

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LAVIE

DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

**Etude comparative entre les variétés d'agrumes et leur résistance
vis-à-vis de la *Tristeza***

Projet de fin d'Etudes en vue d'obtention
du diplôme de Master II en sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Biologie des interactions plantes-microorganismes

Présenté par : Mlle. Guettouche Fadhila

Devant le jury composé de :

Mr BENCHABANE M.	Professeur	U.S.D.B 1	Président
Mme BELKAHLA H.	Professeur	U.S.D.B 1	Promotrice
Mme SABRI K.	M.A.A	U.S.D.B 1	Examinatrice
Mme OUKLI K.	M.A.A	U.S.D.B 1	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2012/2013

DEDICACES

Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys, je souhaite que cette soutenance fasse signe de persévérance et que je sois enchantée par notre travail honoré

A ma très chère mère AICHA

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mon très chère Père HOCINE

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

A mon très cher frère NASRO

Mon cher frère qui m'est le père, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

A mes très chères sœurs FAIZA son époux TOUFIK, BARIZA et son époux WALID, SELWA, KHOULOUD

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.

A ma très chère amie SAIDA

Malgré la distance, vous êtes toujours dans mon cœur. Je vous remercie pour votre hospitalité sans égal. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A ma chère KHAOULA BENSADOK

Présente dans tous mes moments par son soutien moral et ses belles surprises sucrées. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de réussite.

A SARA MEKKI pour son encouragement que dieux vous protège.

A tout l'équipe virologie spécialement les PFE KARIMA, SABRINA, ASMA, AMINA, MOHAMED, DJAMIL.

A HOUSSAM. *En témoignage de respect, je vous remercie pour vos conseils inoubliables durant mes études.*



Je dédie cette thèse 

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail

J'exprime d'abord mon profond remerciement à mon Dieu qui m'a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Je fais devoir d'adresser le témoignage de mon gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à me permettre de mener ma tâche à fin.

Mes remerciements s'adressent en premier lieu à Mme. BELKAHLA H. pour son encadrement scientifique et sa disponibilité. Sa direction judicieuse a permis de focaliser et de guider nos efforts dans un itinéraire précis afin d'aboutir aux objectifs recherchés.

Mes remerciements s'adressent aussi à Mr BENCHABANE. « Présidente du Jury » et Mme SABRI.K et Mme OUAKLI K « Examineurs » qui nous ont honoré en acceptant de juger notre travail.

Je tenais enfin à remercier tout le corps d'enseignements qui ont participé à notre formation et plus particulièrement les enseignants de spécialité BIPM et spécialement au chef d'option.

SOMMAIRE

Remerciement	
Dédicace	
Sommaire	
Résumé	
Summary	
Abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. La plante hôte	3
I.1 Origine et historique.....	3
I.2 Exigences agro-climatique.....	3
I.3 importance des agrumes.....	4
I.4 Maladies infectieuses des agrumes.....	6
I.5Présentation des porte-greffes utilisés pour les agrumes	8
II.Etude du CTV	9
II.1 : Généralités.....	9
II.2 : Etude de la particule virale.....	11
II.3 : Symptômes.....	12
III. Etude du puceron vecteur	17
III. 1-Généralités.....	17

III.2-Classification des pucerons vecteurs.....	17
III.3 Symptômes et dégâts	17
III.4 -Cycle biologique de puceron	18
III.5 Puceron vecteur de la Tristeza	18

CHAPITRE II.MATERIELS ET METHODES

I. Prospection et échantillonnage	25
I.1-Source d'inoculum.....	25
I.2-Sites prospectés	25
I.3-Méthode d'échantillonnage.....	30
I.4-Conservation des échantillons	32
II. Etude symptomatologique	32
III. Détection virus de la <i>Tristeza</i>.....	32
III.1.Détection sérologique.....	32
III.2.détection biologique.....	38

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Diagnostic symptomatologique du <i>CTV</i>.....	42
II. Résultats de détection sérologique.....	46
II.1 Résultat de test ELISA.....	46
II.2 Résultats du test DTBIA.....	47
III. Résultats de détection biologique.....	48
III.1 Résultat d'identification des populations aphidiennes.....	48

III.2 Taux d'infestation par puceron.....	49
III.3.Transmission par pucerons	50
III.4.Résultat de l'indexage biologique	50
VI. Evolution de la maladie.....	52
Conclusion et perspectives.....	53

RESUME :

Etude comparative entre les variétés d'agrumes et leur résistance vis-à-vis de la *Tristeza*

Le déclin rapide des agrumes est causé par le virus le plus destructeur des agrumes, le *Citrus Tristeza closterovirus (CTV)*, qui est largement répandu dans le monde, conséquence du mouvement de matériel infesté, principalement les arbres Meyer originaires de Chine. La transmission du virus, selon le mode semi-persistant, est aussi assurée par plusieurs espèces de pucerons, particulièrement le *Toxoptera citricida* et *A. gossypii*. La vigilance et le contrôle systématique des produits agricoles au niveau des frontières des pays de l'Afrique du Nord s'imposent pour empêcher l'entrée de ce virus ou de ses vecteurs biologiques. Une stratégie harmonisée du contrôle de ce virus et de ses vecteurs au niveau des pays du bassin Méditerranéen est une nécessité urgente. En Algérie, les tests sérologiques ont confirmés la présence du CTV dans les régions de la Mitidja et Hadjout, la DAS-ELISA et le test DTBIA ont montré l'évolution de cette maladie de 4.65% (2001) à 33% (2011) depuis la détection. Différents vecteurs potentiels du CTV ont été inventoriés, avec des capacités de transmission du virus fluctuantes d'un vecteur à l'autre, on a pu à travers cette étude établir que *Aphis gossypii* était le plus efficace.

Mots clés : *Tristeza*, *Aphis gossypii*, *Toxoptera citricida*, DAS-ELISA, DTBIA, Algérie, Mitidja, Hadjout.

ABSTRACT

Comparative study enters the varieties of citrus fruits and their resistance with respect to *Tristeza*

The fast decline of citrus fruits is caused by the most destroying virus of citrus fruits, *Citrus Tristeza closterovirus* (CTV), which is largely widespread in the world, consequence of the movement of infested material, mainly the Meyer trees originating in China.

The transmission of the virus, according to the semi-persistent mode, is also ensured by several species of plant louses, particularly *Toxoptera citricida* and *A. gossypii*. The vigilance and the routine inspection of the agricultural produce on the level of the borders of the countries of North Africa are essential to prevent to enter it this virus or of its biological vectors. A harmonized strategy of the control of this virus and its vectors on the level of the Mediterranean country is an urgent need. In Algeria, the tests serologic confirmed the presence of *the CTV* in the areas of Mitidja and Hadjout, Das-Elisa and test DTBIA showed the evolution of this disease of 4.65% (2001) to 33% (2011) since detection. Various potential vectors of *the CTV* were inventoried, with fluctuating line capacities of the virus of one vectors to the other, one could through this study establish that *Aphis gossypii* was most effective.

Key words: *Tristeza*, *Aphid gossypii*, *Toxoptera citricida*, Das-elisa, DTBIA, Algeria, Mitidja, Hadjout.

ملخص

دراسة مقارنة بين أنواع الحمضيات و مقاومتها للتريستيزا

التدهور السريع للحمضيات يسببه فيروس التريستيزا الأكثر تدميرا للحمضيات

التريستيزا وهو ذو انتشار واسع في أنحاء العالم وانتشاره يعود إلى إستيراد مواد الإكثار من شكل ماير القادمين من الصين تساهم عدة أنواع من المن في نقل الفيروس بطريقة شبه باقية وخاصة *Aphis gossypii* و *Toxoptera citricida*

اليقضة و المراقبة المنظمة للمنتوجات الزراعية على مستوى حدود بلدان إفريقيا الشمالية واجبة لمنع دخول هذا الفيروس أو نواقله البيولوجية. إستراتيجية موحدة لمراقبة هذا الفيروس ونواقله في بلدان الحوض المتوسط ضرورة حتمية في الجزائر الفحوص المصلية أكدت وجود هذا الفيروس في منطقة المتيجة و حجوط. الفحوص DAS-ELISA و DTBIA أظهرت تطور هذا المرض من 4.56% إلى 33% منذ اكتشافه.

عدة نواقل أساسية للفيروس تم جردها مع قدرات للنقل متفاوتة من ناقل إلى آخر. إستعنا من خلال هذا العمل إثبات أن *Aphis gossypii* هو الناقل الأكثر فعالية.

الكلمات المفتاحية: تريستيزا، الجزائر، متيجة، حجوط، *Aphis gossypii*, *Toxoptera citricida*,

Liste des abréviations :

ARN: Acide ribonucléique

BSA : Sérum Albumine Bovine

CP: protéine capsidiale

CTV : *Citrus Tristeza Virus.*

DTBIA: Direct tissue Blot Immunoassay

ha: hectare

HEL: hélicase

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Fig: Figure

mm: millimètre

mn : minute

Mt: methyltransferase;

nm: nanomètre.

ORF: cadre de lecteur ouvert et leur produit de transcription.

Pltes: plantes

PNPP: le paranitro-phenyl phosphate

PRO: papain-like protease;

RdRp: ARN dépendant, ARN polymérase,

Var : variété

Ves : vésicule

BCIP-NBT: 5-bromo-4-chloro-3'-indolyphosphate p-toluidine salt- nitro-blue tetrazoliumchloride

La liste des figures

Figure 1: Proportions variétales de la production mondiale des agrumes.....	P4
Figure 2: Principales espèces d'agrumes en Algérie.....	P5
Figure 3 : Comparaison entre agrumiculture et d'autres cultures fruitières Algérienne.....	P6
Figure 4 : Répartition géographique de la <i>Tristeza</i> dans le monde.....	P10
Figure 5 : Particules du CTV (GX 80.000).....	P11
Figure 6 : Organisation du génome du CTV.....	P12
Figure 7 : Symptômes du CTV sur les feuilles de lime mexicaine.....	P13
Figure 8: Subérification des nervures.....	P13
Figure 9: Déformation sur les plantes indicatrices de la lime mexicaine, symptôme de jaunisse.....	P14
Figure 10 : Symptôme de nid d'abeille, réduction de qualité du fruit, stem Pitting..	P14
Figure 11 : Symptôme de dépérissement.....	P15
Figure 12: Striure du bois.....	P15
Figure 13 : Photo électronique montrant l'ultra structure des cellules de lime mexicaine infectées par CTV.....	P16
Figure 14 : <i>Aphis gossypii</i> sur la face inférieure d'une feuille de concombre Dégât sur les jeunes rameaux population.....	P19
Figure 15: Population d' <i>A.Spiraecola</i>	P20
Figure 16: Individu de <i>T. aurantii</i> , dégât sur feuille, population de <i>T.aurantii</i>	P21
Figure 17: Population de <i>T. citricida</i> individu ailé de <i>T.citricida</i>	P22
Figure 18: Aire de répartition et mouvement de <i>T.citricida</i> dans le monde.....	P23
Figure 19 : Différence entre <i>T.aurantii</i> et <i>T. Citricida</i>	P24
Figure 20 : Population de <i>Myzus persicae</i> , individu ailé de <i>Myzus persicae</i>	P24

La liste des figures

Figure 21 : Image satellite de l'exploitation 1.....	P25
Figure 22 : Image satellite de l'exploitation N°10.....	P27
Figure 23 : Image satellite de l'exploitation N°13.....	P28
Figure 24 : Plan parcellaire de l'exploitation N°18.....	P30
Figure 25 : Schéma représentatif du Protocole du monitoring.....	P31
Figure 29 : Principe du test ELISA.....	P34.35
Figure 27 : Empreintes d'une coupe des ovaires des fleurs sur les membranes de nitrocellulose.....	P36
Figure 28 : Blocage de la membrane dans une solution de BSA.....	P37
Figure 29 : Membrane avec le conjugué.....	P37
Figure 30 : Révélation des membranes.....	P38
Figure 31 : Observation à la loupe binoculaire.....	P38
Figure 32 : Schéma représentatif du protocole de collecte des pucerons.....	P39
Figure 33 : Les différents vecteurs de <i>CTV</i>	P42
Figure 34 : Enroulement des feuilles.....	P43
Figure 35 : Tache annulaire.....	P44
Figure 36 : Jaunissement des feuilles.....	P44
Figure 37 : Eclaircissement des nervures.....	P44
Figure 38 : Dessèchement des feuilles.....	P45
Figure 39 : Forme en cuillère des feuilles.....	P45
Figure 40 : Dessèchement des branches.....	P46
Figure 41 : Dépérissement complet des arbres.....	P46
Figure 42 : Taux d'infection de différentes variétés étudiées par test ELISA.....	P47

La liste des figures

Figure 43 : Taux d'infection des variétés étudiées par DTBIA.....	P48
Figure 44: Puceron noir (<i>Toxoptera aurantii</i>), (<i>Aphis spireacola</i>) observé durant la campagne 2010-2011	P50
Figure 45: Taux d'infestation par pucerons	P51
Figure 46: Symptômes de jaunissement apical sur bigaradier	P52
Figure 47: Résultat de la transmission par pucerons virulifère : A : taches sur la face supérieure des feuilles ; B:déformation des feuilles en forme de cuillère	P53
Figure 48: Evolution de la maladie depuis sa détection jusqu'au 2011.....	P54

Liste des tableaux

Tableau N°1: Recensement des études réalisés sur la *Tristeza*.....P2

Tableau N° 2: Principales maladies infectieuses des agrumes.....P7

Introduction :

Le mot agrume est d'origine italienne désignant les fruits comestibles et par extension les arbres qui les portent appartenant au genre *Citrus* (**Loussert 1985**). Ce genre inclus également d'autres fruits tels que les mandarines, les clémentines et les satsumas, les citrons jaunes et verts ainsi que les pamplemousses. (**Loussert 1987**). Le principal produit transformé à partir d'agrumes est le jus d'orange

Les agrumes sont le groupe de fruits le plus cultivé dans le monde et représentent la première production fruitière mondiale (80 millions de tonnes en 1995-96) (**Aubert et Vullin., 1997**). La libéralisation du commerce, ainsi que les avancées technologiques en matière de stockage et de transport ont engendré une globalisation de l'industrie des agrumes. Ces derniers et leurs produits dérivés constituent une part importante des échanges internationaux. (**Imbert 2007**).

Sur la période 2000-2004 la production annuelle s'est élevée à plus de 105 millions de tonnes, et a atteint 115 millions de tonnes en 2008 juste avant le groupe des bananes (106 millions), et très loin devant le raisin (69 millions) ou pomme (64 millions) (**Loeillet 2008**).

L'agrumiculture est l'une des principales activités de l'arboriculture algérienne ; elle représente 9,8% des surfaces arboricoles, occupant ainsi la quatrième place après l'olivier (35,9%), les espèces à noyaux et à pépins (24,9%) et le palmier dattier (21,7%). La région de la Mitidja est classée première avec 37% de la production totale des agrumes (**Merouani 2009**).

La *Tristeza* peut être considérée comme ayant été la maladie virale la plus destructrice pour les agrumes, durant le siècle dernier, la maladie a détruit près de 50 millions d'arbres d'agrumes dans le monde (**Reza Fifaei et al., 2007**).

Des millions d'arbres greffés sur Bigaradier ont été décimés par le CTV, en Argentine, au Brésil, aux Etats-Unis, en Espagne et au Venezuela. Le CTV, apparemment originaire d'Asie, a été disséminé dans toutes les aires agrumicoles mondiales par des échanges internationaux de matériel végétal contaminé. De plus, l'introduction de *T.Citricidae* puceron brun des agrumes, excellent vecteur de la maladie, a facilité la propagation régionale de ce virus. Ce dernier a été détecté en Algérie par :

Tableau N°1: Recensement des études réalisés sur la *Tristeza*

Etude	campagne	variétés	Région d'étude
(Elferran 2005)	2001-2002 2002-2003	Citronnier, Orangier de variété <i>Thomson</i> , <i>Washington navel</i>	Station expérimentale d'agronomie Blida, Boufarik, Chebli, Mouzaia
(Bouafia 2011)	2005-2006 2006-2007	Citronnier, clémentinier, d'orangers de variété : <i>double fine</i> , <i>valencia late</i> et <i>Washington navel</i> , Thomson	Station expérimentale d'agronomie Blida, Sidi issa, Boufarik, Chebli, Mouzaia, Hadjout.
(Alloune 2011 et Moudoud 2012)	2010-2011	Citronnier, clémentinier, d'orangers de variété : <i>Washington navel</i> , Thomson, Portugaise, Pamplemoussier, Tarocco, Satsuma, Salustiana	Station expérimentale d'agronomie Blida, Guerrouaou, Soumàa, Boufarik, Chebli, Mouzaia, Hadjout.
(Bouzidi et Guettouche 2012)	2011-2012	Orangier de variété : Thomson navel <i>Washington navel</i> , <i>valencia late</i> 248, <i>valencia late</i> 247, Shambar, March, Sed less, Red blwsh, Java	Station expérimentale d'agronomie Blida, Guerrouaou, Boufarik, Mouzaia, Hadjout.

Notre étude avait pour objectifs suivants:

- Prospection dans la plaine de la Mitidja
- Comparaison des variétés et leur résistance vis-à-vis de la *Tristeza*.
- Evolution de la *Tristeza* dans la plaine de la Mitidja depuis sa détection
- Evaluation des infestations des pucerons vecteurs du *CTV*.

I. La plante hôte :

I.1 Origine et historique :

Les agrumes sont originaires des pays du sud-est asiatique et plus particulièrement de la partie basse de la chaîne de l'Himalaya où leur culture se confond avec l'histoire des civilisations chinoises (**Loussert 1985**). Mais leur origine géographique exacte n'est pas clairement identifiée (**Iftikhar et al, 2009**). Les chinois et les indiens connaissaient déjà le cédratier, la Kumquat et le popélo il ya 4000 ans et commencèrent à le cultiver 1000 ans avant Jésus-Christ (**Liu 2001**).

Les portugais introduisent l'oranger en méditerranée aux environs de l'an 1400 bien après le voyage de Marco polo en Chine 1287 et c'est à partir du bassin méditerranéen et grâce aux grandes découvertes que les agrumes furent diffusés dans le monde (**Loussert 1989**).

Le bassin méditerranéen constitue toutefois une importante zone de diversification pour trois espèces majeures au plan économique : les orangers, les mandariniers et les citronniers. Le pomelo, hybride naturel du pamplemousse, est un des rares agrumes commercialisés et est originaire des Caraïbes (**Zemzami 2009**).

En Algérie, l'introduction des orangers est ancienne avant l'arrivée des Français sans qu'il soit possible de la dater avec précision (**Murtin 1969**) et 1850 marque une première étape importante dans l'histoire de nos agrumes. Le mandarinier fut introduit en faveur des colons (**Rebour 2005**).

I.2 Exigences agro-climatique :

Les agrumes sont des espèces subtropicales qui se développent dans les zones où le gel est absent. L'activité de croissance commence à 13°C et se poursuit jusqu'à 36°C. Le zéro de végétation admis est de 12 à 8°C. Les agrumes subissent deux périodes de dormance :

1. une dormance d'été qui se produit en jours longs et chauds.
2. une dormance d'hiver survenant en jours courts et froids.

Une humidité atmosphérique pendant la saison chaude peut provoquer des attaques de *phytophthora* et les vents secs d'été amplifient la chute des fruits. Les agrumes se développent sur des sols aussi différents que les alluvions peu argileuses, des sols argileux, des sols sableux que des sols noirs très argileux (**Anonyme 2003**).

