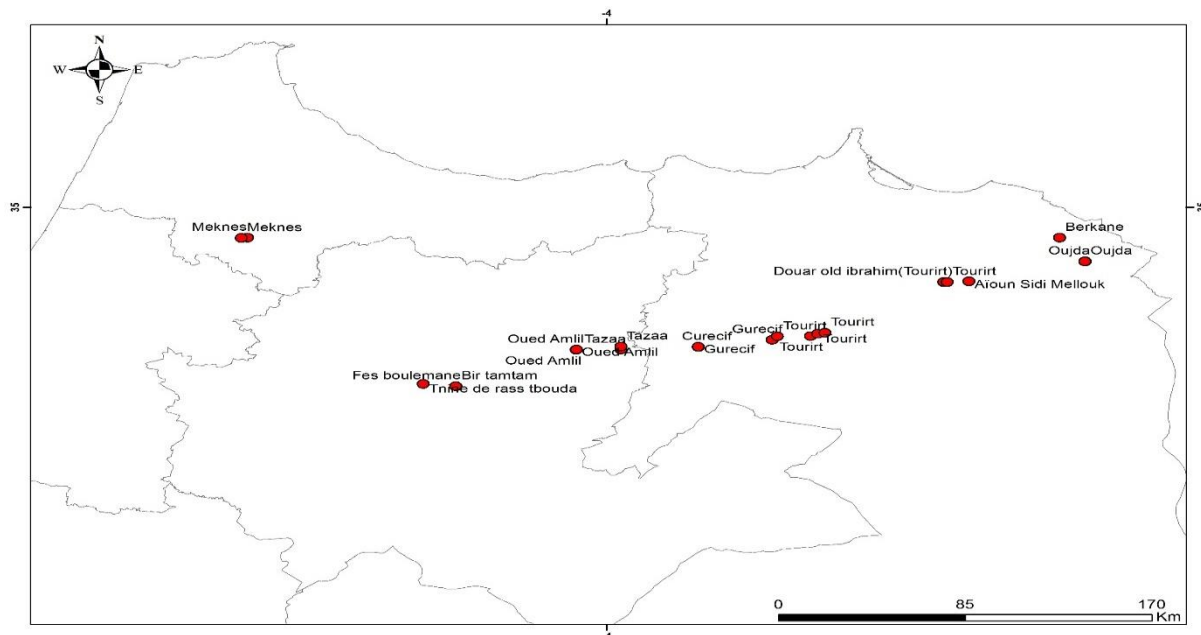


Figure 12 : Localisation géographique de 23 verges d'oliviers prospectés

2 Matériel et outil de terrain

Le matériel nécessaire pour effectuer le prélèvement des échantillons est le suivant :

- 4- GPS
- 5- Glacière
- 6- Sécateur
- 7- Bloc de glacier
- 8- Marqueur indélébile
- 9- Sac en plastique

3 Acheminement des échantillons

Conservation au réfrigérateur (à 4°C), Pour que les échantillons reste dans un bon état de conservation, c'est-à-dire, ni desséchés, ni en cours de décomposition.

4 Estimation de l'incidence des maladies d'olivier

Au cours de chaque prospection d'une oliveraie, nous avons évalué le nombre des plantes d'oliviers malades par rapport au nombre totale d'arbre, les arbres malades présentaient les symptômes de dessèchement (tableau 4). Nous avoir aussi la présence d'autres maladies d'olivier (Figure 13)

5 Prélèvement des échantillons

Les fragments de rameaux prélevés d'arbres malades présentent les symptômes typiques de dessèchement rapide d'olivier. Seize échantillons ont été prélevés, quatre de Tourirt, deux Oued Amlil, Tazaa, Oujda et Meknès, un de Aïoun Sidi Mellouk, Gurecif, et Berkane.

6 Méthodologie de travail

Le démarche consiste de faire un contrôle visuel lors des prospections, si on observe des symptômes douteux, on passe à un prélèvement d'échantillon qui va être envoyé au laboratoire pour analyse et confirmer ou infirmer la présence de la bactérie. Le schéma suivant, schématise la méthodologie de travail :

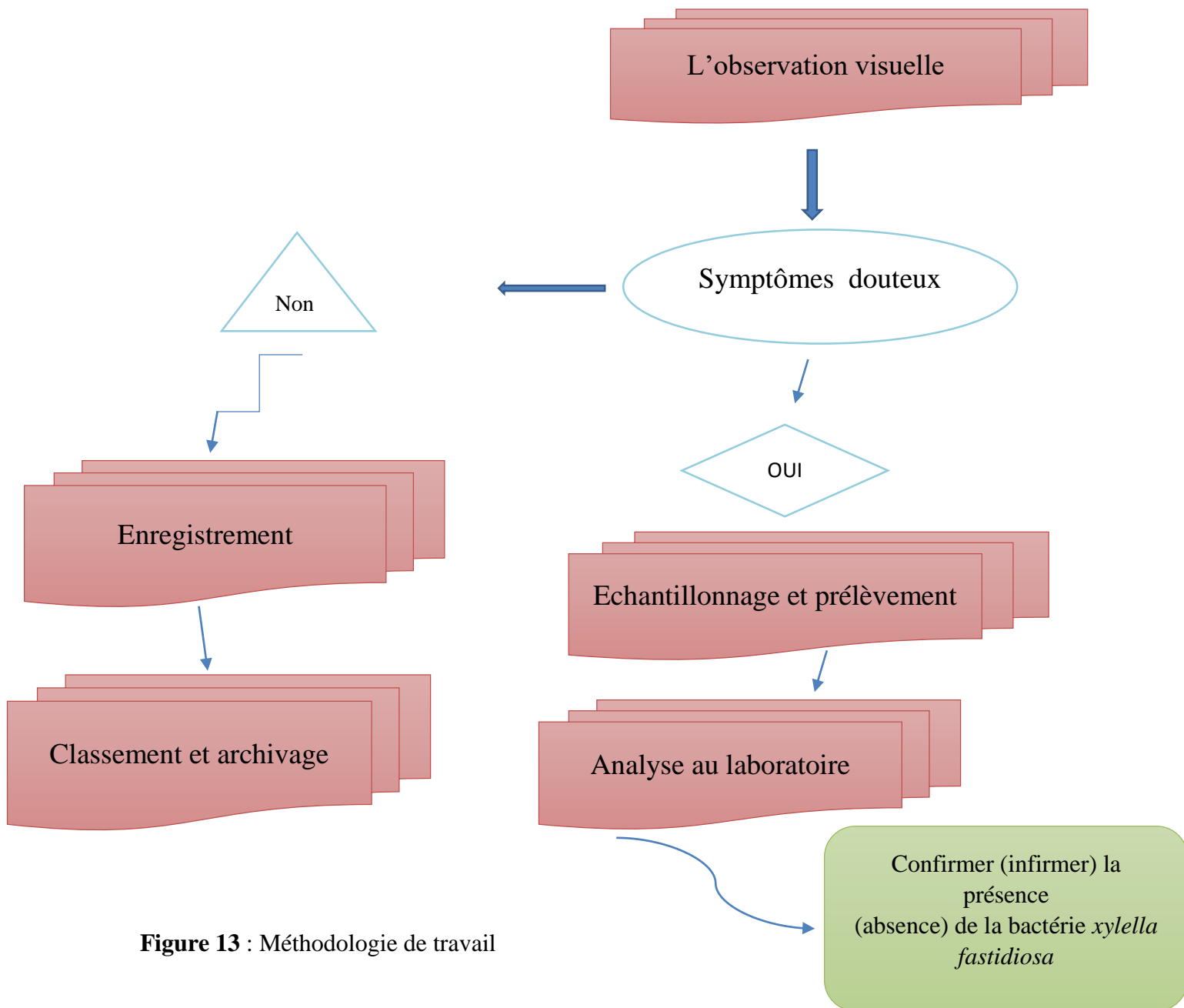


Figure 13 : Méthodologie de travail

6.1 Méthodologie d'échantillonnage

Quatre à cinq rameaux (avec des feuilles vertes) ont été prélevés à partir de chaque arbre présentant les symptômes de la maladie causée par *Xylella fastidiosa*, puis les échantillons ont été stockés dans des sacs en plastique fermés dans une glacière. 10 échantillons ont été sélectionnés pour le teste, des extrait ont été obtenues à partir de pétioles et de veines médianes 0.5g ont été pesés pour chaque échantillons et ont été broyés au pilon dans un mortier avec tampon d'extraction PBS1, 200 µL ont été mis dans les epindorfs pour chaque échantillon et centrifugés pendant 15min.



Figure 14: centrifugations des échantillons d'olivier pendant 15 min

6.2 Méthode d'analyse

Au laboratoire les analyses des échantillons ont été faites par la méthode de test ELISA.