I.3 importance des agrumes

I.3.1 Au niveau mondial :

L'agrumiculture est la culture la plus importante au niveau mondiale et est pratiquée dans 140 pays (**Zemzami 2009**). La production mondiale d'agrumes se situe autour de 100 millions de tonnes dont 60% sont consommés localement en frais, 30% sont destinés à la transformation et 10% à l'exportation (**Anonyme 2006**).

Cette production comprend 61% d'orangers (Navel, Maltaises, sanguines, Valencia late...) 22% de petits fruits (Satusma, Clémentines, Mandarines...), 12 %de limons (Citrons, Limes) et 5% de pamplemousses et pomelo (**Khan 2007**) (Fig.1).

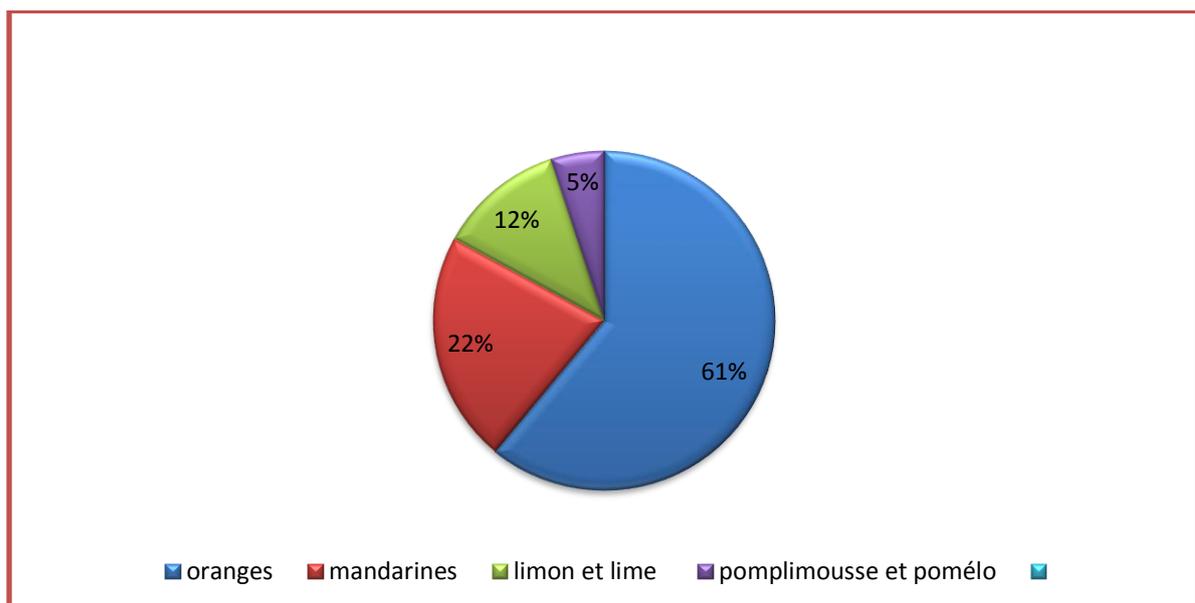


Figure1: Proportions variétales de la production mondiale des agrumes (Khan 2007).

I.3.2 En Algérie :

L'agrumiculture Algérienne est économiquement importante d'une part par contribution dans l'approvisionnement en fruit et d'autre part par sa participation potentielle dans l'exportation et par mobilisation de l'emploi direct (**Adamou et al., 2005**). Elle couvre une superficie de 63.589, ha avec une production de de 16,7 tonnes en 2009 (**Bellabas 2010**). Ce potentiel est concentré sur une grande partie au centre de la Mitidja, qui représente 30% de la production totale des agrumes (**Benzarga 2010**) , à l'Ouest dans la région de Rélizane ,Mostaganem ,Mascara et Telemcen , et à l'Est dans la région de Skikda et El-Taref (**Baci 1995**). Le verger agrumicole regroupe l'ensemble d'espèces d'agrumes les organiers, les mandariniers, les citronniers et les pomelos (**Chouaki et al., 2006**) (Fig.2).

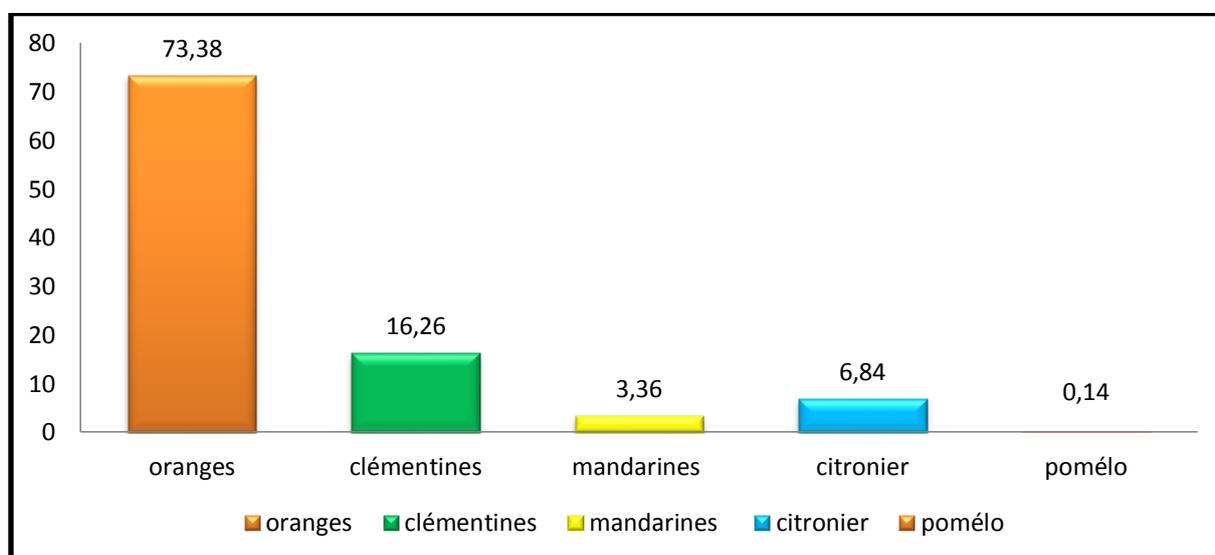
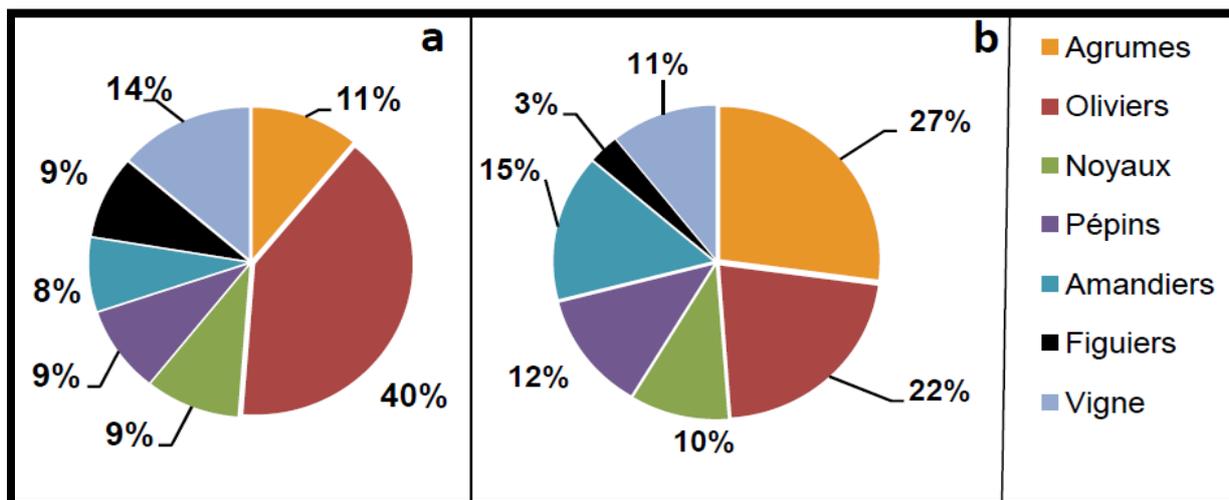


Figure2: Principales espèces d'agrumes en Algérie (Bellabas 2010)

Ainsi la superficie agrumicole de la wilaya de Blida est de 16,583 ha assurant une production de 2.487.792qx. La plupart de ces vergers se localisent à Boufarik, Mouzaia, oued eleulleuig à Larbaa (**Annexe**).



(A) pourcentage de superficie (B) pourcentage de production

Figure 3 : Comparaison entre agrumiculture et d'autres cultures fruitières Algériennes (ITAFV 2007).

I.4 Maladies infectieuses des agrumes :

Les maladies des agrumes sont nombreuses et diversifiées, causées par des ravageurs et des agents pathogènes (virus, viroïdes, phytoplasmes, bactéries, champignons (**Tableau N° 2**)).

Tableau N°2 : Principales maladies infectieuses des agrumes.

Agent responsable	Maladie	Références
Bactérie	Huanglongbin (HLB)	(Anonyme 2003).
	Chlorose variegue des agrumes	(Anonyme 2006).
	Chancre des agrumes	(Loussert 1987).
Champignon	Gommose a phytophthora	(Wyss 1949).
	Pourridies	(Kolbezen 1974
	Fumagine	Loussert 1985)
	Pourriture brune phytophthora <i>sp</i>	(Anonyme 1976).
	Mal secco	(Gentile et <i>al.</i> ,1992).
Phytoplasmes	Stubborn	(Tahiri2007).
Virus	Psoroses	(Klotz et Fawcett 1952)
	Quick Decline ou tristeza	(Wallace et Darke 1972), (Bové 2008).
Viroïde	Citrus exocortis	(Praloran 1971).

I.5 Présentation des porte-greffes utilisés pour les agrumes :

Sur le plan phytosanitaire, la *Tristeza*, déjà présente en méditerranée, constitue une menace du fait de l'utilisation massive du Bigaradier (*Citrus aurantium* L.) comme porte-greffe. Le Bassin méditerranéen s'est spécialisé dans la production et la commercialisation de fruits frais. Les exigences de qualité des fruits pour ce type de marché sont très contraignantes et dépendant en grande partie du choix du porte-greffe. Celui-ci permet l'adaptation des variétés aux conditions pédoclimatiques ainsi qu'aux pressions phytosanitaires, mais il joue également un rôle important sur les rendements et la qualité interne et externe des fruits. La station de recherches agronomiques (SRA) Inra-Cirad de San Giuliano en Corse a dès 1964, mis en place les premiers essais de sélection de porte-greffe en association avec le clémentinier.

Près de 160 porte-greffes ont été testés et évalués depuis ces 40 ans d'expérience ont permis de sélectionner deux porte-greffes plus performants que le Bigaradier qui sont le *Citrangle Carrizo* (*Citrus sinensis*(L.)Burm.x *Poncirus trifoliata*(L.) rapide et rendements plus élevés pour une qualité des fruits comparable à celle produite par le Bigaradier. Mais la Corse n'a pas les mêmes contraintes que le reste de la Méditerranée, c'est pour cela qu'aujourd'hui la SRA participe à la réflexion sur le remplacement du Bigaradier dans d'autres pays du Bassin méditerranéen.

Les premiers résultats d'essais menés conjointement au Maroc et en Italie montrent d'importantes différences de comportement entre les sites pour un même porte-greffe. Mais elles ne satisfont pas forcément en termes de rendement et qualité des fruits. Les méthodes d'hybridations somatiques apparaissent particulièrement bien adaptées pour y répondre. Le **FLHOR-AG1** (Mandarine commune *Citrus deliciosa* Tan. *Poncirus trifoliata* (L.), issu d'un tel programme, est déjà à l'étude et semble prometteur face aux contraintes de Bassin méditerranéen. (D'Onghia et al., 1998).

II. Etude du CTV :

II.1. Généralités :

II.1.1. La maladie de la *Tristeza* :

La *Tristeza* est la maladie la plus destructrice dans la plupart des régions produisant des agrumes dans le monde (**Çevik 2001; Nurhadi et al., 2003; Papayiannis et al., 2007.**), c'est la maladie la plus économiquement préjudiciable, qui a mené à la mort des millions d'arbres partout dans le monde et a rendu d'autres millions inutiles pour la production (**Bown et al., 1988 ; Atta et al., 2011**)

II.1.2. Historique :

L'origine de *Tristeza* est probablement asiatique (**Garnsey et al., 2005**), mais cette maladie a été mise en évidence pour la première fois en Afrique du sud en 1910 (**Herron, 2003**) et a ensuite été décrite dans tous les pays agrumicoles mondiaux (Leblanc et al., 1998) tels que l'Argentine en 1930 (**Cambra et al., 2000**), Brésil en 1937 (**Ayers 2001 ; Batista et al., 2008**), Mexique (la première détection en 1983 dans l'état de Tamaulipas et en 1986 à Veracruz), Californie en 1939 (**Stubbing et al., 2009**). Frezal l'identifiât pour la première fois en Algérie sur le Citronnier Meyer en 1957 (**Frezal 1957**), puis par Bové et Blondel sur mandarinier, Satsuma greffé sur bigaradier en 1967.

II.1.3 Classification :

le *Citrus Tristeza Virus* appartient au genre *Closterovirus* de la famille *Closteroviridae* (**Satyanayana et al., 2002; Nolasco et al., 2009; Wang et al., 2009**) est l'agent causal d'une des maladies la plus économiquement importante des agrumes à l'échelle mondiale (**Pappu et al., 1995; Broadbent et al., 1996; Ayllon et al., 1999; Albiach-Marti et al., 2000; Amin et Falk 2009; Yokomi et al., 2010**).

II.1.4 La répartition géographique :

Ce virus est largement répandu dans les zones tropicales productrices d'agrumes il est presque signalé dans les quatre continents l'Afrique, l'Amérique, l'Asie (**Bové & Vogel 1981**) (Fig.4).

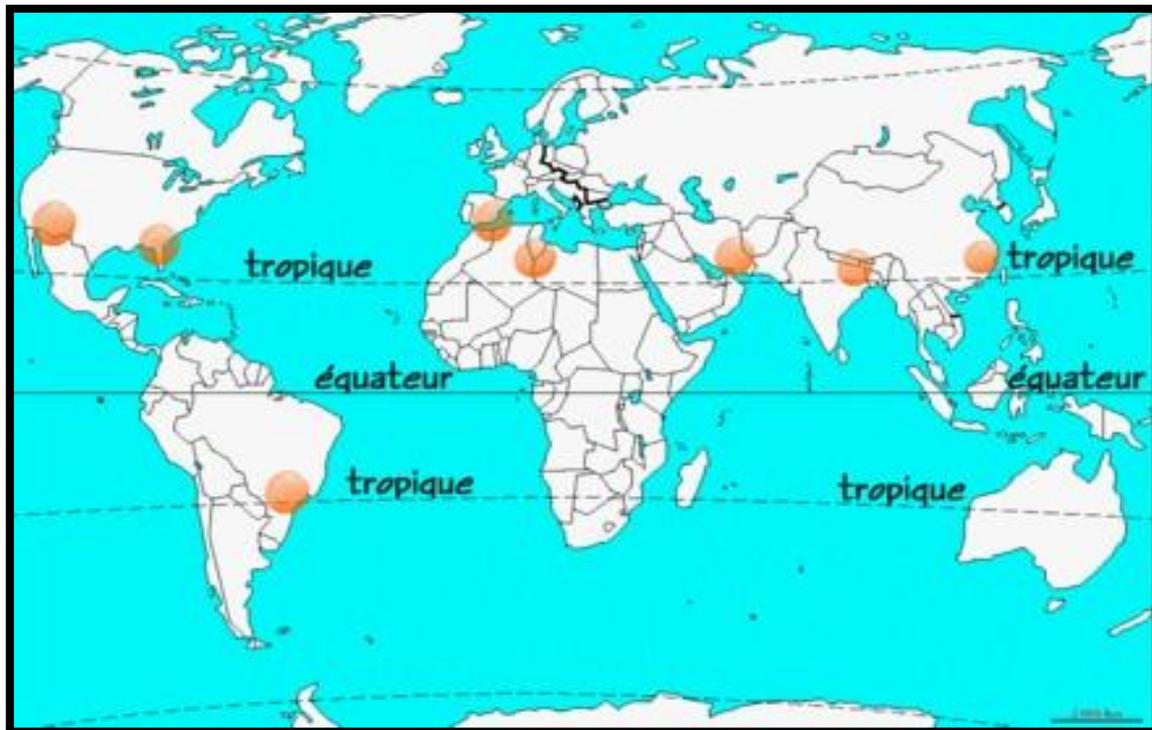


Figure 4 : Répartition géographique de la *Tristeza* dans le monde
(Bénédicte et Bachés 2001)

II.1.5 L'impact socio-économique :

Le virus de la *Tristeza* cause des pertes importantes dans les zones de production d'agrumes dans le monde. Il provoque la mort des millions d'arbres infectés de la plupart des cultivars d'agrumes sauf (citronnier) greffés sur bigaradier (**Kubba et al., 2009**). Entre les années 30 et 40 dans les pays d'Amérique du sud le CTV a détruit 30 millions d'arbres et dans les années 80 laissant plus de 20 millions d'arbres morts ou improductifs dans les pays d'Amérique centrale (**Fang 1998**).

II.2 .Etude de la particule virale :

II.2.1. Propriétés morphologiques :

La *Tristeza* est un *virus* à structure taxonomique indéfinie (**Martelli 1994**). Sous microscope électronique, le CTV apparait sous forme d'une particule filamenteuse, non enveloppée couramment flexible (**Bar-joseph et al.,1970**) d'une longueur de 2000 nm sur 10-12 nm de largeur (**Iracheta-Cardenas et al., 2002; Lee et Bar-joseph 2000; Folimonov et al.,2007; Folimonove et al.,2008**)(Fig.5).



Figure 5 : Particules du CTV (GX 80.000) (Stewart,2006)

II.2.2. Propriété moléculaire :

Le virus de la *Tristeza* est constitué d'un simple brin d'ARN d'environ $6,5 \times 10^6$ Da (**Iracheta-Cardenas et al., 2002**), à sens positif (**Yokomi et al.,2005**). Le génome est formé de 193 nucléotides (**Karasev et al.,1995**) avec 23 protéines capsidiales (CP) couvrant 95% de la longueur de la particule et la protéine de la couche de divergence « dcp » présente à une seule extrémité de la particule formant une structure en serpent (**Gargo-Zachert et al.,1999**) . A la « dcp » réside la fonction de la transmission par les aphides (**Gargo et al.,2007**). Entre les 2 protéines (CP et dcp) existe 4 régions de séquence de conservation (Domaine I, II, III, IV) (**Agranovsky et al., 1995**)(Fig.6).