✚ Test ELISA

C'est un test sérologique qui permet de détecter la présence **d'un anticorps** ou **d'un antigène**. Une technique **immuno-enzymatique** permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps.

- Matériels utilisés (Annexe 1)

- Kits d'ELISA (ELISA sandwich double anticorps)
- Micropipette de 200 μ L
- Plaque de micro titration
- Tampon de lavage(PBST)
- Tampon d'extraction/conjugué
- Tampon d'enrobage
- Spectrophotométrie
- Papier d'absorbant
- Parafilm

- les étapes de travail

- 1^{ère} étape :

-Enduire la plaque

-Dilution de 40µl des IgG (anti-XF-IgG) dans 20ml du tampon d'enrobage (coating buffer)

- Les puits ont été remplis par l'ajout de 200 µl des IgG dilués et l'utilisation d'un témoin positif qui contient les IgG et un témoin négatif sans IgG

- La plaque a été couverte avec un parafilm et placée dans un endroit humide et incubée à 37 °C pendant 4 h.



Figure 15 : Dépôt des antigènes (anti-XF-IgG) dans les puits de la plaque de microtitration (Photo personnelle)

- 2^{ème} étape

Lavage

La sève des puits a été retirée et lavée 4 fois pendant 3 min par le tampon de lavage ; ensuite le liquide enlevé en épongeant la plaque sur du papier absorbant.

- 3^{ème} étape

Préparation de la sève des plantes et incubation de l'antigène,

200 µl de sève de plante sont chargés dans chaque puits de la plaque de microtitration, la plaque est couverte et incubée à 4 °C pendant la nuit dans une boîte humide. Deux témoins ont été utilisés, un témoin positif qui indique un olivier positif et faiblement infecté, et un témoin négatif (négatif olivier).

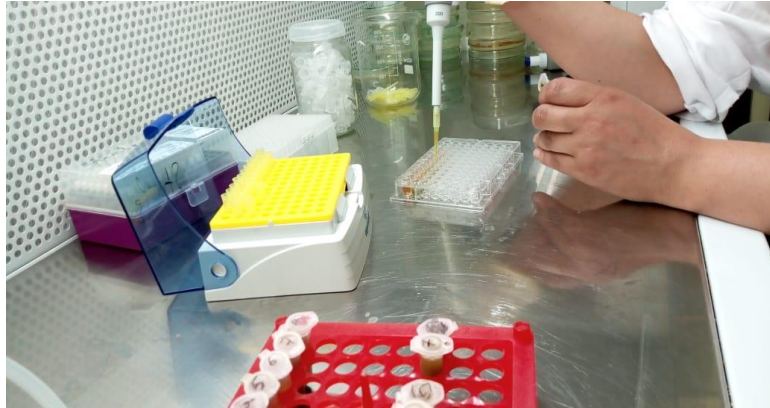


Figure 16 : Préparation de la sève des plantes

➤ 4^{ème} étape

Lavage (répétez l'étape 2)

➤ 5^{ème} étape

Ajouter l'anticorps de détection

Dilution des anticorps conjugués aux enzymes (anti-XF conjugué) dans le tampon conjugué selon les instructions du fabricant. 200 μ l ont été ajoutés dans chaque puits de la plaque de micro titration, puis la plaque a été couverte à 37 °C pendant 2h.

➤ 6^{ème} étape

Lavage (l'étape 2 a été répétée)

➤ 7^{ème} étape

-Ajouter un substrat (phosphate de p-nitrophenyl)

- Le phosphate de p-nitrophenyl (1 mg/ml) a été dissolvé dans un tampon de substrat (Substrate buffer), puis de 200 μ l de ce mélange sont ajoutés dans les puits. Ensuite, ils ont été incubés pendant 1h jusqu'au changement de coloration (jaune). La lecture est effectuée à 405 nm.

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

Le contrôle visuel a été effectué dans 23 vergers de l'olivier, dont le lieu des plantations, superficie totale, les nombres des plantes malades, le pourcentage de la maladie avec d'autres maladies observées (Fig 17) au cour de chaque prospection sont mentionnée dans le tableaux 5.