II.2.3-organisation génomique:

L'étude réalisée par (Karasev et al.,1995) sur l'isolat T36 de Florida a permis de distinguer l'organisation génomique suivante :



Figure 6 : Organisation du génome du CTV (Gowda et al.,2003)

Légende:

ORF : cadre ouvert de lecture et leur produit de transcription, **PR**: papain-like protease;

Mt: méthyltransférase; **HEL**: hélicase

RdRp : ARN dépendant, ARN polymérase, **CP** : protéine capsidiale

II.3 Symptômes :

II.3.1-symptômes macroscopiques :

L'attaque du CTV commence toujours par la zone apicale de la soudure du porte-greffe au greffon ; où le virus bouche les vaisseaux du phloème et les faisceaux périphériques entourant ce dernier (Lee 2000). Ainsi les arbres atteints par le CTV présentent des signes de dépérissement ; rabougrissement et striures du bois. Les fruits sur arbres infectés sont souvent petits et de mauvaise qualité. La Tristeza se caractérise également par la présence des symptômes foliaires typiques chez certaines espèces, qui consistent à des éclaircissements et subérification des nervures suivi de jaunissements et déformations des feuilles de limetier forme de cuillère (Bar-joseph et al.,1989; Guerri et al.,1990; Ghorbel et al.,2001; Bar-joseph et al., 2010)

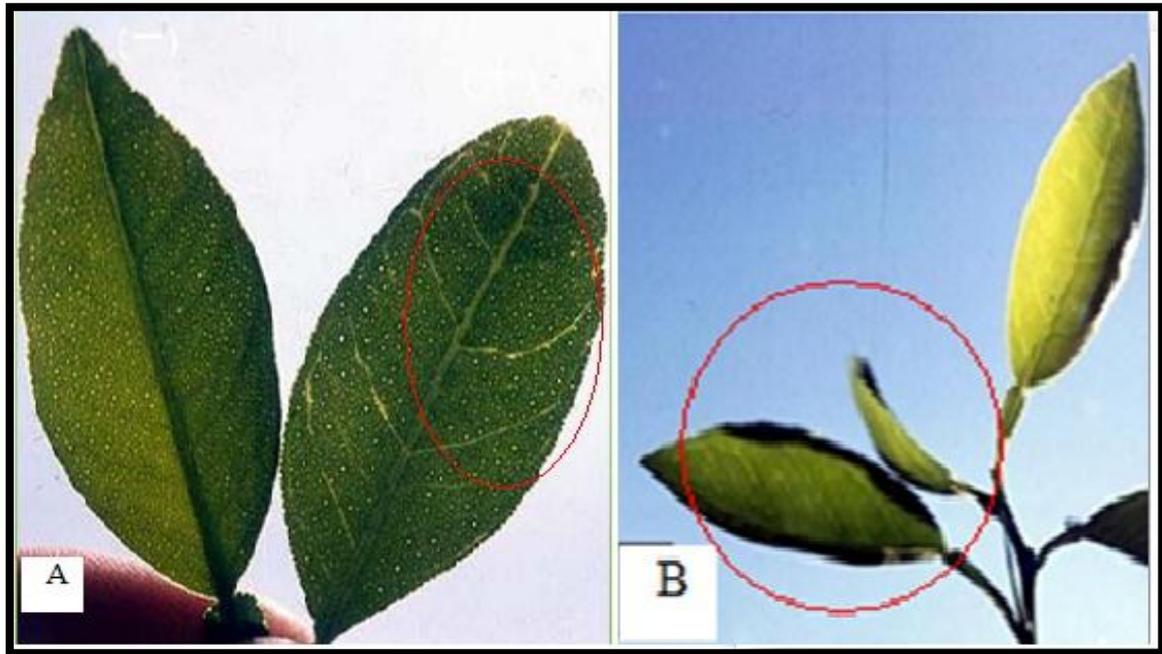


Figure 7 : Symptômes du CTV sur les feuilles de lime mexicaine : A : éclaircissement des nervures (Zemzami 2009) ; B : déformation des feuilles (Stubbing et *al.*, 2009).



Figure 8: Subérification des nervures (Zemzami 2008)



(A)

(B)

Figure 9:(A) Déformation sur les plantes indicatrices de la lime mexicaine, (B) symptôme de jaunisse (Roistacher1991)



Figure 10 :(E) Symptôme de nid d'abeille, (F) réduction de qualité du fruit (G) stem Pitting. (Zemzami 2009)



Figure 11 : Symptôme de dépérissement (Lbida et al.,2004)



Figure 12: Striure du bois (Zemzami2008)

II.3.2. Symptômes microscopiques :

Les expériences réalisées ont montré que l'infection des plantes indicatrices lime mexicaine [*Citrus aurantifolia* (L.)] et 'Madamvino' [*Citrus sinensis* (L.)] par le CTV est courante dans le parenchyme du phloème et dans les cellules voisines et est moindre dans les éléments de vaisseaux criblés matures. Donc la plupart des effets s'observent dans les cellules du phloème, incluant : la dégradation des chloroplastes, la vésiculation des mitochondries et l'invagination des membranes nucléaires (Zhou et al., 2002) (Fig. 13).

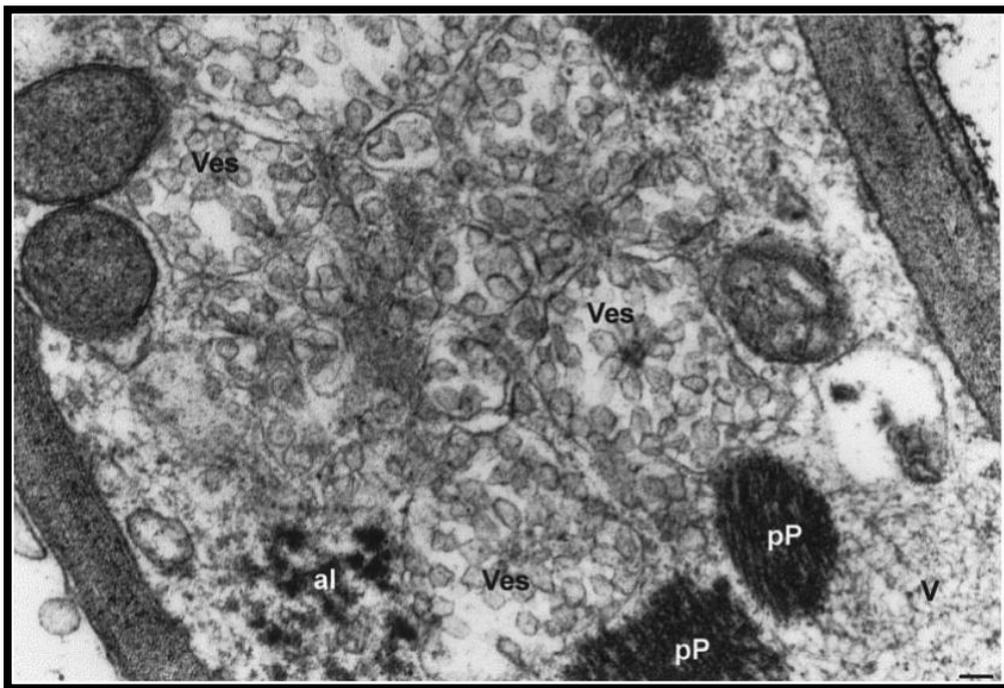


Figure 13 : Photo électronique montrant l'ultra structure des cellules de lime mexicaine infectées par CTV, accumulation des grandes particules du virus (V), des agrégats de protéines (Pp), des corps d'inclusions amorphes (al), vésicules typiques (Ves) dans une cellule de parenchyme de phloème (Bar=100 (Satyanarayana et al., 2001)).

III. Etude du puceron vecteur :

III. 1.Généralités :

Les pucerons sont des insectes piqueurs suceurs très communs, ils se caractérisent par leur apparition massive sous forme de colonies denses et serrées. Ils s'installent pratiquement sur tous les organes végétatifs mais on les observe le plus fréquemment sur le feuillage et les jeunes pousses. **(Djoudi et al., 2004)**.

III.2-Classification des pucerons vecteurs:

Les pucerons appartiennent à :

Section : *Sternoryncha* (antennes dépourvues de fouet)

ordre : *Hémiptères* ou *Rhynchoes*

sous-ordre : *Homoptères*

super-famille : *Aphidoidea*

famille : *Phylloxeridae, Adelgidae, Eriosomatidae, (Cambra et al., 2000)*

III.3 Symptômes et dégâts :

Les dégâts directs occasionnés par les pucerons sont dus à la ponction de la sève des feuilles des rameaux, des tiges ou des racines, entraînant l'enroulement et la crispation des jeunes feuilles et par la suite, la réduction du développement des pousses. Les dégâts indirects sont dus essentiellement à la transmission des virus **(Grissa 2010)**. Des travaux ont montré qu'environ 72% des pertes sont dues à l'alimentation des pucerons **(Rabing 1981)**. Ainsi les pertes causées par les pucerons se caractérisent comme suit **(Hoffmann et Frodsham1993)**

-La partie supérieure de feuille devient brillante grâce au miellat sécrété par les pucerons.

-Jaunissement et enroulement des feuilles et des jeunes pousses suite à l'alimentation des pucerons de la sève élaborée.

-Formation et propagation de la pourriture noire des agrumes.

- Apparition des fourmis.

III.4 -Cycle biologique de puceron

Les pucerons se multiplient rapidement, se dispersent facilement sur de longues distances. Ils présentent une vie sous plusieurs formes (aillés et aptères) et cela selon les conditions environnementales (**Hoffmann et Frodsham 1993**). Le temps d'une génération est rendu très court grâce à un mode de reproduction asexué (parthénogénétique) et à une viviparité. Une femelle parthénogénétique donne naissance à d'autres femelles parthénogénétiques, sans avoir été fécondée par des mâles (**Hullé et al., 1999**) en évitant la sexualité et le stade œuf, les pucerons réalisent une économie d'individus. Au printemps, une semaine suffit au développement d'une génération donc on parle d'anholocyclie. Ce type de cycle se rencontre dans les régions à hiver doux (**Hullé et al., 1999**). Il existe des pucerons qui changent de plantes hôtes en hiver et d'autres non. Les pucerons qui hivernent sur d'autres plantes hôtes présentent une reproduction asexuée sur l'hôte estival ; pendant l'hiver, ils migrent sur d'autres hôtes et se reproduisent sexuellement (**Malais et Ravensburg 1992**)

III.5 Puceron vecteur de la *Tristeza* :

Au niveau du verger, le virus est transmis selon le mode semi-persistant par plusieurs espèces de pucerons telles que *T.citricida*, *A. gossypii*, *A. spiraecola*, *T. aurantii* et *M. persicae* (**Lee et al., 1994; Bar Joseph et al., 1979; Brown et al., 1988; Lee 2000**).

III.5.1-Genre *Aphis*

A. *Aphis gossypii* Glover :

Aphis gossypii ou puceron du cotonnier est une espèce de puceron de petite taille mesurant environ 1,5 à 1,8 mm de long. La coloration de son corps varie suivant l'hôte végétal: verdâtre, rougeâtre ou brunâtre, d'une teinte mate (**Celini 2001**) (Fig14).

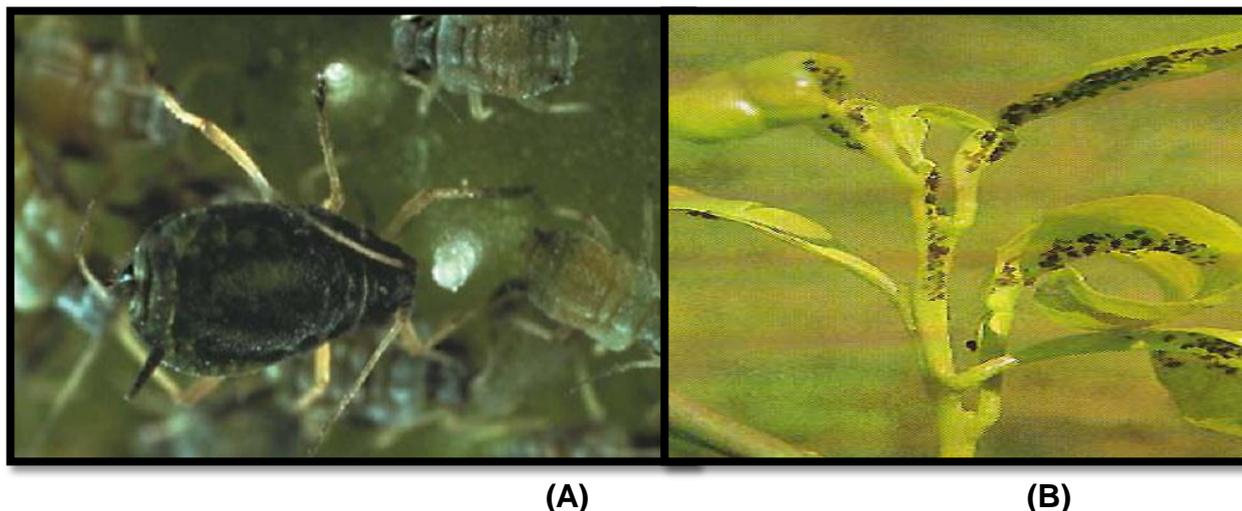


Figure 14 : (A) *Aphis gossypii* sur la face inférieure d'une feuille de concombre (Celini 2001) (B) Dégât sur les jeunes rameaux (Yokomi & Garnsey 1987).

➤ **Biologie :**

L'espèce est très polyphage, montrant une prédilection pour les Cucurbitacées et les Malvacées (Cotonnier, Mauve, Hibiscus). Ce puceron fréquente également les agrumes (Roistacher et al.,1980). Sur cultures légumières, ses ravages s'exercent notamment sur la courgette, le Melon, le Concombre, l'Aubergine et le Fraisier (Fauque et Thouvene 1984,). Dans les pays dont le climat est tempéré, comme l'Italie, le puceron se reproduit toujours par parthénogenèse. Les périodes de plus grande activité se situent au printemps et en automne. Aux Etats-Unis, l'espèce peut être homocyclique, avec, comme hôte primaire, *Catalpa*, *Rhamnus* ou *Hibiscus*. Ce ravageur résiste très bien aux chaleurs estivales, et peut développer près d'une soixantaine de générations par an (Schirmer et al.,2008).

***B. Aphis spiraecola* Patch**

Aphis spiraecola ou le puceron vert est un insecte de petite taille, environ 2 mm de long, de couleur vert clair à jaune vert. Les pucerons ailés ont en général une couleur

beaucoup plus foncée, brun foncé le plus souvent, sauf l'abdomen qui est verdâtre. Les pattes sont toujours noires. (D'onghia et al.,1998)(Fig. 15)



Figure 15: Population d'*A. Spiraecola* (Fauque&Thouvene1984)

➤ **Biologie:**

Le puceron *A. spiraecola* est une espèce anholocyclique dans toute l'Europe où elle est limitée aux régions méridionales. La biologie du puceron des agrumes peut être différente, l'espèce pouvant pratiquer une reproduction sexuée sur ses hôtes primaires qui sont des *Citrus* (Hullé et al.,1999). Plusieurs générations se développent au cours de l'année sur les *Citrus* où l'on dénombre plus de 40 générations par an. Dans le bassin méditerranéen, l'espèce est monophage et se reproduit par parthénogenèse. Les femelles aptères sont présentes surtout au début de la saison et pendant la période froide; elles sont les fondatrices de nombreuses colonies larvaires au printemps. Les femelles ailées sont observées particulièrement pendant les périodes plus chaudes de l'année et leurs pullulations sont moins importantes. (Djoudi et al., 2004)

III.5.2 Le genre *Toxoptera* :

- *Toxoptera citricida*
- *Toxoptera aurantii*

***A. Toxoptera aurantii*(Boyer de fonscolombe) :**

Le puceron *T. aurantii* ou le puceron noire a un corps de couleur foncé ce qui le distingue des autres espèces de pucerons. Les adultes aptères sont noirs brillant. Les antennes et les pattes sont de couleur alternativement claires et foncées (rosâtre et brunâtre le plus souvent). Le puceron adulte mesure environ 2 mm de long(Andriantianarivo, 2000)(Fig16).

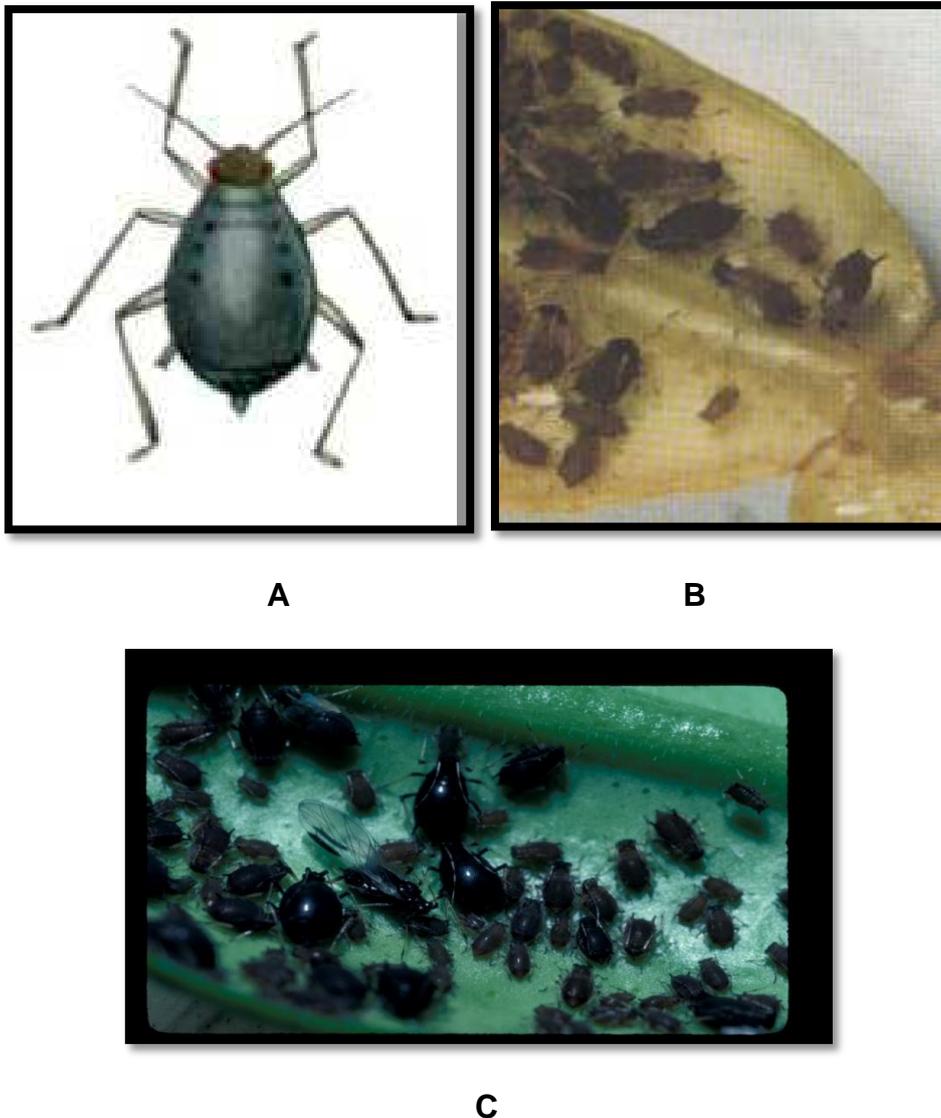


Figure 16: (A) Individu de *T. aurantii*, (B) dégât sur feuille (Denmark, 1963)

(C) population de *T. aurantii*

B. *Toxoptera citricida*

C'est une espèce qui a été observée la première fois par Kirkcaldy en 1907 (Rochapena et al., 1995). Appelée communément le puceron marron des *Citrus* (BrCA) ; c'est l'espèce la plus efficace dans la transmission du CTV (Carver 1978). Les plantes hôtes principales sont les *Citrus* ssp.

➤ Morphologie :

L'adulte est vigoureux, de taille moyenne de 1,5 à 2,4 mm de longueur, luisant, marron rougeâtre à noir. Les individus ailés peuvent être identifiés, avec une loupe,

par leur 3^{ième} segment antennaire totalement noir suivi d'un 4^{ième} segment pale. La nervure médiane des ailes antérieures est normalement ramifiée. Les siphoncules mesurent environ 1/6 de la longueur du corps et sont fortement sculptés, la partie caudale est arrondie en forme de bulbe à son extrémité. *T. citricida* se rencontre principalement dans les régions tropicales humides et sans doute originaires du sud-est asiatique. Dans le passé, *T. citricida* souvent été confondu avec *T. aurantii*, de nombreux signalements de ce dernier correspondent à *T. citricida*, mais rarement dans l'autre sens. Un ravageur redoutable, vecteur efficace du CTV et puceron colonisateur des agrumes (**Stoezal 1994**) (Fig.17)

➤ **Biologie :**

C'est une espèce polyphage. Les femelles sont parthénogénétiques et une génération se développe en 6 à 8 jours. Le potentiel de reproduction dépend plutôt de l'abondance de la sève. Les femelles ailées donnent naissances à des nouvelles infestations. La fréquence de vol est en corrélation avec les précipitations, il y a généralement 2 vols journaliers, entre 9 et 11 h et entre 17 h et le crépuscule (**Taylor 1958**).



(A)

(B)

Figure 17: (A) Population de *T. citricida* (B) individu ailé de *T. citricida* (Zemzami 2008)

➤ **Répartition géographique :**

Le puceron *T. citricidase* rencontre principalement dans les régions tropicales humides et est sans doute originaire du sud-est asiatique; puis s'est disséminé ensuite sur les agrumes dans d'autres régions tropicales (**Fauque et Thouvene 1984; Michaud 1989**) et également dans des régions à climat méditerranéen (**Stoezal 1994**) (Fig.18).

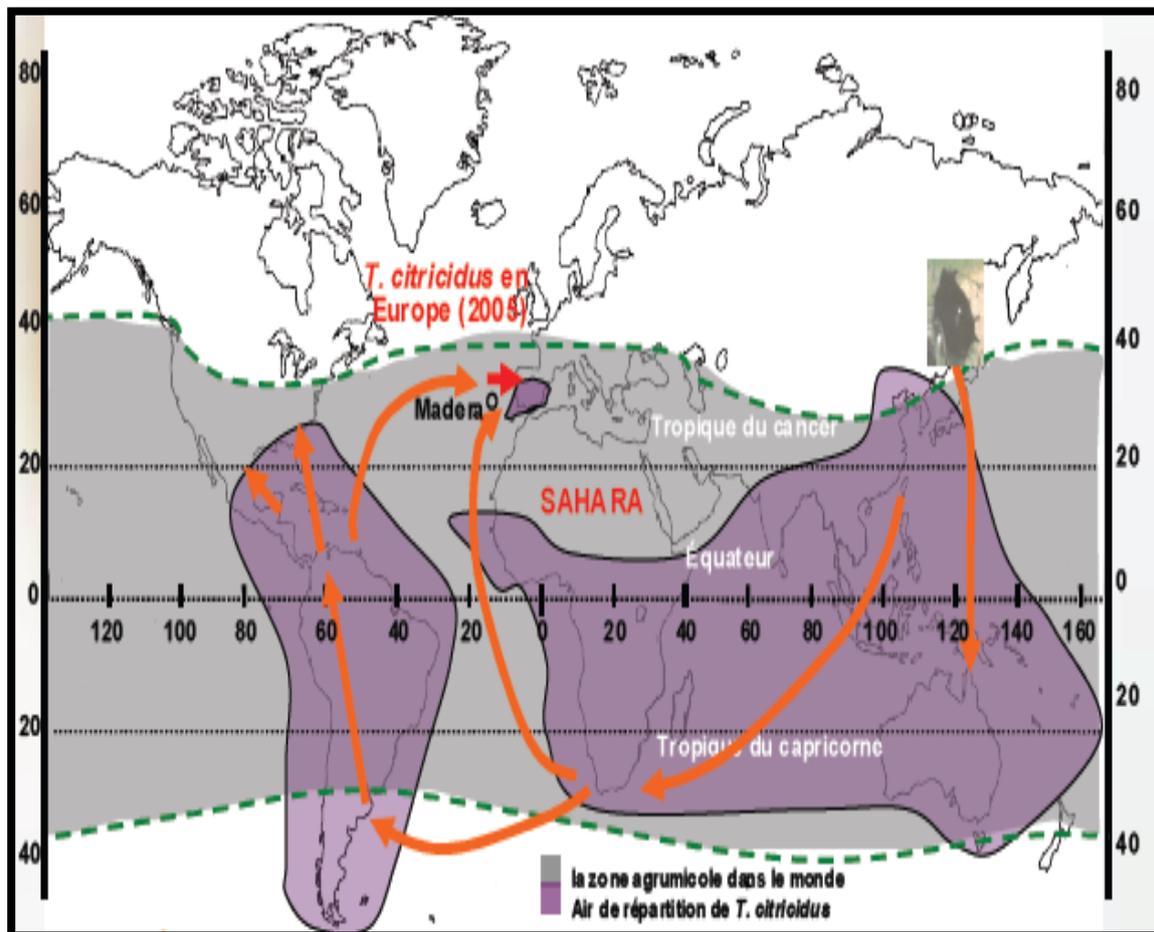


Figure 18: Aire de répartition et mouvement de *Toxoptera citricida* dans le monde

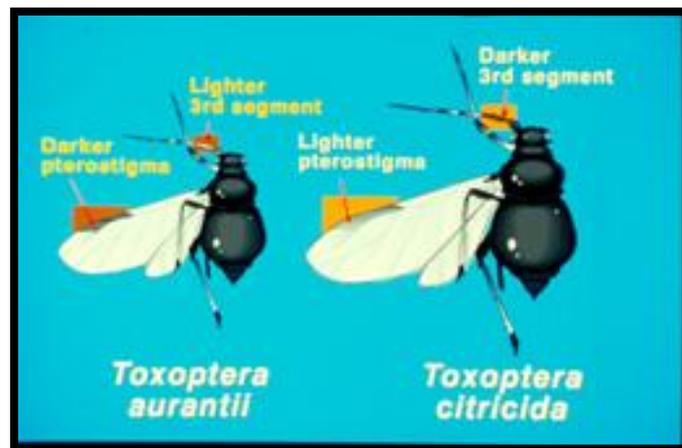


Figure 19 : Différence entre *T.aurantii* et *T. Citricida*

III.5.3 *Myzus persicae* (sulzer) :

Ce puceron est particulièrement dangereux comme vecteur de virus (jaunisse modérée de la Betterave (*BMYV*) selon le mode non persistant). Il colonise de nombreuses plantes herbacées (gueule de loup, bégonia, calcéolaire, œillet, fuchsia, primevère, tulipe...).

La femelle aptère est d'une longueur de 1,2 à 2,5 mm par rapport à l'ailé qui mesure entre 1,4 à 2,3 mm de long. La couleur de la tête et le thorax est brun-noirâtre et l'abdomen vert à vert-jaunâtre et souvent rosâtre, avec une tache foncée sur le dos. Les cornicules sont assez longues à cauda triangulaire (**Hullé et al.,1999**).



Figure 20 :(A) Population de *Myzus persicae*, (B) individu ailé de *Myzus persicae* (Lbida et al.,2004)

I. Prospection et échantillonnage :

I.1-Source d'inoculum

Le CTV a été extrait à partir d'échantillons collectés sur vergers d'agrumes durant les campagnes 2001-2002,2002-2003,2005-2006,2006-2007,2010-2011 et 2011-2012 (Avril-mai) soit à partir des feuilles dans le cas d'utilisation du test ELISA soit partir des fleurs (fleur fermée) pour le test DTBIA dans des régions agrumicoles de la Mitidja, l'oranger, le citronnier et le mandarinier.ont utilisées comme source d'inoculum .

I.2-Sites prospectés :

Les prospections ont été effectuées dans la wilaya de Blida, la station expérimentale du Département d'agronomie, 10 sites à Boufarik, 2 sites a Chebli, uniquement un seul site à Guerrouaou, à Sidi-Issa, et à Mouzaia, 2 sites dans la wilaya de Tipaza.

1. exploitation 1 :

La superficie du verger est de 0,25 ha comportant des arbres de variétés *Thomson navel* (119 arbres). Les variétés sont plantées de manière alternée, l'irrigation est uniquement basée sur les eaux de pluie, ainsi qu'un seul traitement a été effectué durant la période d'apparition des pucerons (Fig.21)



Figure 21 : image satellite de l'exploitation 1.

2. Exploitation 2 :

Le site est nommé : EAC4 Saïfi Yahia qui présente les variétés suivantes : *Valencia* 4ha, *Thomson* 6ha, *Clémentine morial* 3ha, *Washington navel* 10 ha, et agrumes variés 9 ha.

3. Exploitation 3:

C'est un verger de 5 ha composé uniquement de la variété *Thomson* greffée sur bigaradier, cette exploitation appartient à un particulier, elle se trouve à Boufarik et est mitoyenne à la station régionale de protection des végétaux (SRPV), l'irrigation repose seulement sur les eaux de pluies.

4. Exploitation 4 :

Située au périmètre d'irrigation de la Mitidja Ouest présentant une diversité d'arboriculture avec une superficie de 18 ha divisées en Agrumiculture (12 ha) et pommier (6ha) .L'agrumiculture est dominante avec 4ha de *Thomson* ; 2ha de *Mandarine* et 6ha de *Citronniers*.

L'eau d'irrigation provient di barrage Bou-roumi et un forage. Les traitements phytosanitaires sont effectués selon un calendrier de l'agriculteur.

5. Exploitation 5:

C'est une plantation qui présente une diversité arboricole intéressante d'une superficie totale de 25ha, elle est composée de *Citrus* de la variété *Thomson* et *Washington navel* mais aussi d'abricotier et de pécher.

L'irrigation se fait par aspersion, grâce à l'eau fournie par des périmètres d'irrigation de la Mitidja provenant de barrage de Bou-roumi.

6. Exploitation 6:

Une serre astreinte de l'ITAFV, avec une grande diversité variétale d'agrumes, spécialisée dans les travaux d'indexage et contrôle de porte greffes ; présence d'un très grand nombre de plants de Lime mexicaine.

7. Exploitation 7:

Elle est située à l'extrême sud de l'université de Blida, à vocation agrumicole se spécialisant dans la culture de citronnier, ces derniers sont âgés de 10 ans, le verger comporte également des cultures maraichères intercalaires : Tomate, pomme de terre, oignon et ail ; Le verger est irrigué deux fois par semaine.

8. Exploitation 8 :

C'est un verger de 7 ha comprenant des orangers Thomson âgés de 10 ans, le porte greffe utilisé est le bigaradier, ce verger est irrigué deux à trois fois par semaine, aucun traitement phytosanitaire n'a été fait jusqu'ici.

9. Exploitation 9:

C'est une exploitation de 8 ha composée uniquement d'oranger *Thomson* âgés de 12ans, le porte greffe utilisé est le bigaradier, Ce verger est irrigué trois fois par semaine, aucun traitement phytosanitaire n'a été fait.

10. Exploitation 10:

C'est une plantation située à l'Est de Hadjout, à vocation agrumicole et est constituée de différentes variétés d'agrumes greffées sur bigaradier et plantées en 2001. La superficie est de 22 ha(Fig. 22).



Figure 22 : Image satellite de l'exploitation 10

11. Exploitation 11 :

C'est un verger d'une superficie de 20 ha composée uniquement de clémentiniers sur porte greffe bigaradier, elle est irriguée deux fois par semaine et n'a pas reçue de traitement phytosanitaire pour la campagne 2006-2007.

12. Exploitation12:

C'est un verger de 3 ha composé uniquement de variétés de *clémentinier* greffés sur bigaradier âgées de 35 ans, alimenté par les eaux de pluies, en plus de l'irrigation et aucun traitement phytosanitaire n'est effectué.

13. Exploitation 13 :

C'est un verger parc à bois localisé à la sortie de Chiffa, d'une forme irrégulière; composé de 4 ha d'oranger variété *Thomson* et *Portugaise*, tous les arbres est âgée et greffer sur Bigaradier. Dans cette exploitation l'irrigation se fait par rigole (Fig.23).

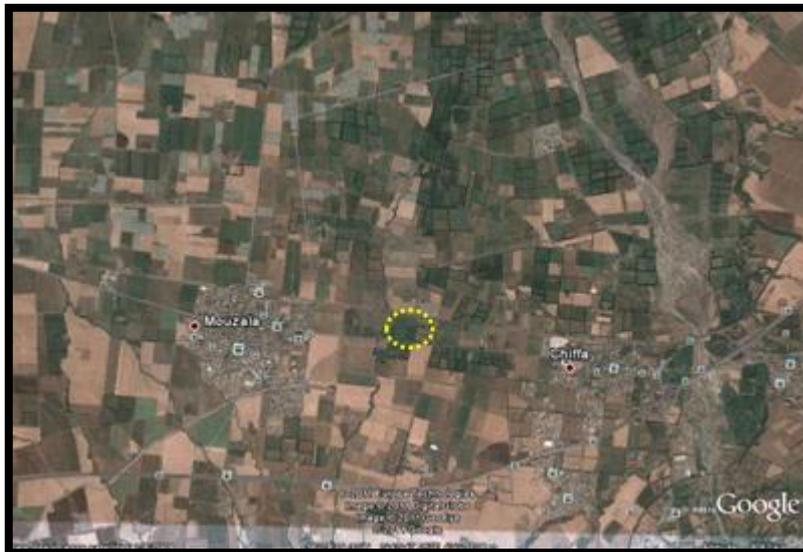


Figure 23 : Image satellite de l'exploitation N°13

14. Exploitation 14:

C'est une plantation qui présente une diversité arboricole intéressante d'une superficie totale de 11 hectares divisées en 5 hectares d'abricotiers et 6 hectares d'agrumes et 1200 plants d'oliviers utilisés comme brise vent. Les plants d'agrumes sont composé de la variété Thomson et Washington navel. Ceux sont de jeunes arbres âgés de 7 ans, greffés sur bigaradier

15. Exploitation 15:

Le site est situé dans la région de Boufarik et est composé de variétés suivantes: 3 ha *Pamplemoussier*, 5 ha *Tarocco*, 1 ha *Satsuma*, 3 ha *Salustiana* et 7 ha *Washington navel* et 20 arbres appartenant à la variété *Java*. Ces plantations datent de 1988.

16. Exploitation 16:

Ce verger est d'une superficie de 5 ha et se compose de Mandarinier avec quelques plants de citronniers et d'oranger variété Thomson greffée sur bigaradier. C'est une plantation datant de la période coloniale. Des traitements sanitaires sont effectués contre uniquement la gommose et les ravageurs.

17. Exploitation 17:

Au niveau de cette exploitation le matériel végétal est sous serre et est composé uniquement de 5 arbres appartenant à différentes variétés. *Valencia late 248*, *Valencia late 247*, *Shambar*, *March*, *Sedless*, *Redblwsh*). Dans ce verger serre toutes les conditions sont contrôlées et la température est fixée à 23°C.

18. Exploitation 18:

La superficie du verger est de 8 ha (3200 arbres) divisée en 3 micro-vergers. Le premier est âgé de 6 ans de 1,5 ha de superficie, le deuxième est âgé de 8 ans et d'une superficie de 3,25 ha et enfin le dernier, objet de nos prospections, est âgé de 9 ans et étant d'une superficie identique à celle du deuxième micro-verger (Fig.24).

Cette exploitation est d'une forme régulière, contenant des citronniers et des organiers, variété *Washington navel* greffés sur bigaradier. C'est un verger semencier ; utilisent l'olivier comme brise vent (1200 arbres). L'irrigation est basée sur les eaux de pluie.

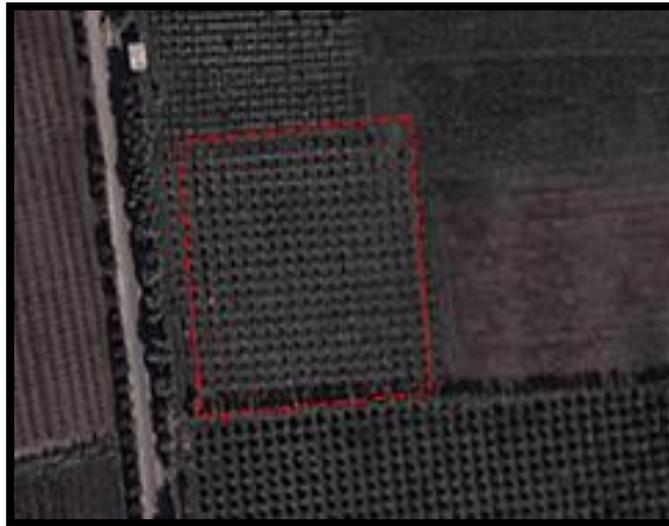


Figure 24 : Plan parcellaire de l'exploitation N°18

I.3-Méthode d'échantillonnage:

Deux techniques d'échantillonnage ont été utilisées depuis la détection de cette maladie il s'agit de l'aléatoire et la « Monitoring »:

I.3.1. Aléatoire :

Le principe de cette méthode d'échantillonnage, chaque prélèvement correspond à un seul plant, prélevé 5 ou multiple de 5 échantillons de feuille selon l'importance de la parcelle visitée et la sévérité des symptômes. Cette technique est appliquée durant les campagnes 2001-2002 et 2002-2003, le nombre des échantillons s'élève à 702 feuilles.

Durant la campagne 2005-2006,2006-2007l'échantillonnage a été faite selon l'expression des symptômes de la *Tristeza* durant la période printanière.

I.3.2. Selon le protocole dite « Monitoring » :

Dans le plan d'échantillonnage hiérarchique adopté par **(Gottwald et Hughes ; 2000)** seulement 25% de plants sont systématiquement échantillonnés. Ainsi pour collecter les échantillons, un verger d'agrumes est subdivisé en carrés composés de quatre arbres chacun. Dans ce cas il s'agit de prélever des échantillons à partir de chaque carré par alternance suivant la volée des pucerons

Au niveau de l'arbre la collecte se fait au stade de la fleur fermée, et aux 4 points cardinaux de l'arbre plus une fleur du centre c'est-à-dire 5 fleurs par arbres.

Dans le prélèvement le verger est divisé en rangées. Chaque rangée est divisée en section chaque section se compose de 4 arbres (Fig. 25).

Durant la campagne 2010-2011 ,346 échantillons collectés par **(Alloune, 2011)** ,1130 échantillons collecté par **(Moudoud, 2012)**, et 264 échantillons collectés par **(Bouzidi et Guettouche ; 2012)** et des différentes stations.

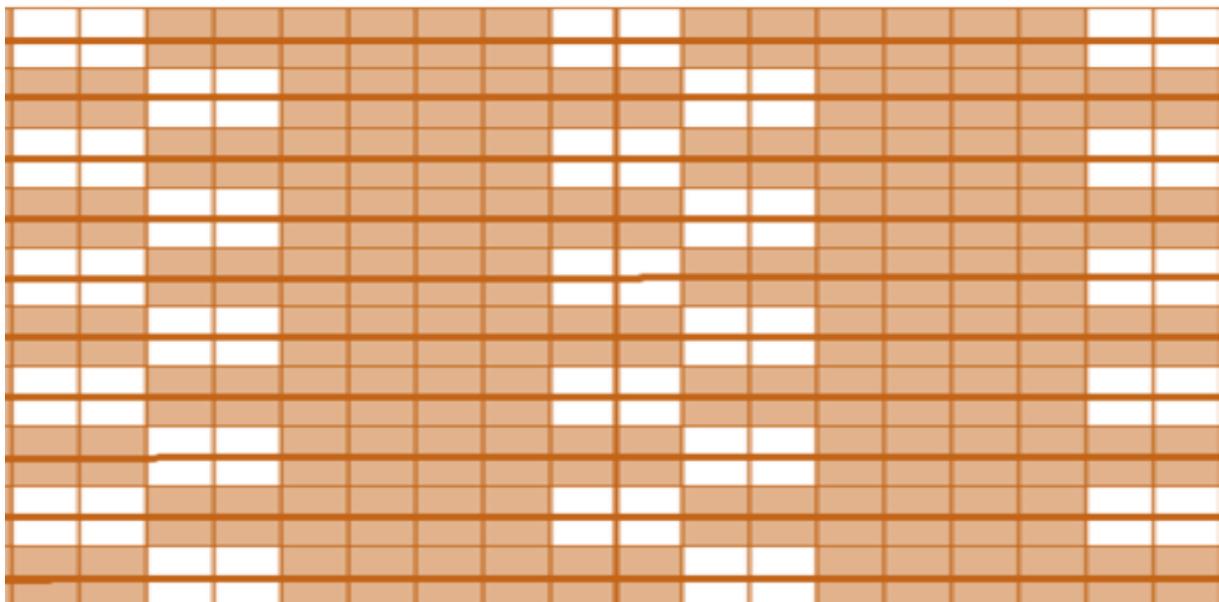


Figure 25 : Schéma représentatif du Protocole du monitoring

(Gottwald et Hughes, 2000)

Légende :



Sections claires correspond aux plants échantillonnés



Sections foncées correspond aux plants non échantillonnés.