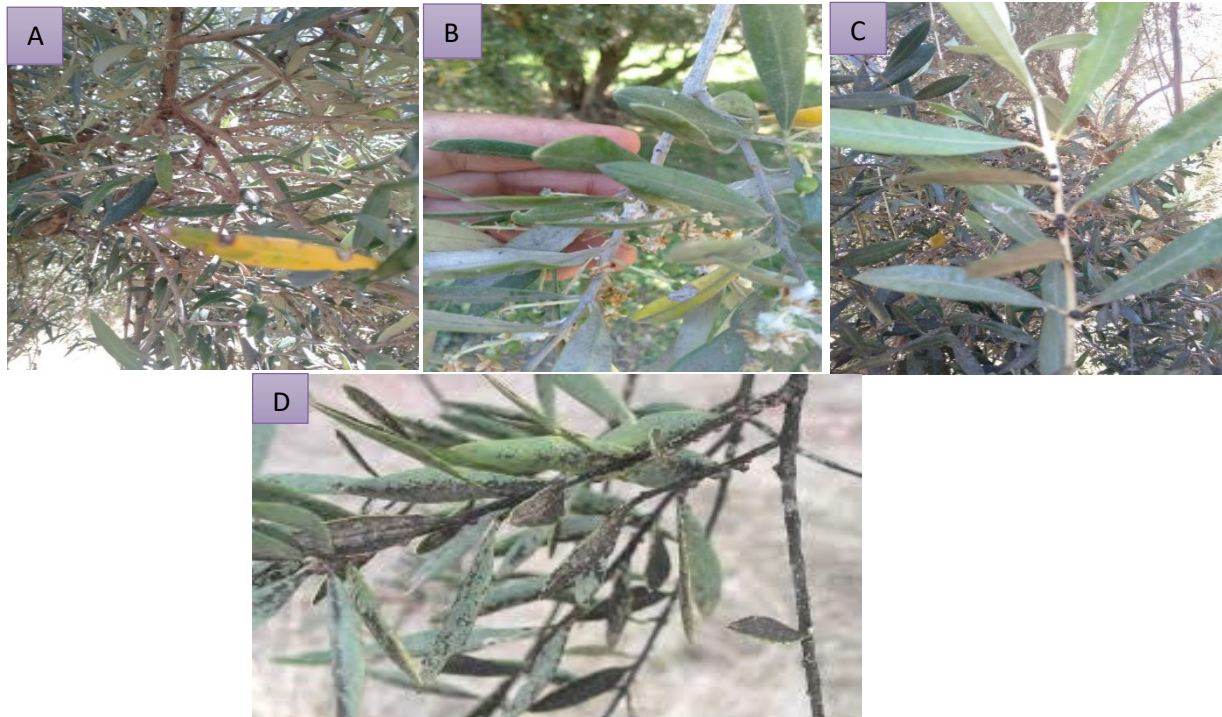


Figure 17: Les maladies d'olivier observés au cour de la prospection ; A : ŒIL de paon, B : psylle d'olivier, C : cochenille noir, D : fumagine

Tableau 4 : Caractéristiques culturelle des stations des oliviers observés

Stations des plantations	Lieu des Plantation	Superficie Totale	Nombre des Plantes malade par rapport nombre totale d'arbre	Pourcentage De la Maladie	D'autres maladies Observés
Station 1	Tanin d Tbouda	+de 10 ha	-	0%	ŒIL de paon
Station 2	FES Boulomane	+ de 12 ha	-	0%	ŒIL de paon
Station 3	BIR TAMATAM	+ 10 ha	-	0%	ŒIL de paon
Station 4	OUED AMLIL	+de 10 ha	16	6.25 %	ŒIL de paon
Station 5	OUED AMLIL	+de 10 ha	10	10%	ŒIL de paon
Station 6	OUED AMLIL	22 Arbre	4	25%	ŒIL de paon
Station 7	TAZAA	60 Arbre	9	22%	ŒIL de paon
Station 8	TAZAA	60 Arbre	9	22%	ŒIL de paon
Station 9	GURECIF	12 ha	2	15%	ŒIL de paon, fumagine, psylle, cochenille noir
Station 10	GURECIF	+ de 10 Ha	10	20%	ŒIL de paon, fumagine, Cochenille noir
Station 11	TOURIRT	8 Ha	-	0%	ŒIL de paon
Station 12	TOURIRT	90 Arbre	30	20%	Œil de paon
Station 13	TOURIRT	90 Arbre	85	65%	ŒIL de paon
Station 14	TOURIRT	66 Arbre	10	20%	ŒIL de paon
Station 15	BERKANE	+ de 10ha	15	13%	ŒIL de paon, fumagine
Station 16	OIJDA	64	59	33%	ŒIL de paon
Station 17	OIJDA	64	59	33%	ŒIL de paon
Station 18	OIJDA	64	59	33%	ŒIL de paon
Station 19	Aïoun Sidi Mellouk	+ de 10 ha	6	16%	ŒIL de paon, psylle
Station 20	TOURIRT	+ de 12 ha	-	0%	ŒIL de paon
Station 21	TOURIRT	+ de 12ha	-	0%	ŒIL de paon
Station 22	MEKNES	40 Arbre	10	10%	ŒIL de paon
Station 23	MEKNES	40 Arbre	10	10%	ŒIL de paon

(-) : Aucune plante malade (ne présente pas les symptômes de dessèchement rapide d'olivier)

1. Analyse des résultats

D'après les tableaux 5 et 6 les résultats obtenus révèlent l'absence de la bactérie dans tous les échantillons testés. En outre, le test ELISA a bien fonctionné : le témoin positif (A11+A12, B11+B12) a réagi positivement (changement de coloration) alors qu'aucun changement de couleur n'a été observé avec le contrôle négatif (D1+E1)

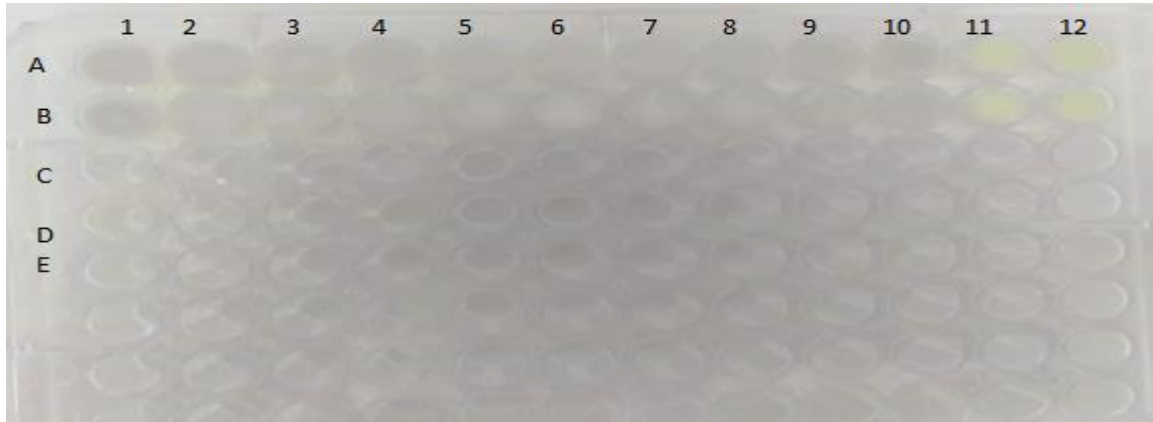


Figure 18 : Résultats de coloration des échantillons testés

Tableau 5 : Résultat de la lecture des échantillons testés à 405nm

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1,093	1,002	1,007	1,091	1,106	1,001	1,008	1,35	1,206	1,132	0,736	0,736
B	1,129	1,138	1,268	1,162	1,116	1,178	1,243	1,159	1,08	1,176	0,736	0,736
C	0,044	0,045	0,042	0,044	0,047	0,043	0,044	0,046	0,058	0,067	0,047	0,047
D	0,007	0,003	0,048	0,058	0,05	0,046	0,05	0,05	0,06	0,048	0,058	0,046
E	0,007	0,003	0,044	0,045	0,047	0,045	0,046	0,049	0,065	0,047	0,046	0,046
F	0,052	0,052	0,053	0,054	0,049	0,056	0,046	0,048	0,051	0,05	0,051	0,054
G	0,046	0,044	0,051	0,061	0,063	0,05	0,046	0,048	0,052	0,046	0,045	0,048
H	0,054	0,044	0,047	0,047	0,052	0,061	0,064	0,052	0,048	0,055	0,048	0,049

(**A, B** : DO de les échantillons testés), (**A : 11+12**)=Témoin positif olivier, (**B : 11+12**)=Témoin positif Olivier, (**D : 1 ; E : 1**)= Témoin négatif, (**D : 2 ; E : 2**)= Tampons

Tableau 6 : Evaluation de la détection de la bactérie en fonction de la DO d’après les instructions du kit utilisé.