I.4. Conservation des échantillons :

Après le prélèvement des échantillons de chaque arbre. Les échantillons sont mis dans des sacs et conservés à 4°C.

II. Etude symptomatologique :

L'observation des symptômes a été faite parallèlement avec la période de prélèvement des pucerons. Le protocole entrepris pour cette étude est le même que celui adopté pour le prélèvement de pucerons c'est-à-dire en diagonal.

III. Détection de virus de la *Tristeza* :

III.1. Détection sérologique:

III.1.1. Par le test ELISA :

III.1.1. 1. solutions tampon

Plusieurs solutions tampon ont été préparées pour réaliser le test ELISA (voir Annexe).

III.1.1.2. Préparation des échantillons

Les feuilles conservées sont broyées à l'aide de mortiers dans un tampon phosphate (PBS-T) de. A la fin de l'opération, le jus obtenu est mis dans des tubes en plastique numérotés. Chaque tube représente un échantillon. Ce jus est analysé par le test ELISA.

III.1.1.3. Principe de test ELISA

Le test ELISA est une réaction immuno-enzymatique relativement simple qui permet de mettre en évidence la présence d'un virus (antigène) à l'aide d'un anticorps marqué par une enzyme, la phosphatase alcaline, par une réaction colorée en présence du substrat de l'enzyme, le paranitro-phenyl phosphate (PNPP). L'intensité de la coloration est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 405 nm.

Il existe plusieurs protocoles. Dans notre expérimentation nous avons utilisé le test DAS-ELISA (double antibody sandwich-enzyme linked immuno sorbent assay), ou

réaction de type sandwich. Le virus présent dans les extraits de plantes à tester réagit avec les immuno-globulines G (IgG) fixé sur la plaque de microtitration. Il est ensuite mis en contact avec une préparation d'IgG spécifique couplé à l'enzyme phosphatase alcaline. La double réaction sérologique est mise en évidence par la réaction du substrat de l'enzyme, le PNPP, ce qui induit une réaction colorée dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de l'antigène fixé (**Clark et Adams 1977**).

III.1.1.4. Sérum utilisé

Pour l'identification du virus recherché, nous avons utilisé un sérum composé des anticorps polyclonaux Anti-CTV qui reconnaît toutes les souches et d'un conjugué universel provenant du laboratoire de Biorad de France.

III.1.1.5. Mode opératoire

Etape 1 : Fixation des anticorps

Les anticorps sont dilués au 1/1000 dans le tampon de fixation. La dilution se fait juste avant l'utilisation. Les anticorps sont déposés dans les puits de la plaque à raison de 100 µl/puits. Ensuite, les plaques sont mises en incubation à 37°C pendant 2 heures (les plaques doivent être couvertes)

Etape2 : Dépôt des échantillons

Après 3 lavages des plaques par le tampon de lavage, l'extrait des plantes est déposé à raison de 100 µl/puits par échantillons. Ensuite, les plaques sont mises au froid à 4° C pendant une nuit.

Etape 3 : Dépôt des anticorps conjugués

Après 3 lavages des plaques, les anticorps conjugués dilués au 1/1000 dans le tampon conjugué sont déposés dans les puits de la plaque à raison de 100 µl/puits. Ensuite, la plaque est mise en incubation à 37°C pendant 2 heures.

Etape 4 : Dépôt du substrat

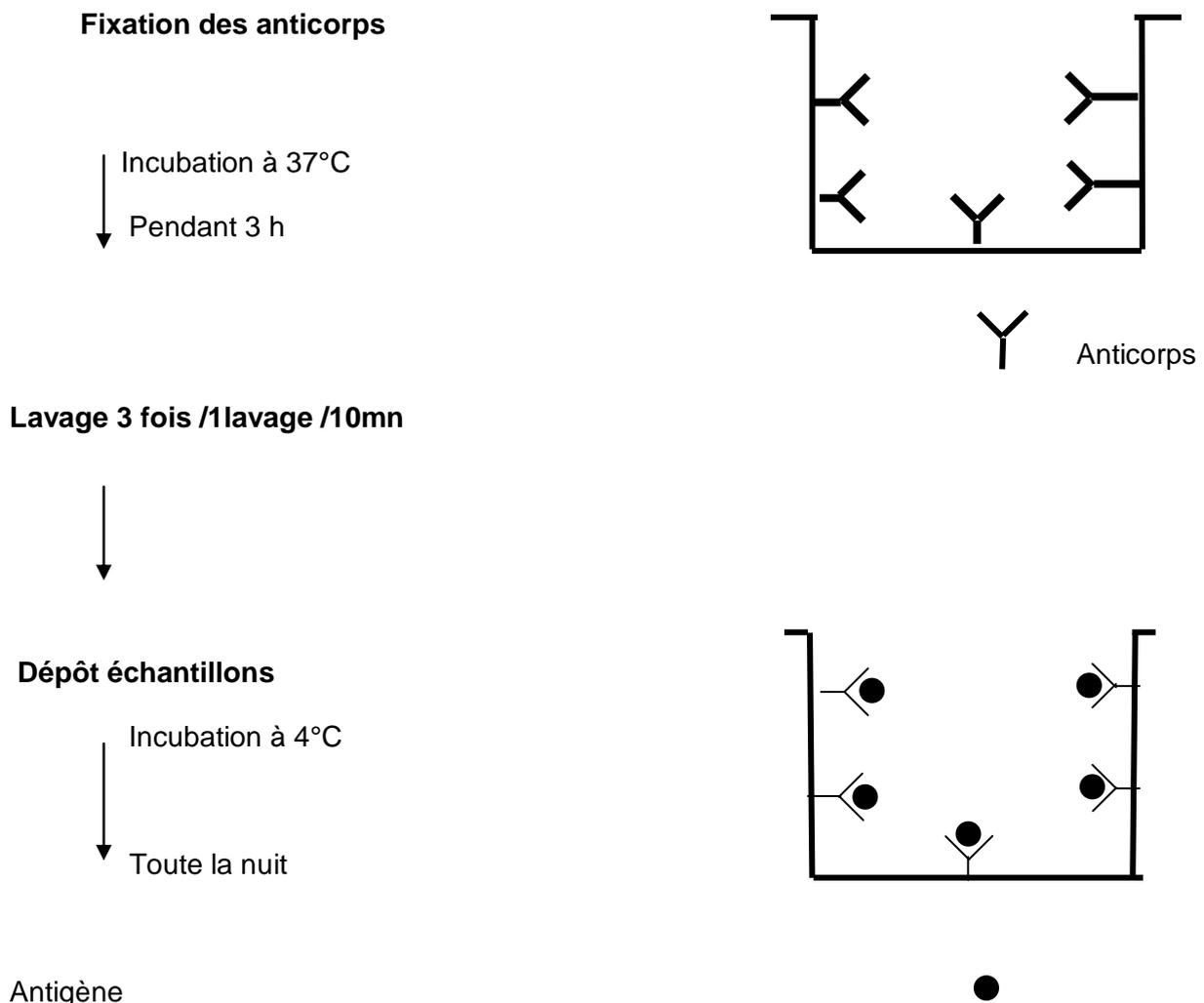
Après 3 lavages des plaques, le substrat de l'enzyme le PNPP est dilué dans sa solution à raison de 100 µl /puits et les plaques sont mises en incubation à température (18-25°C) à l'obscurité.

III.1.1.6. Lecture des résultats

Après 30 minutes à une heure d'incubation, plusieurs lectures sont faites pour suivre l'évolution de la réaction enzymatique approximativement toutes les demi-heures. Ce suivi se fait par observation visuelle des puits qui virent au jaune tandis que les mesures qualitatives se font sur spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 405 nm.

A partir de la densité optique des témoins négatifs, nous avons la possibilité de déterminer les échantillons virosés : l'échantillon est déclaré positif quand sa densité optique est supérieure à celle de la moyenne des témoins négatifs plus la somme des trois écarts type ($DO \text{ d'échantillon positif} \geq (\text{témoin négatif1} + \text{témoin négatif 2} + \text{témoin négatif 3}) / 3 + (\text{écart type1} + \text{écart type2} + \text{écart type3})$).

Dans notre cas vu l'absence du spectrophotomètre nous avons fait que des observations visuelles.



Lavage 3 fois / 1 lavage 10mn



Dépôt du substrat

Incubation à

Température
Ambiante



Lecture à 405nm

30mn ,60mn, 120mn

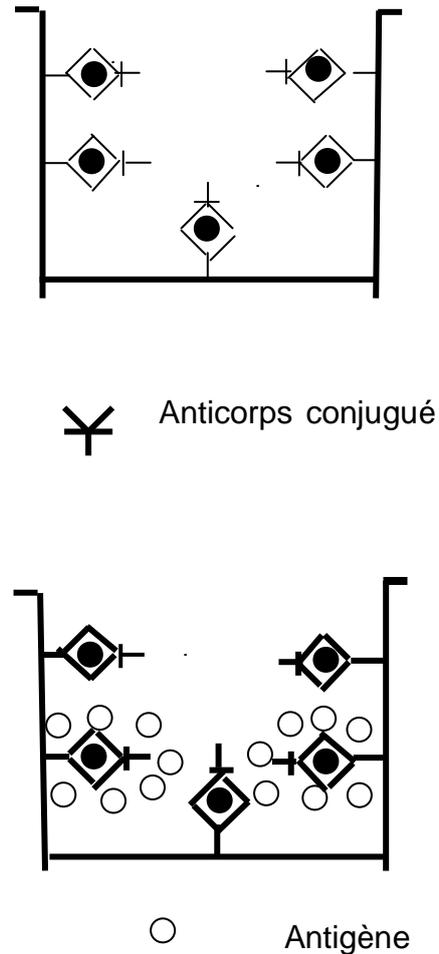


Figure 29 : Principe du test - ELISA(Clark et Adams 1977; Esterlin 1986).

III.1.1.7. Taux d'infection

Le taux d'infection ou incidence de la maladie de chaque exploitation est calculé comme suit

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

III.1.2. Par le test DTBIA

L'immunoprinting ou DTBIA (Direct tissue blot immunoassay) est une technique récemment introduite dans nos laboratoires, et appliquée selon le protocole établi par (**Garnssey et al., 1993**), en utilisant un kit commercial (plant Print, Espagne). Les surfaces lisses et finement taillées des tiges, des pétioles foliaires, et pédoncules des fruits sont pressées sur une membrane de nitrocellulose (Fig. 27). Cette dernière, contenant les empreintes des explants, séchée pendant 30 à 40 min. puis incubée pendant une nuit à température ambiante dans une solution contenant 1% de sérum d'albumine bovine (Fig. 28). Après lavage au PBS Tween (Phosphate Buffered Saline) répété 3 fois pendant 5 min, ces membranes sont déposées dans une solution contenant des anticorps monoclonaux contre le CTV (Fig. 29). Après 3h d'incubation la membrane est lavée 3 fois pendant 5 min avec la même solution de lavage utilisée auparavant puis développées en utilisant une solution contenant une pastille de BCIP NBT puis laissée à incuber (5 à 10 min). La réaction est bloquée en rinçant la membrane à l'eau de robinet (Fig. 30) et finalement observées sous une loupe binoculaire. Un échantillon est considéré positif lorsque sa couleur violée (Fig. 31)

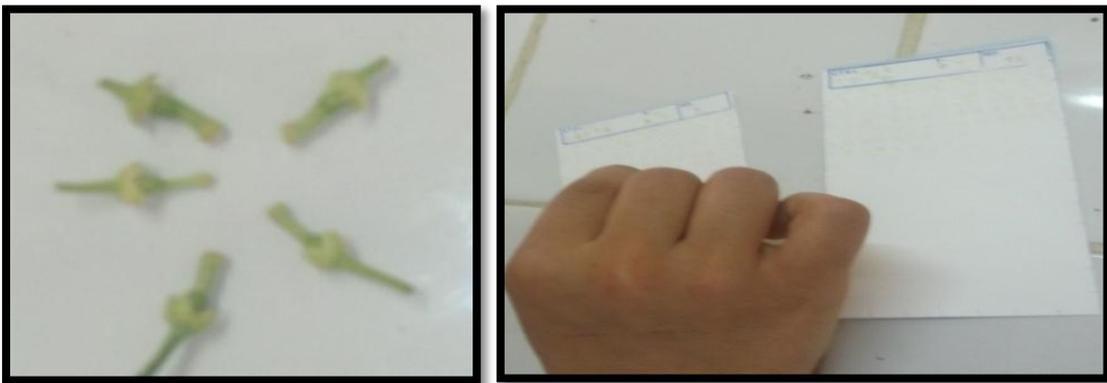


Figure 27: Empreintes d'une coupe des ovaires des fleurs sur les membranes de nitrocellulose. (Bouzidi et Guettouche, 2012)

La deuxième étape correspond au blocage de la membrane, dans une solution de BSA (Bovine Serum Albumin) à 1% et incubée pendant toute la nuit à 4°C (Fig. 28)

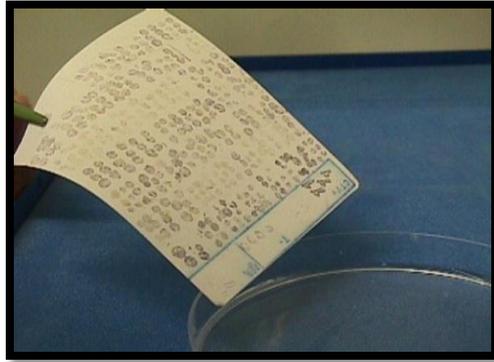


Figure 28: Blocage de la membrane dans une solution de BSA.

Lavage de la membrane au PBS Tween (Phosphate Buffered Saline) répété 3 fois pendant 5 min, l'anticorps monoclonal spécifique au CTV (Plant print) conjugué à la phosphatase alcaline et dilué à 1 :250, a été ajouté (Fig.29).



Figure 29 : Membrane avec le conjugué

Après 3h d'incubation, la membrane est lavée 3 fois pendant 5 min avec la même solution de lavage utilisée auparavant. Le développement de la membrane a été réalisé en diluant une pastille de BCIP-NBT (5-bromo- 4-chloro- 3'-indolyphosphate- toluidinesalt- nitro- blue tetrazoliumchloride) dans 10 ml d'eau distillée ; puis laissée à incubée (5à 10 min), puis la réaction est bloquée en rinçant la membrane à l'eau du robinet (Fig. 30)

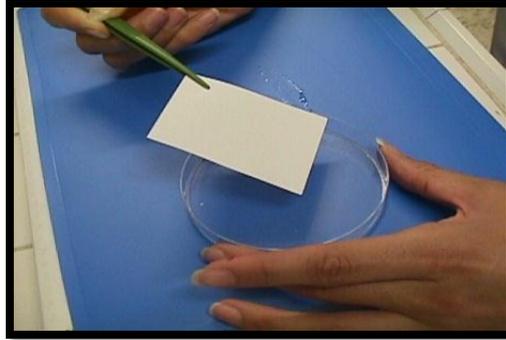


Figure 30: Révélation

La lecture de la membrane est effectuée par observation à la loupe binoculaire et la présence de la couleur pourpre-violette dans les aires des coupes des ovaires révèle la présence de l'antigène (Fig.31).



Figure 31: Observation à la loupe binoculaire.

Dans notre expérimentation uniquement l'étape N°1 a été réalisée au laboratoire de virologie. Alors que les autres étapes ont eu lieu en Italie à l'institut de Bari.

III.2.Détection biologique :

III.2.1. Collecte des pucerons :

Pour les campagnes 2001-2002,2002-2003,2005-2006 et 2006-2007 Les pucerons aptères présents sur feuilles collectées sur terrain sont déposés sur Bigaradier et la

lime mexicaine pour une période de 4 à 5min puis éliminé mécaniquement (**Elferran 2003; Bouafia 2011**).

Ainsi que pour la campagne 2010-2011, les pucerons sont prélevés à partir des feuilles suspectées d'être infectée. (**Alloune 2011; Moudoud 2012**)

Mais durant la campagne (2011-2012) la collecte des pucerons se fait selon la méthode de diagonale .Dans ce protocole uniquement 10 échantillons sont prélevés par parcelle. Les pucerons collectés sont mis dans des boites de Pétri contenant du papier buvard humecté (**Bouzidi et Guettouche 2012**).

Ces pucerons sont soit inoculé (détection biologique), ou compté pour évaluer le taux d'infection

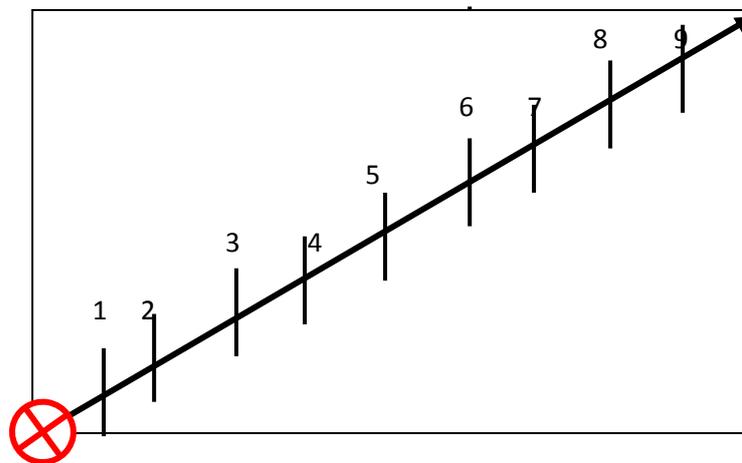


Figure 32 : Schéma représentatif du protocole de collecte des pucerons (la diagonale) (Bouzidi et Guettouche, 2012)

Légende :

-  Arbre non échantillonnées
- | Arbre échantillonnées
-  Direction de prélèvement

III.2.2. Identification des pucerons :

Après leur prélèvement; les pucerons sont mis dans un tube à essai contenant 30% d'eau distillée et 70% d'éthanol pour la conservation. Pour les deux campagnes 2001-2002,2002-2003,2005-2006,2006-2007 l'identification a été faite au niveau du laboratoire de zoologie de Mostaganem par professeur GUENNAOUI ,ainsi que pour la campagne 2010-2011, 2011-2012l'identification a été faite au laboratoire de zoologie l'école nationale supérieure d'agronomie (E.N.S.A) El-Harrach.

III.2.3. Transmission par pucerons :

Durant les campagnes 2001-2002, 2002-2003, 2005-2006, 2006-2007 les pucerons virulifères sont déposés à l'aide d'un pinceau légèrement humecté sur des plants de bigaradier et lime mexicaine sains. Ces derniers sont maintenus en serre à température ambiante. Après 5min d'inoculation (IAP) les pucerons sont retiré et un traitement aphicide est appliqué (Pirimor 0,75g/l).