Contrôles	lecture de la DO
Positive Xf olivier	> à 2,000
Olivier positive faiblement infectées	0,736
Négative olivier	0,007
Tampons	0,003

Positif Xf olivier : la présence de la bactérie Xf dans les oliviers

D’après le tableau (5), on remarque d’une part que les échantillons testés ont montré des résultats négatifs selon la référence qui montre que chaque échantillon testé avec une $DO < 2,000$ est un échantillon dépourvu de la bactérie recherchée.

D’autre part, la photo (figure 8) a montré qu’au niveau des puits 11 et 12 représentant des témoins positifs, on a eu une coloration jaune ce qui montre que le test ELISA a bien fonctionné. Ceci est confirmé par la valeur de la DO obtenue (0,736). De plus, les résultats obtenus ont montré que les échantillons analysés ne sont pas infectés par *X.fastidiosa* car on n’avait pas eu une coloration jaune.

Donc en guise de conclusion, le test d’ELISA a confirmé l’inexistence de *Xylella fastidiosa* au niveau des échantillons testés.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par plusieurs études réalisées au Maroc qui ont montré l’absence de la bactérie.

Conclusion et perspectives

Ce travail avait pour but la détection de *Xylella fastidiosa* dans les plantes d'oliviers dans différentes régions du Maroc.

Lors de cette étude, les résultats de l'analyse effectuée à travers le test d'ELISA montrent une absence de cette bactérie dans tous les échantillons analysés.

Au terme de cette étude, il paraît clair que *xyllela fastidiosa* reste un organisme de quarantaine réglementé dont l'introduction, la production et la propagation au Maroc sont interdites.

Suivant la récente conclusion confirmée de *X.fastidiosa* dans l'union (Italie et France) ; cette bactérie est entrain de devenir une menace sérieuse pour le secteur agricole marocain. Dans ce contexte, l'office national de la sécurité sanitaire des produits alimentaires (ONSSA) exige l'adoption des mesures pour empêcher l'introduction de *X.fastidiosa* sur le territoire national.

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent clairement que *X.fastidiosa* n'a pas été trouvé au Maroc. Cependant, des enquêtes approfondies dans différentes régions sont nécessaires pour empêcher son entrée dans le pays.

Dans le cadre d'un travail futur, il est serait souhaitable d'étudier l'effet de l'année en répétant la même étude plusieurs années, d'une part, et de coupler le test ELISA par une approche génétique fondée sur l'utilisation de la technique moléculaire à savoir : PCR, pour la révélation de la bactérie tout en utilisant des marqueurs moléculaires. Cet objectif implique de réels efforts de recherche afin de contribuer au progrès de la détection de cette bactérie à l'échelle national.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- [1] **Benjama A.2003.** Méthode d'évolution rapide du degré d'attaque de l'olivier par la tuberculose causé par *pseudomonac savastanoi pv .savastanoi* , en verger au Maroc. Fruits.
- [2] **Alexandra p., 2012 :** Le marché de l'huile d'olive : Situation et perspectives. pp : 1-74.
- [3] **MAPM, 2011.** Rapport de l'année agricole 2011 MAPM, 2011
- [4] **Hadiddou A 2013 .**Evaluation et performance de production des variétés d'olivier (*olea europene*) nationales et méditerranéennes.
- [5] **Wells J., 1987.** *Xylella fastidiosa* gen nov. sp. nov. gram-negative, xylem-limited, fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. Int. J. Syst. Bacteriol., 37, 136.
- [6] **Retchless, A.C., Labroussaa, F., Shapiro, L., Stenger, D.C., Lindow, S.E., Almeida, R.P., 2014.** Genomic insights into *Xylella fastidiosa* interactions with plant and insect hosts. In: Heidelberg, S.B. (Ed.), *Genomics of Plant-Associated Bacteria* pp. 177-202.
- [7] **Nunney, L., Vickerman, D.B., Bromley, R.E., Russell, S.A., Hartman, J.R., Morano, L.D., Stouthamer, R., 2013.**Recent evolutionary radiation and host plant specialization in the *Xylella fastidiosa* subspecies native to the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 2189-2200.
- [8] **Giampetruzzi, A., Chiumenti, M., Saponari, M., Donvito, G., Italiano, A., Loconsole, G., Boscia, D., Cariddi, C., Martelli, G.P., Saldarelli, P., 2015.** Draft genome sequence of the *Xylella fastidiosa* CoDiRO strain. *Genome Announc* 3, e01538-01514.
- [9] **COURBOULEX M., 2002.**Les olives. Ed. Rustica.- paris, 119p.
- [10] **Qatibi A.I., Lorquin J., Liebgott P.P., Bennisse R. et Labat M. (2004).**Potentialité desbactéries pour la valorisation de margine situé au Maroc. Séminaire International Olivebioteq, Errachidia, Maroc, 147.
- [11] **FAOSTAT., 2013.** Site web : <http://faostat.fao.org/>.
- [12] **Guerbaa H., 1988.** Situation et tendances de l'offre et de la demande des principaux produits de l'olivier. CIHEAM, Options Méditerranéennes. Pp : 11-26.
- [13] **FAO, 2003.** L'olivier : contraintes et potentialités. Projet "Assistance au Recensement Agricole". Liban.
- [14] **Verdier, E., (2003).** L'Huile d'olive.
- [15] **Ministère de l'altugricure et de la pêche martine 2013.** Veille économique secteurs agricole.
- [16] **Interprolive (2016).** La filière oléicole marocaine.