L'utilisation de pucerons sains pour l'acquisition du CTV est une étape importante. pour cela en fait recours à deux méthodes :

- **1ere méthode :**

On dépose dans une boite de pétri contenant du papier filtre humide des pucerons adultes virulifères. La boite est fermée et maintenue à température du laboratoire (20°C)

- **2eme méthode :**

Des pucerons adultes virulifères sont déposés dans le fond d'une boite de pétri. Cette dernière est recouverte de deux couches de para film entre lesquelles, en dépose quelques gouttes de solutions glucosée. (**Elferran 2003**).

Durant la campagne 2010-2011 la transmission a été faite par la méthode suivante Pour la gamme d'hôte, des plantules de pois ont été utilisées comme plante indicatrice du CTV, pour cela, nous avons précédé le semis, dans un premier temps, nous avons préparé les semences, ces dernières sont trempées dans une solution contenant de l'eau de Javel (25 ml à 32°) et de l'eau distillée (225ml) pendant 20min, puis rincées à l'eau distillée. Les semences ont subis un pré germination de 3 à 4

Jours à l'étuve (25°C), dans deuxième temps, nous avons mis à raison de 3 grains par alvéole, qui contient seulement la tourbe. Les plantules sont élevées en serre à une température de 25° à 30°C à la serre de la virologie, l'irrigation des plantules a été effectuée tous les jours.

Pour la méthode d'inoculation, les pucerons aptères collectés sont mis au contact avec des plantules de pois au stade 2 à 3 feuilles à l'aide d'un pinceau humide à raison de 6 individus de pucerons/plantule. Ainsi pour chaque espèce et station l'expérience a été répétée 10 fois. Après 5 minutes d'inoculation, les pucerons ont été éliminés mécaniquement. Les plantules inoculées sont maintenues en serre à température ambiante 25 à 30°C. **(Alloune2011 ; Moudoud 2012)**

III.2.4. Comptage des pucerons :

Cette méthode est appliquée durant la campagne 2010-2011,2011-2012, le comptage se fait sous une loupe binoculaire pour faire la différence entre les espèces existées d'après la couleur et éventuellement la forme Après le comptage ces chiffres sont transformés en pourcentage selon la formule suivante :

Total—————→ 100%

Espèce selon la couleur→ X

Total : le nombre total des pucerons confondus.

X : le nombre des espèces selon la couleur (vert claire ou vert foncée)

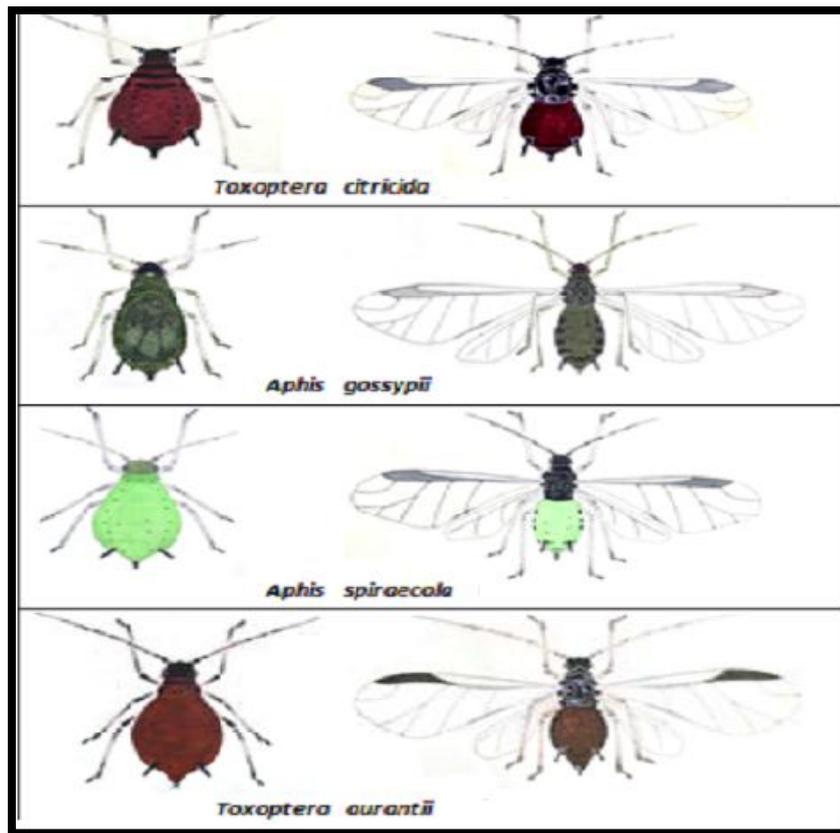


Figure 33 : Les différents vecteurs de CTV (Zemzami 2009)

I. Diagnostic symptomatologique du CTV :

Les symptômes qui ont été observés dans la totalité des sites visités durant toutes les campagnes étudiées rappellent ceux de la *Tristeza*, ainsi que l'intensité, le type, aussi la dispersion de ces symptômes peuvent varier d'un site à autre et d'une campagne à une autre. Ainsi les symptômes rencontrés dans la plupart des stations visitées sont :

- ❖ Enroulement des feuilles symptôme typique d'attaque des feuilles par pucerons (Fig. 34)
- ❖ Tache annulaire sur feuilles (Fig.35)
- ❖ Jaunissement des feuilles (Fig.36)
- ❖ Eclaircissement des nervures(Fig.37)
- ❖ Dessèchement des feuilles (Fig.38)
- ❖ Forme en cuillère(Fig.39)
- ❖ Dessèchement des branches (Fig.40)
- ❖ Dépérissement complet de l'arbre (Fig.41)



Figure 34: Enroulement des feuilles (Bouzidi & Guettouche, 2012)



Figure 35 : Tache annulaire (Bouzidi & Guettouche, 2012)



A

B

Figure 36 : Jaunissement des feuilles (Bouzidi & Guettouche, 2012)

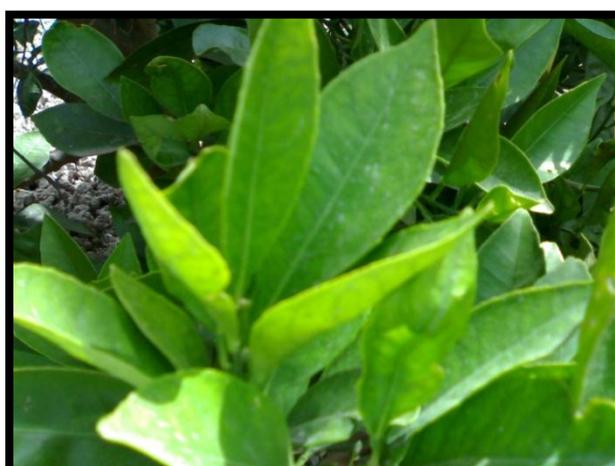


Figure37 : Eclaircissement des nervures (Bouafia, 2011)



Figure 38 : Dessèchement des feuilles (Bouzidi & Guettouche, 2012)

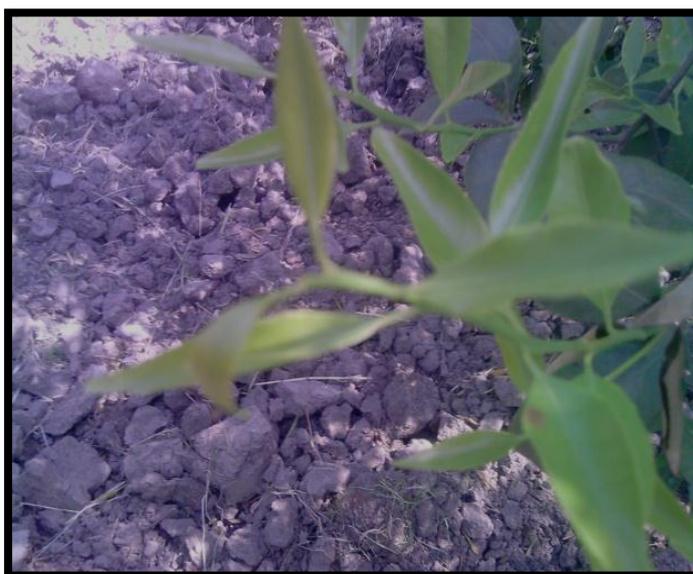


Figure 39: Forme en cuillère des feuilles (Bouafia, 2012)



Figure 40: Dessèchement des branches (Bouzidi & Guettouche, 2012)

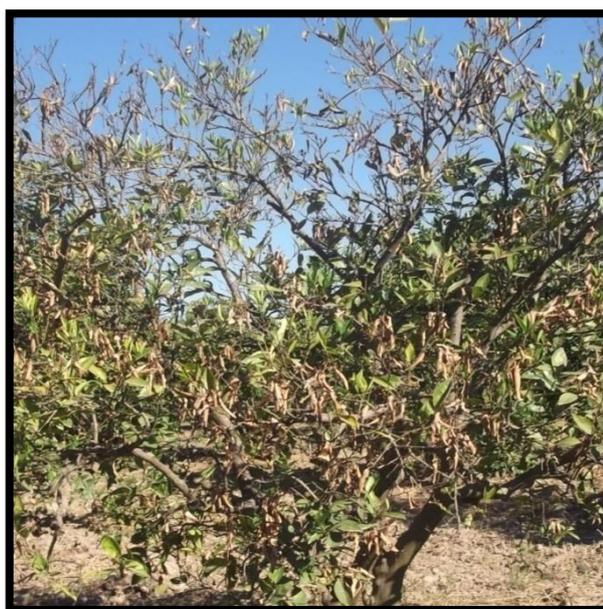


Figure 41: Dépérissement complet des arbres (Bouzidi & Guettouche, 2012)

Le diagnostic symptomatologique nous a permis de penser aux symptômes provoqué par le CTV, où il s'agit de dessèchement, dépérissement, l'enroulement des feuilles....etc.

Ces symptômes sont déclarés comme signes de présence de virus (**Guerri et al. 1990 ; Bar-joseph et al. 2010**). Ces symptômes sont les mêmes que ceux déjà observés (**Alloune, 2011 ; Bouafia, 2011**), et (**Moudoud, 2012 ; Bouzidi et Guettouche, 2012**) dans la région de la Mitidja central.

Ainsi que la sévérité de ces symptômes est variable d'une étude à une autre, et aussi d'une station à une autre ; cette variabilité est due en premier lieu à la densité des populations de pucerons vecteurs qui est influée par la température et la précipitation : dans l'exploitation 01 où une température de 25°C contribue à une infestation par le puceron *Aphis spireacola* de 80 % et un taux d'infection de 40% par le virus (**Alloune, 2011**).

II. Résultat de détection sérologique de virus de la *Tristeza* :

II.1. Résultat de test ELISA :

Ce test à été réalisé pour toutes les campagnes étudiées a l'exception de la campagne 2011-2012 sur toutes les variétés. Ces dernières ont réagit avec des taux d'infection différent (fig.42).

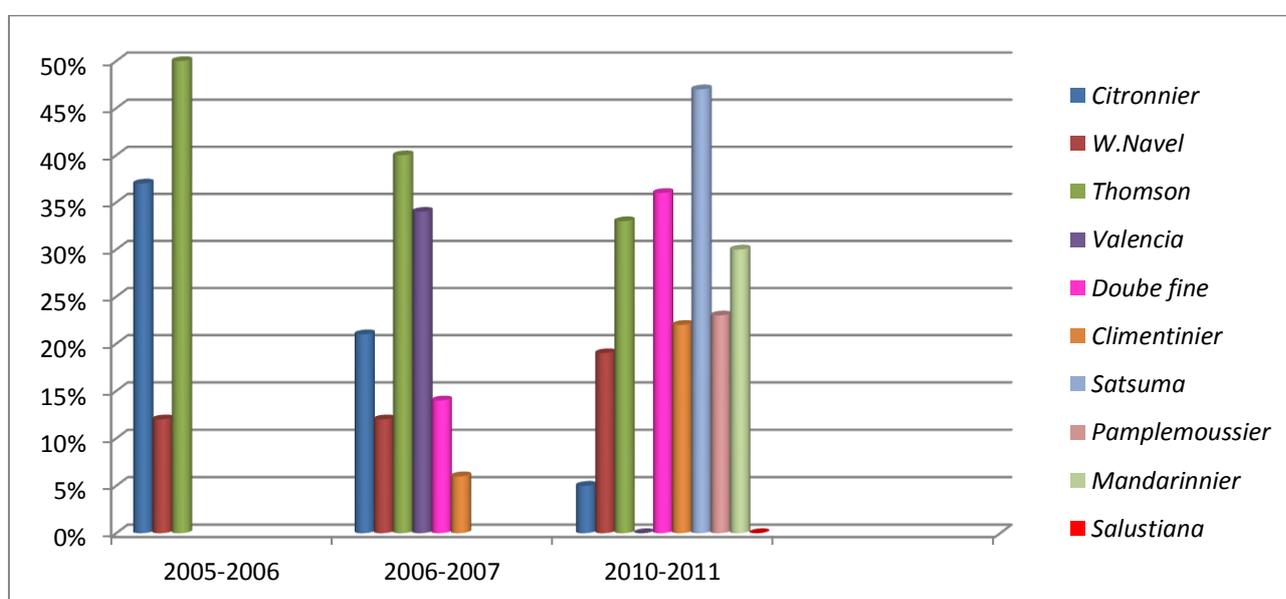


Figure 42: Taux d'infection de différentes variétés étudiées par test ELISA

Discussion :

Pour la campagne 2001-2002 et 2002-2003; l'exploitation 1 présenté un taux élevé d'infection 50% (sur 128 échantillons testés 64 se sont révélé positif). Dans cette exploitation le citronnier s'est montré très sensible au CTV avec des symptômes sévères de types *Tristeza* (jaunissement, enrroulement des feuilles) suivi par *Washington navel* et enfin la *Thomson* qui est plus ou moins tolérante à ce virus. L'exploitation 2 *Valencia* est la plus sensible, l'exploitation 3 est compétement délaissée à cause de l'abondance des populations aphidiennes, pour l'exploitation 6 la lime mexicaine s'est montrée plus sensible suivie par *Washington navel*. Au niveau de l'exploitation 4 le *Citronnier* est le plus sensible malgré la faible présence des pucerons.

Ces taux d'infections variables sont peut être due à:

- a) la présence massive des adventices dans des parcelles et absentes dans d'autres.
- b) à l'âge des arbres, qui dépasse parfois les 90 ans dans l'exploitation 2 et 5 qui les rend très sensibles aux différentes maladies (**El ferran, 2003**).

Pour les autres campagnes de 2005-2006 jusqu'au 2010-2011 il est clairement signalé le taux le plus élevé pour la variété *Thomson* (50%), suivie par *Satsuma* en 2011 avec 40%, puis le *Citronnier* suivi par *Valencia* et enfin le *Mandarinier*, *Clémentinier* et *Pamplemoussier* avec des taux oscillant ente (20 et 30%) après on à la *Double fine* et la *w.navel* et enfin aucune détection n'a été noté sur *Salustiana*.

II.2.Résultats du test DTBIA :

Ce test à été appliqué durant les deux campagnes 2010-2011 et 2011-2012. Uniquement la variété *Satsuma* a donné le taux d'infection le plus important par rapport aux autres variétés testés (Fig.43).

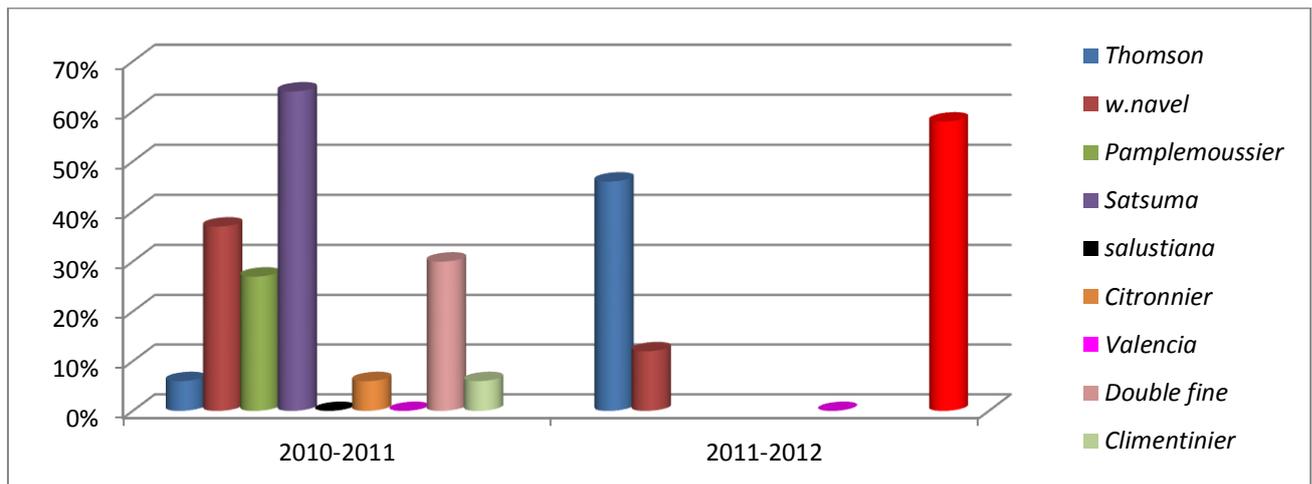


Figure 43 : Taux d'infection des variétés étudiées par DTBIA

Discussion :

Ce test a été utilisé seulement pour les campagnes 2010-2011 et 2011-2012, pour ces deux campagnes et sur les mêmes variétés étudiées on assiste à une variabilité dans le taux d'infection d'une campagne à une autre c'est probablement due à la méthode d'échantillonnage « Monitoring » car ce n'est pas les mêmes arbres échantillonnés.

Par ailleurs certains échantillons ont répondu par des taux plus élevés que le test DAS-ELISA l'exemple le plus clair la variété *Satsuma* (46%) avec ELISA, avec le test DTBIA elle s'élève à 60%; Cette situation peut s'expliquer par le fait que le test DTBIA fournit des informations directes sur la distribution du virus au sein de l'hôte. Même des échantillons à réactions négatives par ELISA donnent généralement des résultats positifs avec le test DTBIA, puisque seulement un groupe de cellules infectées est nécessaire pour donner un signal positif.

Dans le test DTBIA il y a une liaison directe du virus des cellules infectées sur la surface de la coupe du tissu avec l'anticorps. Dans le test ELISA il y a une liaison compétitive des protéines de l'hôte et des antigènes présents dans l'extrait à la phase solide et, quand le titre de virus est faible, il peut être insuffisant de l'anticorps spécifique au pathogène. Ainsi, les signaux forts sont formés dans des zones localisées qui sont facilement détectés. Si l'échantillon est broyé et l'extrait est testé par ELISA, l'avantage de la localisation est perdu et un signal faible est obtenu.

III. Résultats d'identification biologique:

III.1 Résultat d'identification des populations aphidiennes :

Les pucerons vecteurs du CTV et présents en Algérie sont : *A. gossypii*, *A. craccivora*, *A. spireacola*, *M. persicae*, *T. aurantii*. Durant les prospections sur les différents vergers, nous avons pu observer de grandes disparités dans la distribution des populations de pucerons.

Durant la campagne 2001-2002,2002-2003,2005-2006,2006-2007; 4 espèces ont été identifiées, il s'agit d'*A. gossypii*, *A. craccivora*, *M. persicae*, *T. aurantii*. Ainsi que pour la campagne 2010-2011 et 2011-2012 le résultat de la collecte des pucerons n'a montré la présence uniquement 2 espèces vectrices qui sont *A. spireacola* et *T.aurantii* (Fig.44).