- [17] MAPAM 2018. Rapport de l'année agricole 2018.
- [18] <https://www.jardipartage.fr/maladie-olivier/>.
- [18] FAOSTAT. (2017). La production par culture (tonnes) en Italie. Retrieved from <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC>
- [19] Site web A : <https://www.francetvinfo.fr/monde/environnement/bacterie-tueuse-d-oliviers/italie-les-oliviers-se-meuren>.
- [19] EFSA, 2015. Panel on Plant Health (PLH), European Food Safety Authority (EFSA), Scientific Opinion on the risk to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk.
- [20] Nunney, L., Vickerman, D.B., Bromley, R.E., Russell, S.A., Hartman, J.R., Morano, L.D., Stouthamer, R., 2013. Recent evolutionary radiation and host plant specialization in the *Xylella fastidiosa* subspecies native to the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 2189-2200.
- [21] ONSSA. 2016. Evaluation du risque phytosanitaire de *xylella fastidiosa* au Maroc.
- [22] Redak, R. A., Purcell, A. H., Lopes, R. S., Blua, M. J., Iii, R. F. M., & Andersen, P. C (2004). The Biology of Xylem Fluid-Feeding Insect Vectors of *Xylélla fastidiosa* An relation to disease Epidemiology. [https:// doi.org/10.1146/ annurev.ento.49.061802.123403](https://doi.org/10.1146/annurev.ento.49.061802.123403).
- [23] Raven, J. A. (1984). *Phytophages of Xylem and Phloem : a Comparison of Animal and Plant Sap-feeders.*
- [24] Chatterjee, S., Almeida, R. P. P., & Lindow, S. (2008). Living in two Worlds : The Plant and Insect lifestyles of *xylella fastidiosa*, 243- 273.
- [25] EFSA, Panel on Plant Health (PLH), European Food Safety Authority (EFSA), Scientific Opinion on the risk to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction, *EFSA Journal* 2015;13(1):3989.
- [26] Janse & Obradovic, 2010). *Xylella fastidiosa* ,its biology, diagnosis, cotrole and risk.
- [27] Cariddi, C., Saponari, M., Boscia, D., Stradis, A. De, Loconsole, G., Nigro, F., ... Potere, O. (2014). Isolation of a *xylella fastidiosa* strain infecting olivec and oleander in apulia , Italy 96, 425–429.
- [28] Almeida, R. P. P., Pereira, E. F., Entomologia, D. De, Agrícola, Z., Universidade, E., Paulo, D. S., ... Lopes, J. R. S. (2001). Multiplication and Movement of a Citrus Strain of *Xylella fastidiosa* Within Sweet Orange, 85(4), 382–386.
- [29] Newman, K. L., Almeida, R. P. P., Purcell, A. H., & Lindow, S. E. (2004). Cell – cell signaling controls *Xylella fastidiosa* interactions with both insects and plants.

- [31] Janse, J. D., & Obradovic, A. (2010). *XYLELLA FASTIDIOSA* : ITS BIOLOGY, DIAGNOSIS, CONTROL AND RISKS, 9.

- [32] Hopkins DL., 1981. Seasonal concentration of Pierce’s disease bacterium in grapevine stems, petioles, and leaf veins. *The American Phytopathological Society* 71, 415–418.

- [33] Sherald J.L., Lei J.D., 1991. Evaluation of a Rapid ELISA Test Kit for Detection of *Xylella fastidiosa* in Landscape Trees. *The American Phytopathological Society*, 1991. DOI: 10.1094/PD-75-0200.