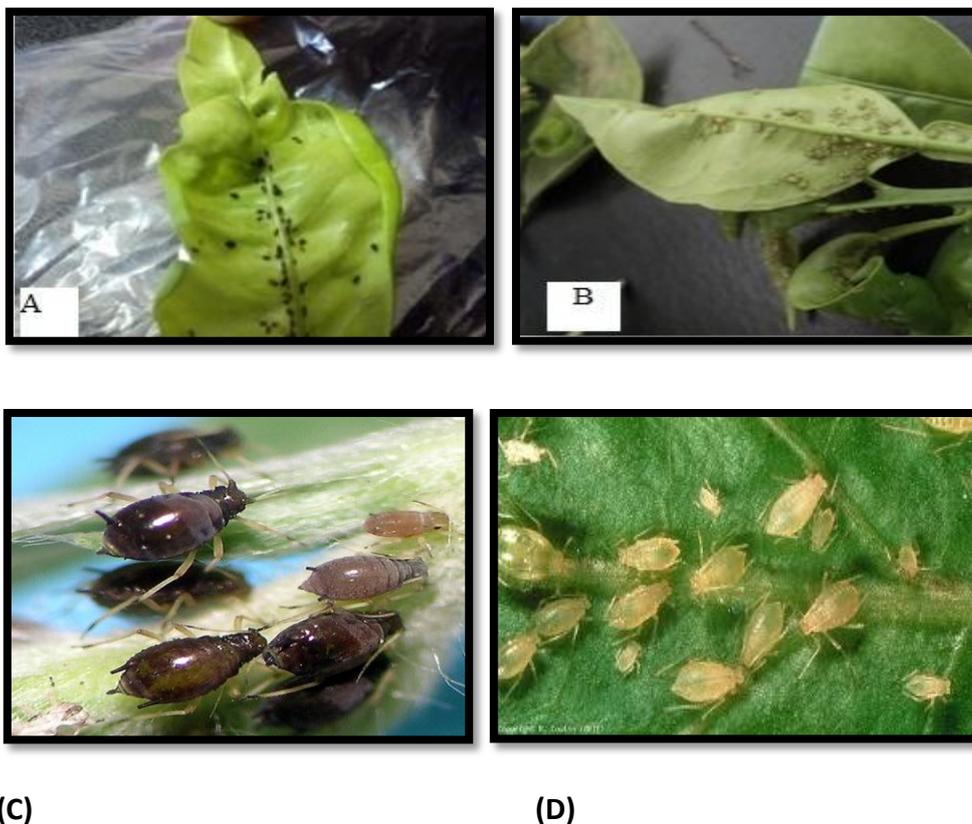


Figure 44 :(A) Puceron noir (*Toxoptera aurantii*), (B) (*Aphis spireacola*),
(C) *Aphis craccivora*, (D) *Myzus persicae*

III.2 Taux d'infestation par pucerons :

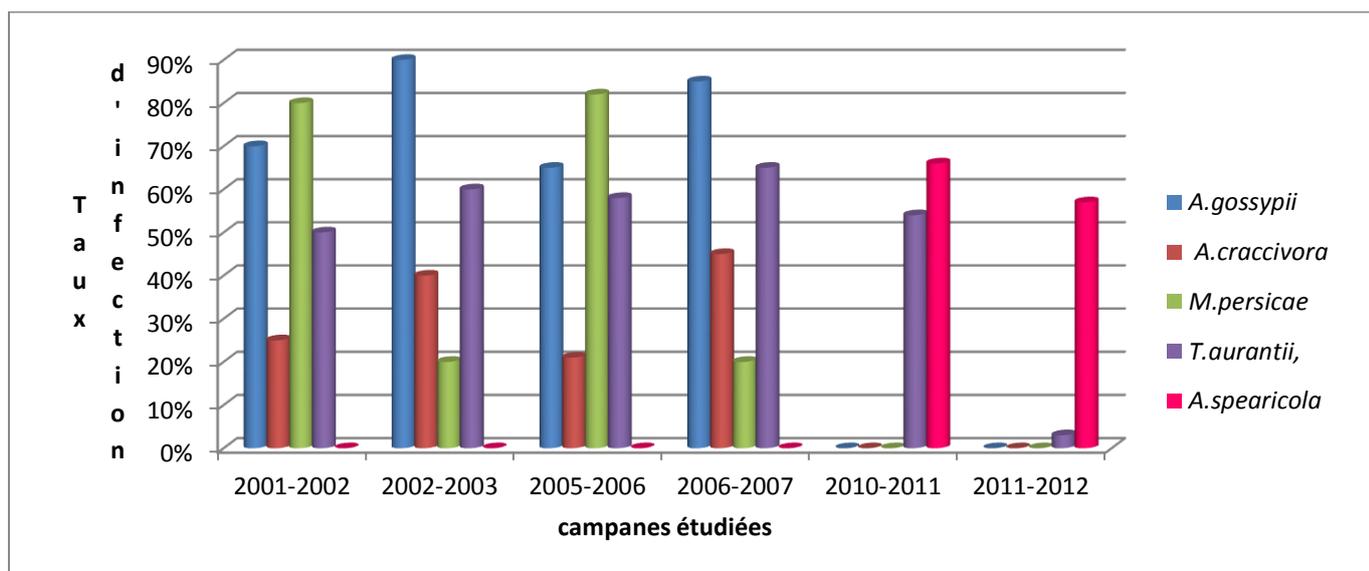


Figure 45: Taux d'infestation des pucerons

Les résultats d'identification montrent qu'il existe 5 espèces vectrices du virus étudiées *A.craccivora*, *A.gossypii*, *A.spireacola*, *M.persicae* et *T.aurantii*. Ainsi que *A.craccivora*, *A.gossypii*, *M.persicae* et *T.aurantii* ont été détectées par (Elferran, 2003; Bouafia, 2011). *A.spireacola*, *T.aurantii* détectés par (Alloune, 2011; Moudoud, 2012; Bouzidi & Guettouche, 2012). Durant les campagnes 2010-2011 et 2011-2012 *A.craccivora*, *A.gossypii* et *M.persicae* étaient totalement absentes.

Concernant le taux d'infestation le puceron *A.gossypii* est le plus fréquent, il atteint 90%, suivi par *M.persicae* 82% ensuite *T.aurantii* et *A.spearicola* et en fin *A.craccivora* avec un taux d'infection atteint au maximum 45%.

D'après notre étude on peut dire que le puceron *A.gossypii* est le plus virulifère et cela depuis la détection du CTV en Algérie (Bayoud, 2001).

III.3. Transmission par pucerons :

Pour les campagnes 2001-2002, 2002-2003, 2005-2006, 2006-2007 par. Les indicateurs biologiques choisis, lime mexicaine et bigaradier, ont tous les deux exprimés des symptômes de type jaunissement apical et enroulement des feuilles, les deux espèces ont réagi différemment à savoir que la sévérité des symptômes exprimés par la lime mexicaine était plus importante que ceux sur le bigaradier, en effet les plants de lime mexicaine mis en contact avec les pucerons potentiellement

porteurs du virus, ont manifestés un dessèchement quasi total 17 jours après transmission, alors que le bigaradier ne présentait que des symptômes de jaunisse (El ferran, 2003 ; Bouafia, 2011) .



Figure 46: Symptômes de jaunissement apical sur bigaradier. (Plants de gauche et droite, celui du centre est un témoin sain) (Bouafia, 2011).

Discussion :

Des symptômes caractéristiques du *CTV* ont été observés sur tous les plants de bigaradier et de lime mexicaine utilisés pour l'indexage, ces symptômes sont de type jaunisse des jeunes pousses et dessèchement des branches, le *CTV* est biologiquement caractérisé par un panel standard de symptômes induits sur plantes indicatrices comme rapporté par Garnesey en 1997.

Cependant les deux espèces indicatrices n'ont pas manifestés la même agressivité, en effet la lime mexicaine s'est montré beaucoup plus sensible au *CTV* que le bigaradier, en effet la lime mexicaine est connue pour extérioriser des symptômes types du *CTV* même pour des souches qui ne produisent pas ou peu de symptômes sur les agrumes commerciaux, ce qui confirme les résultats rapportés par (**Garnesey et al en 2005**).

Pour les campagnes 2010-2011 Les plantules de pois ont exprimé des symptômes locaux sous forme de taches foncées sur la face supérieure des feuilles. Ces dernières ont la forme en cuillère (Alloune, 2011; Moudoud, 2012).



A

B

Figure 47: Résultat de la transmission par pucerons virulifère : A : taches sur la face supérieure des feuilles ; B:déformation des feuilles en forme de cuillère (Alloune, 2011)

Discussion :

La conclusion retenue à travers cette expérimentation montre la présence des deux pucerons vecteurs :

Les résultats de la DAS-ELISA obtenu, nous a conduit à conclure que les 2 espèces *T. aurantii* et *A.spireacola* rencontrées sur les agrumes dans la région de Mitidja étaient virulifère à l'exception de quelques variétés (*Salustiana*, *Washington naval*, *Valencia-late*) où aucune infectivité n'a été observée sur les plantes de pois inoculées. Cependant, la comparaison de l'efficacité de la transmission des 2 espèces étudiées n'a montré aucune différence, par ailleurs ces résultats, nous ont permis de considérer le test biologique comme méthode complémentaire aux autres méthodes de diagnostic (Harnos et al, 1984 ; Cambra et al,2000).

VI. Evolution de la maladie:

Dans cette partie de notre étude l'évolution de la maladie de la *Tristeza* a été évaluée en prenant en considération les résultats des campagnes agrumicoles 2001-2002, 2005-2006, 2006-2007 et 2010-2011 obtenus par des tests d'identification immunoenzymatique (ELISA) de la maladie (Fig.48).

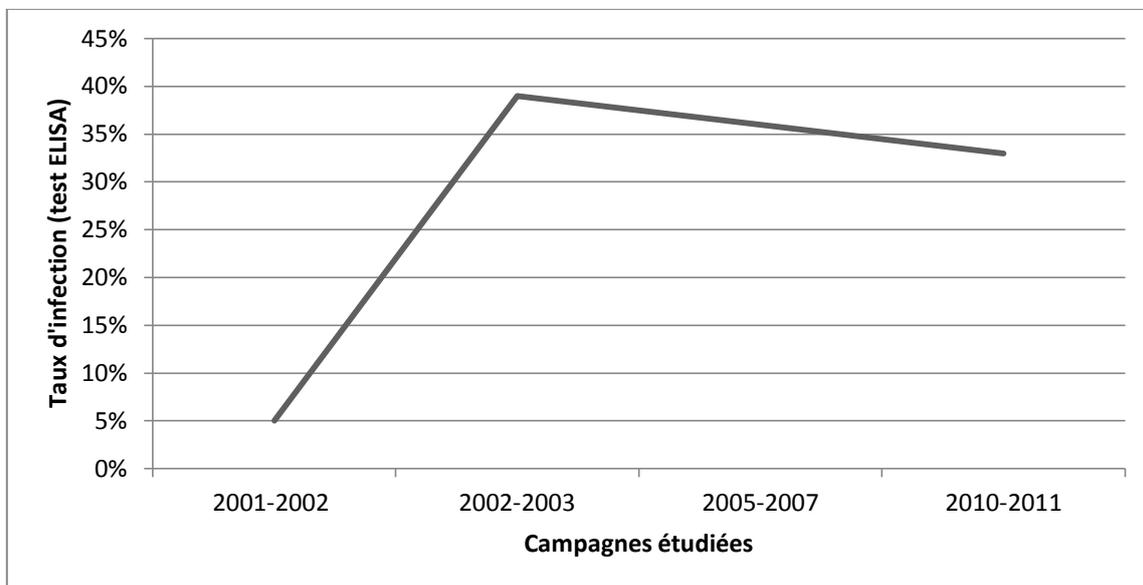


Figure 48: Evolution de la maladie depuis sa détection jusqu'au 2011.

Discussion :

D'après notre étude la maladie de la *Tristeza* a évolué depuis sa détection en 2001. Le taux d'infection est passé de 4.65% à 33% et cela uniquement sur la base de test ELISA pendant 11ans. Cette évolution est passée par 2 étapes : la première étape correspond à la phase de progression de la maladie. Cette dernière a évolué très rapidement pendant 3 années successives. La deuxième étape correspond à la phase de stabilité de la maladie. Cette phase oscille entre 33 et 36%. Plusieurs facteurs sont impliqués dans cette évolution dont le facteur puceron est le plus important dans la dissémination de ce virus (**Grissa 2010**).

La *Tristeza* est la maladie, la plus destructrice sur agrumes à l'échelle mondiale et est transmis par plusieurs espèces de puceron selon le mode non persistant

Notre étude avait pour objectifs de connaître les variétés les plus sensibles à ce virus et l'évolution de cette maladie depuis sa détection dans la plaine de la Mitidja en 2001 dans les parcs à bois de l'ITAFV de Boufarik.

Les résultats de diagnostic symptomatologique obtenus durant tout les années étudiées ont montré la présence des symptômes type de la *Tristeza* dans tous les sites visités qui sont la forme en cuillère, dessèchement des branches, dépérissement total de l'arbre et cela sur toutes les variétés confondues. Le diagnostic sérologique par le test DAS-ELISA durant tout les campagnes à l'exception de 2011-2012 et DTBIA (durant les campagnes 2010-2011, 2011-2012) réalisés sur les variétés collectés vérifient clairement l'évolution de la maladie depuis sa première détection en 2001 de 4.65% à 33% en 2012 et autour de 23% respectivement pour chaque test sérologique effectué. Ainsi que l'évaluation des infestations par les pucerons vecteurs de ce virus a montré que dans la plupart des stations visitées le puceron *A. gossypii* prélevés était le plus fréquent par rapport aux autres. Egalement l'association de la variété *Thomson sensible à la Tristeza* avec *A. gossypii* a donné des taux d'infection très élevés.

Et enfin en perspectives on recommande

Recours aux moyens de lutte et de prévention de cette maladie,

Mise en place de mesures de quarantaines et d'un schéma de certification du matériel de plantation.

A défaut de variétés résistantes, la prémunition, qui consiste à inoculer une souche virale produisant des symptômes atténués, afin de protéger les plantes contre une infection ultérieure de souches sévères du même virus, cette méthode peut être adoptée en cas d'infection sévère due au virus du CTV, plusieurs souches prémunisantes ont déjà été isolées au Brésil et en Australie.

Lutte biologique contre les insectes vecteurs, apporte une perspective intéressante, mais peut s'avérer inutile en cas d'infection sévères.

Conclusion et perspectives

Etant donné l'importance du secteur agrumicole en Algérie, il est indispensable d

- ✓ Produire des portes- greffes tolérants,
- ✓ Inventorier les pucerons vecteurs et leurs ennemis naturels.

Nous avons tenté, à travers notre étude, de rassembler des données qui pourront servir à installer une campagne de lutte, de prévention et de dépistage de ce fléau qui menace nos vergers.

Références bibliographiques :

Adamou, S., Bourenane N., Haddadi, F., Hamidouche , S., Sadoud, S. 2005. Quel rôle pour les fermes-pilotes dans la prévention des ressources génétiques en Algérie. Série n°126: 25p.

Agranovsky,J.P., Bar-joseph,M., Gumpf,D.J., Dodds,J.A., Rosner,A.and Ginsberg ,I. 1995. Transcriptional strategy of closteroviruses mapping the 5'terminal of the Citrus Tristeza Virus subgenome RNAs .j.virol 71(8),pp 6233-6236.

Albiach- Marti, M.R., Guerri, J., Cambra, M., Garnsey, S.M ., Moreno ,P.2000.Différentiation of *Citrus Tristeza Virus* isolates by serological analysis ofcoat protein peptide maps. Journal of p 25 Virological Methods 88:pp25-34.

Alloune , A . 2011. Etude de virus de la Tristeza des agrumes (Citrus Tristeza Virus) dans la plaine de ma Mitidja : Identification sérologique et inventaire des vecteurs, 63p.

Amin, H.A., and Falk, B.W. 2009. Citrus Tristeza Virus-p23 gene correlated with pathogenicity in non citrus hosts .Egupt.JournalPathology 37(1):pp 83-98.

Andriantiantanarivo, S. 2002.Impacts du traitement phytosanitaire des arbres fruitiers sur les abeilles : cas de l'agrumiculture dans la région d'Ambositra.Ing.U. Antanarivo :31p.

Anonyme., 1976.La protection phytosanitaire des agrumes en algerie. Ed. Ciba Geigy, Alger.159p.

Anonyme., 2003 .Programme Nationale de Transfert de Technologie en Agriculture bulletin réalisé a l'institut agronomique et vétérinaire Hassan II,.3p.

Anonyme, 2003. problèmes phytosanitaires du secteur des agrumes et politiques de lutte. Comité des produits groupe intergouvernemental sur les agrumes .Treizième Session, pp 1-13.

Références bibliographiques :

Anonyme, 2004. Secrétariat de CNUCED d'après les données statistiques de L'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. 7p.

Anonyme, 2006. une bactérie s'attaque aux agrumes du Brésil. Presse-Infos /pole Biologie Végétale Intégrative/INRA de Bordeaux- Aquitaine. 3p.

Atta, S., Liu, Y., Cao, M., Yang, F., Zhou, Y. and Zhou, C. 2011 « Molecular characterization of Citrus Tristeza Virus isolates from Pakistan based on CPG/Hinf I restriction fragment length polymorphism (RFLP) groups analyses, African Journal of Biotechnology V.10, N°44, 8689-8694

Aubert, B. et Vulliamy, G. 1997 « Pépinières et plantations, d'agrumes ». Montpellier : CIRAD, 184p.

Ayllon, M. A., Lopez, C., Navas Castillo, J., Mawassi, M., Dawson, W. O., Guerri, J., Flores, R., and Moreno, P. 1999. New detective RNase H from Citrus Tristeza Virus: evidence replicase-driven switching mechanism in their generation. Journal of general virology. Vol 80: pp817-821.

Ayres, A. J. 2001. Le contrôle des maladies des agrumes au Brésil. Funde Citrus Brasil: 109-118.

Baci, L. 1995. Les contraintes au développement du secteur des fruits et légumes en Algérie: faiblesse des rendements et opacité des marchés. INA El-Harrach, Alger, options méditerranéennes, Série n°4: 266-277.

Bar-Joseph, M., Gumpf, D., Dodds, J.A., Rosner, A. and Ginsberg, I. 1970. Plant viruses, Phytopathol. 63: p720.

Bar-Joseph, M., Garnsey, S.M., Gonsalves, D., Moscovitz, M., Purcifull, D.E., Clark, M.F. and Loebenstein, G. 1979 "The use of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Citrus Tristeza Virus" Phytopathology, 69: 190-194.

Références bibliographiques :

Bar-joseph,M.,Dawson,W.O.2010. Citrus Tristeza Virus, in Mahy, B.W.J and Vanregen mortel, M.H.V, (eds) ,Desk Encyclopedia of plant and fungal Virology, Elsevier, USA:pp160-170.

Bar-joseph,M.,Marcus,R.,Lee,R.F. 1989.The continuous challenge of Citrus Tristeza Virus control,Annual Rewiew of Phytopathology , vol 27:pp291-316.

Batista,L., Bassanezi,R.B.,and Laranjeira,F.F.2008.Comparative epidemiology of Citrus Tristeza in Cuba an Citrus Sudden death in Brazil.Tropical plant pathology,vol;33,5: 348-358.

Bayaud,H.Y.2001.Sérodétection du virus de la Tristeza des *Citrus* et du phytoplasme *Spiroplasma citri* sur les parcs à bois et la cage d'isolement des agrumes de l'ITAFV.Mémoire magister.USDB Blida Algérie.112p

Bellabas, A. 2010. Rapport de mission: Etude de base sur les agrumes en Algérie. Consultant national: 45p.