- [34] Hartung J., 1994. Citrus Variegated Chlorosis Bacterium: Axenic Culture, Pathogenicity, and Serological Relationships with Other Strains of *Xylella fastidiosa*. *Phytopathology* 84. 10.1094/Phyto-84-591.

- [35] Lee RF., Beretta MJG., Derrick KS., Hooker MF.,1992. Development of a serological assay for citrus variegated chlorosis – a new disease of citrus in Brazil. *Proceedings Florida State Horticultural Society* 105, 32–34.

- [36] Carbajal D., Morano KA., Morano LD., 2004. Indirect immunofluorescence microscopy for direct detection of *Xylella fastidiosa* in xylem sap. *Current Microbiology* 49, 372–375.

- [37] Djelouh K., Dfrasher D., Valentini F., D'onghia AM, Digiario, M., 2014. Direct tissue blot immunoassay for detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees. *Phytopathologia Mediterranea* 53(3), 559-564. DOI: http://dx.doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-14603

- [38] Modesti V., Pucci N., Lucchesi S., Campus L., Loreti S., 2017. Experience of the Latium region (Central Italy) as a pest-free area for monitoring of *Xylella fastidiosa* : distinctive features of molecular diagnostic methods. *European Journal of Plant Pathology* 148, 557–566.

- [39] Harper S. J., Ward L. I., Clover G. R. G., 2010. Development of LAMP and Real-Time PCR Methods for the Rapid Detection of *Xylella fastidiosa* for Quarantine and Field Applications. *Phytopathology* 100,1282-1288.

- [40] Francis M., Lin H., Cabrera-La Rosa J., Doddapaneni H., Civerolo EL., 2006. Genome-based PCR primers for specific and sensitive detection and quantification of *Xylella fastidiosa*. *European Journal of Plant Pathology* 115, 203–213.

- [41] Ouyang P., Arif M., Fletcher J., Melcher U., Ochoa Corona FM., 2013. Enhanced Reliability and Accuracy for Field Deployable Bioforensic Detection and Discrimination of *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*, causal Agent of Citrus Variegated Chlorosis Using Razor Ex Technology and TaqMan Quantitative PCR. *PLoS ONE* 8(11): e81647. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081647>

- [42] Yuan, X., Morano, L., Bromley, R., Spring-pearson, S., Stouthamer, R., & Nunney, L. (2010). Multilocus Sequence Typing of *Xylella fastidiosa* Causing Pierce ' s Disease and Oleander Leaf Scorch in the United States, *100*(6), 601–611.
- [43] Saponari, M., Boscia, D., Nigro, F., & Martelli, G. P. (2013). IDENTIFICATION OF DNA SEQUENCES RELATED TO *XYLELLA FASTIDIOSA* IN OLEANDER, ALMOND AND OLIVE TREES EXHIBITING LEAF SCORCH SYMPTOMS IN APULIA (SOUTHERN ITALY), *95*, 5442911.
- [44] Saponari, M., Loconsole, G., Cornara, D., Yokomi, R. K., Stradis, A. D. E., Boscia, D., ...Porcelli, F. (2014). Infectivity and Transmission of *Xylella fastidiosa* by *Philaenus spumarius* (Hemiptera : Aphrophoridae) in Apulia , Italy, (1989), 2–5.
- [45] Wilson, M., Turner, J., & McKamey, S. (2009). Sharpshooter leafhoppers (Hemiptera: Cicadellinae). An illustrated checklist. Part 1: Old World Cicadellini - Studies in terrestrial and freshwater biodiversity and systematics from the National Museum of Wales.
- [46] Zajac, M. A., & Wilson, M. C. (1984). The effects of nymphal feeding by the meadow spittlebug , *Philaenus spumarius* (L.) on strawberry yield and quality, *3*, 167–175.
- [47] Horsfield, D. (1977). Relationships between feeding of *Philaenus spumarius* (L .) and the amino acid concentration in the xylem sap, 259–266.
- [48] Germain, J.-F. (2016). *Philaenus spumarius* - Fact sheet.
- [49] Cornara, D., Cavaliere, V., Dongiovanni, C., Altamura, G., Palmisano, F., Bosco, D., & Porcelli, F. (2016). Transmission of *Xylella fastidiosa* by naturally infected *Philaenus spumarius* (Hemiptera , Aphrophoridae) to different host plants, *141*, 80–87. <https://doi.org/10.1111/jen.12365>.
- [50] ONSSA .2017. Maladies à *Xylella fastidiosa* un risque phytosanitaire pour le secteur arboricole au Maroc.