Bénidicte, A. et Bachés, M., la culture des agrumes homme et plantes (revue de conversation des collections végétales spécialisés) N°37, (2001), 30-34.

Benzarga, M.2010.La production agrumicole en recul dans la Mitidja: L'orange en passe de perde son fief. Journal El-watan.

Bouafia. L. 2011. Etude du virus de la Tristeza des agrumes (*Citrus Tristeza Virus*) en Algérie Mémoire magister phytopathologie, USDB Blida. 147p.

Bouzidi.S et Guettouche.F.2012.Etude de virus de la Tristeza des agrumes (*Citrus Tristeza Virus*) dans la plaine de la Mitidja : Identification sérologique par DTBIA et Biologique. Mémoire ingénieur phytopathologie USDB Blida Algérie.,36p.

Bové, J., 2008.Tristeza, mort subit ou hauangiongbing : Symposium méditerranéen sur la protection phytosanitaire des agrumes, Rebat, Maroc, pp17-35.

Références bibliographiques :

Bové, J.M. et Vogel,R. 1981 : "Description and illustration of virus and virus –like diseases of citrus";Steco-IRFA, Paris, France.

Bové,J.M and Vogel,R.,1964 .stem pitting sur Bigaradier et sur oranger Torroco en crose: une maladie à virus, Fruits pp192-69-74.

Broadbent, P., Briansky , R . H., and Indsto, J.1996.characterisation of Australian isolates of Citrus Tristeza Virus and separation of subisolates by single aphid transmissions .Plant Dis. 80:pp329-333.

Brown,L.G.,Denmark,H.A.,and Yokomi,R.K.1988.Citrus Tristeza Virus and its vectors in Florida. Plant pathology circular N°311: 4.

Cambra, M., and Moreno, P.2000. Tristeza in infermedades de los citricos.N. Duran-Vila and P. Moreno (eds.), 77-81. Ediciones Mundi-Prensa,Madrid.

Carver,M.1978:"The black Citrus aphid, *Toxoptera citricidus* Krikaldy and *T.aurantii* (Boyer de Fonscolombe) (Homoptera:Aphididae)".J.Aust.Ent.Soc,17:pp263-270.

Celini L.2001.Le puceron du cotonnier : *Aphis gossypii* (Glover) et son parasitie *Aphelinus gossypii* Timberlake en République Centrafricaine.n°122.pp7-10.

Çevik, B. 2001. Characterization of the RNA polymerase gene of Citrus Tristeza Closterovirus. University Florida.138p.

Chouaki, S., Bessedik, F., Chebouti, A., Maamri, F., Oumata, S., Kheldoun, S., Hamana, M.F., Bellah, Kh. 2006. Deuxieme rapport sur l'état des ressources. Ed, INRAA : 8-91.

Clark,M.F. et Adams,A.N.,1977:"Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunodorbent assay for the detection of plant virus",Journal of General Virology, 34:475-483.

Références bibliographiques :

D'Onghia, A.M., Saade P., Khoury,W., Castelleno,M., Savino,V .1998.Occurance end distribution of *Citrus Tristeza Virus* in Lebanon. *Phytopathologia Mediterranea* 37:75-78.

Darke., 1972IN Walter Reuther,E.,Clair, C and Glenn E.C.,1978.Thé citrus industry;Vol4 Chap n°1,p165.

Dawson, W.O. 1995. Complete sequence of the Citrus Tristeza Virus RNA genome virology 208: pp 511-520.

Denmark,H.A. 1963 "A field key to the citrus aphids in Florida" ,Fla Dept.of Agric & Consumer Serv.,Div of plant ind .,Ent.Circ.N°18,2p.

Djoudi, A., Bahia, H., Yahiaoui, GH.2004.Les ravageurs des agrumes .Univ. IBEN KHALDOUNE - TIARET : 63p.

Elferran, A. 2003. Etude du virus de Tristeza des agrumes(CITRUS Tristeza Virus en Algérie: Séro et Biodétection ,Efficacité de la transmission par différents vecteurs inventoriés

Esterlin,S.,1986" Influence des rayonnements gamma sur la fixation des anticorps sur le polystyrene. Application au test enzymatique ELISA"Th.Doc.Université de bordeaux II, France 75p.

Fang, D.Q., Federici, C.T., and Roose, M.L. 1998.A high-resolution linkage map of the Citrus Tristeza Virus resistance gene regionin *Poncirus trifoliata*(L.)RAF genetics 155:883-890.

Fauque,C.,et Thouvène,J.C., 1984 :"Transmission par insectes des maladies virales de plantes en Afrique tropicale, Bulletin de la société entomologique de France , ,89 :pp71-76.

Folimonov, A.S,Folimonov,S.Y., S.Y.,Bar-joseph,M.,Dawson ,W.O.2007.A stable RNA virus-based vector for citrus trees.Virology 368:pp205-216.

Références bibliographiques :

Folimonov, Y. S., Alexy, S. F., Satyanarayana. T., and Dawson, W. O. 2008. Citrus Tristeza Virus: Survival at the edge of the movement continuum. *Journal of virology* vol. 82. No. 13: pp65 46-6556.

Frezal, P. 1957 : "Sur la présence en Algérie de la Tristeza et de la xyloperose des citrus" *Acad.d'agr.de France*, 4 p.

Gargo Zachet .S., Costa.N., Semorile.L., et Grau.O.2007:"Sequence variability in p27 gene of Citrus Tristeza Virus (CTV) revealed by SSCP analyses",*Plant pathology*,12(1):1-8.

Gargo-Zachert,S.P.,Costa,N.B.,Semorille,L.,and Grau,O.1999.Sequence variability in p 27 gene of Citrus Tristeza Virus (CTV) revealed by SSCP analysis.*EJB electronic journal of biotechnology* vol 2,N°1:pp41-50.

Garnsey S.M., Permar T.A., Cambra M. and Henderson C.T., 1993. Direct tissue blot immunoassay (DTBIA) for detection of citrus tristeza virus (CTV). *Proceedings of the 12th Conf. of IOCV (India 1998)*: pp39-50.

Garnsey,S.M.,Civerolo,E.L.,Gumpf,D.J.,Paul,C.,Hilf,M.E,Lee,R.F.,Blansky,R.H.,Yokomi,R.K., and Hartung, J.S.2005: Biological characterization of an international collection of Citrus Tristeza Virus (CTV)isolates origins 15Th conf.IOCV:75-93.

Gentile E,A., Tribulato,E., Deng, Z.N., Vardi,A. 1992.Selection of "femminello" lemon plants with tolerance to the toxin of *Phomatracheiphilavia* cell culture. *Vilernational citrus congress, Acireale ,Italy*, March pp8- 13,1992(ABSTRACT).

Ghorbel , R ., Lopez , C ., Moreno ,P., Navarro L ., Flores , R ., Penal , L. 2001 .Transgenic citrus plant expressing the Citrus Tristeza Virus p23 protein exhibit viral like symptoms.*mol Plant Pathol*, 2: pp27-36.

Gottwald, T.R., Hughes ,G. 2000 "A new survey method for Citrus Tristeza Virus disease assessment", *Fourteenth IOCV Conference*, pp77-87.

Références bibliographiques :

Gowda, S., Satyanarayana, T., Ayllon, M.A., Albiach-Marti, M.R., Moreno, P., Flores, R., and Dawson, W.O. 2003. The conserved structures of the 5' nontranslated region of Citrus Tristeza Virus are involved in replication and virion assembly. *Virology* 317:50-64.

Grissa, K.L. 2010. Etude de base sur les cultures d'agrumes et de tomates en Tunisie. Consultant national :92p.

Guerri, J., Moreno, P., Lee, R.F. 1990. Identification of Citrus Tristeza Virus strains by peptide maps of virion coat protein. *Phytopathology*, 80:pp692-698.

Harmos de Mendoza, A., Ballester-Olmos, J.F. and Pina, J.A. 1984 "Transmission of Citrus Tristeza Virus by aphids (Homoptera, Aphididae) in Spain, Proceeding of the 9th Conference of the international Organization of Citrus Virologists (IOCV) Riverside, P23-27.

Herron, C.M. 2003. Citrus Tristeza Virus : Characterization of Texas isolates, studies on aphid transmission and pathogen-derived control strategies ; *Plant pathology* :258p.

Hoffmann et Frodsham, A.C. 1993. Natural enemies of vegetable insect-pests; Cornell University . Ithaca, NY. 63p.

Hullé, M., Ighil, E.T., Yvon, R. and Yves, M. 1999. Les pucerons des cultures. Cycle biologique et activités de vol. Paris, Ed, INRA. 136p.

Iftikhar, Y., Aslam Khan, M., Rashid, A., Mughal, S.M., Iqbal, Z., Batoul, A., Abbas, M., Khan, M.M., Muhammad, S., and Jaskani, M.J. 2009. Occurrence and distribution of Citrus Tristeza Closterovirus in the Punjab and Northwest, Pakistan. *Pak.J.Bot* 41(1) :p373-380.

Imbert, E., 2005. "Les agrumes de Méditerranée", *Fruitrop*, Le point sur les agrumes de méditerranéen 122, 6p.

Imbert, E., 2007. "Agrumes. Les dossiers fruitrop .n°15. ed science." 34p.

Références bibliographiques :

Iracheta-Crdenas,M.M.,Almeyda-Lion,I.H.,Manjunath,K.,Cevik,B.,Niblett,Ch.,Lee, R., and Karasev ,A .V ., Boyko ,V .P ., Gowda , S., Nikolaeva , O . Hilf, M. E., Koonin,E.V., Niblett, C. L. Cline, K., Gumpf, D., Lee ,R.F., Garnsey, S.M.,Levandowski,D.J. KLOTZ,J ET FAWCETT, H.S., 1952.Les maladies des citrus traduit de l'anglais par Comelli,Aet la Maitre J. en coul .Soc, d'dedit. Techn. Col. 152p.

Karasev,A.V.,Boyko,V.P.,Gowda,S.,Nikolaeva,O.,Hilf,M.E.,Koonin,E.V.,Niblett,C.L.,Cline,K.,Gumpf,D.,Lee,R.F.,Garnsey,S.M.,Levandowski,D.J.,W.O.1995.Complete sequence of the Citrus Tristeza Virus RNA genome.Virology 208:511-520.

Khan, I.A. 2007. Citrus genetics, Breeding and Biotechnology. CAB International Head office, Oxfordshire.UK:381p.

Kolbenzen 1974 IN Walter Reuther ,E.C ,Clair and Gienn E.C.,1974 thé citrus industry. Vol4.Chap. n°4,pp: 1-61

Kubba,R.A., Djelouah, K., Addante, R., Jamel, M., and D'onghia, A.M. 2009.Occurrence, distribution, characterization of Citrus Tristeza Virus ans IIS Vectors in Syria.Journalof plant pathology 91 N° 2:303-309.

Lbida, B.,Fonseca,F.,Santos, C., Zemzami ,M.,Bennani ,Aand Nolasco,G.,Genomic variability of Citrus Tristeza Virus (CTV) isolates introduced into Marocco Phytopathol.Mediterr, (2004), 43:pp205-210.

Lee, R. F., and Bar- Joseph, M. 2000.Tristeza.In: Timmer, L. W.,Garnsey,S.M., Graham, J.H. (Eds). Compendium of citrus diseases.APS Press,St.Paul,MN.pp61-63.

Lee,R.F, Barker,B.S., and Rocha-Pena,M.A.,1994:The Citrus Tristeza Virus (CTV): an introduction to current priorities, with special reference to the worsening situation in Central America and the Caribbean ,International Institute of Biological Control, Centre for Agriculture organization (FAO),United Kingdum,197p.

Références bibliographiques :

Lee,R.F.2000. Citrus tristeza: Biology, potential Impact, and control strategies. Arab. J.PL. Prot, 18 (2) : pp143-148.

Liu,X.,”Le passé, le present et le future du secteur chinois des agrumes”Symposium sur les agrumes Chine /FAO,(2001),5p.

Loeillet, D.,”Agrumes et jus d’orange”,Economica,(2008), P350-354.

.Loussert. 1985.Les agrumes .Ed. Bailliere, Paris, 136p.

Loussert. 1987.Agrumes .vol 1.Ed .science .Univ.109p.

Loussert R., 1989. Les agrumes, production .Ed.Sci.Vol2, Liban.289p

Malais,M et Ravensberg,W.I.1992.The biology of glasshouse pests and their natural enemies knowing ANDRECOGNIZING.Koppert b.v. berkel en rodelys,the Netherlands

Martelli,G.P; 1994. Trichovirus, a new genus of Plant viruses.Arch virol.

Merouani.2009.une mystérieuse maladie menace les agrumes. MIDI, quotidien national d’information N°725 : 3p.

Michaud.J.P.,1989: “A review of the literature on *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (homoptera: aphididae)”,Florida Entomologist 81(1).

Moudoud .R .2012.Etude de virus de la Tristeza des agrumes (CTV) identification par ELISA et DTBIA ; mémoire magister phytopathologie.127p.

Murtin,G.,”L’Algérie et ses agrumes”, Revue de géographie de Lyon, (1969) , 44(1): 5-36.

Références bibliographiques :

Mutagenic analyses and localization of a highly conserved epitope near the amino terminal end of the *Citrus Tristeza Closterovirus* capsid protein. *phytopathology* 85:pp1311-1315.

Nolasco,G.,C.Santos.G.Silva.and F.Fonseca.2009.Development of an asymmetric PCR –ELISA typing method for Citrus Tristeza Virus based on the Coat protein gene. *Journal of virological methods* 155:pp97-108.

Nurhadi,Sijan, K., and Sulaiman, I.2003. Production of polyclonal antibody to the coat protein of Citrus Tristeza Virus in Chiken EGGS. *Indinesian;Journal Agricultural Science* 4(1):18-26.

Papayiannis,L.C.,Santos,C.,Kyrakou,A.,Kapari,T.and G.Nolasco,G.2007.Molecular characterization of Citrus Tristeza Virus Isolates from Cyprus on the basis of the Coat protein gene .*Journal of plant pathology*.Vol 89.N°12.pp291-295.

Pappu,H.R.,Pappu,S.S.Kano,T.,Koizumi,M.,Cambra,M.,Moreno,P.,Su,H.J.,Garnsey 1995.

Praloran J.C., 1971.Les agrumes. Ed. Maisonneuve et Larose, France, 565 p.

Rabing, R.1981. Epidemiology and stimulation of population developement of *Sitobion avenae* in winter wheat. *Nether. Journal Plantpathol.*85:pp 197-200.

Rebour, H.2005.La culture des agrumes en Algérie N°49.4 pages.

Reza Fifaei, B., Golein,H., Taheri, M. et Tadjvar,Y.,"Elimination of Citrus Tristeza Virus of Washington Navel Orange(*Citrus sinensis*[L.] Osbeck) Through Shoot-tip Grafting" 2007.

Rocha-Pena, M. A., Lee, R. F., Lastra, R., Niblett, C .I and Ochoa-Corona.1995.Citrus Tristeza Virus and its aphids vector *T.citricida* Theats to citrus production in the Caribbean andcentral and North America. *plant disease*,79:pp 437-445.

Références bibliographiques :

Rocha-Peria, M.A. 2002. Molecular cloning and expression of the p25 gene of two Mexican isolates of *Citrus Tristeza Virus*. *Revisita Mexicana de fitopatología*:20:pp174-181.

Roistacher, C.N. 1991. Fraught-transmissible disease of citrus. In handbook for detection and Diagnostic. F.A.O, Rome: 286 p.

Roistacher, C.N., Nouer, E.M., Kishaba, A. and Calavan, E.C., 1980: "Transmission of Citrus Tristeza Virus by *Aphis gossypii* reflecting changes in Virus Transmissibility in California", *Tristeza and related disease*, 76-82.

Satyanarayana, T., Bar-Joseph, M., Mawassi, M., Albiach-Marti, M.R., Ayllon, M.A., Gowda, S., Hilf, M.E., Moreno, P., Garnsey, S.M., and Dawson, W.O. 2001. Amplification of Citrus Tristeza Virus from cDNA clone and infection of citrus trees. *Virology* 280:87-96.

Satyanarayana, T., Gowda, S., Ayllon, M.A., Albiach-Marti, M.R., Rbindran, S., and Dawson, W.O. 2002. The protein of citrus Tristeza virus controls asymmetrical RNA accumulation. *Journal of Virology*. pp473_483.

Schimer, S., Sengonca, C. and Blaeser, P., 2008: "Influence of abiotic factors on some biological and ecological characteristics of the aphid parasitoid *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitizing *Aphis gossypii* (*Sternorrhyncha: Aphididae*)" *J. Entomol.* 105:121-129.

Stewart, K.A. 2006: "Strain differentiation of Citrus Tristeza Virus isolates from South African by PCR and microarray", Thèse de magister de microbiologie, Université de Pretoria, Sud Africain, 222P.

Stoezel, M.B. 1994. *Aphis* (Homoptera: Aphididae) of potential importance on citrus in the United States illustrated Keys to species. *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 96(1), P74-90.

Références bibliographiques :

Stubbing., Eggert, P.R., Arriaga, J.T.2009.Citrus Tristeza Virus (CTV).NAPPO Diagnostic Protocol.DP N°1:3-20.

Tahiri, A., 2007.Maladies virales des agrumes. Département de protection des plantes ENA- Meknès pp:1-33.

Taylor,C.E (1958). The black citrus aphid.*Rhodesia* Agricultural Journal 55: pp 192-194.

Wang,C.X.,N,Hong.,G.P,Wang.,B,Jiang.,and X. D,Fan. 2009. Effects of *Citrus Tristeza Virus* the growth of in vitro-cultured citrus. Journal of pathology 91(2): pp 357-363.

Wyss., 1949, dunant, 1949.la gommose ou les gommoses des Aurantiacées .Rev .Franc.De l'oranger, p165.

Yokomi, R.K., and Deborde, R.L.2005. Incidence, transmissibility, and genotype analyses of Citrus Tristeza Virus (CTV) isolates from CTV eradivative and noneradivative districts in central California. Plant dis.89:859-866.

Yokomi, R.K., M. Saponari., and P. J.Sierburth.2010.Rapid differentiation and identification of potential severe strains of Citrus Tristeza Virus (CTV) by real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. Phytopathology 100:pp 319-327.

Yokomi,R . K.and Garnsey, S .M .,Transmission of Citrus Tristeza Virus by *Aphis gossypii* and *Aphis citricola* in Florida, *phytophylactica* ,(1987),19:pp 169-172.

Yokomi,R.K.,Lastra,R.,Stoezel,M.B.,Damsteegt,D.,Lee,R.F.,Garnsey,S.M.Gottwalt,T. R.,Roch-Pena ,M.A.,Niblett,C.L.1994.Etablissement of the brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae) in central caribbeann Basin and transmission of the Citrus Tristeza Virus. J. Entomol,87:pp 1078-1085.

Références bibliographiques :

Zemzami, M.2008.Situation actuelle des maladies dévastatrices menaçant les agrumes au Maroc et mesures à prendre .Ed. Euro Med Citrus Net: conférence régionale, Agadir .Maroc : 26p.

Zemzami, M.2009.La *Tristeza* un fléau qui menace l'agrumiculture méditerranéenne cloque international, gestion des risques phytosanitaire Marrakech :40p.

Zhou, C.L.E., ELDesouk, A., Sheta.H., Kelley, S., Polek,M., Ullman,D.E.2002. *Citrus Tristeza Virus* ultra structure and associated cytopathology in *Citrus sinensis* and *Citrus aurantifolia*. Vol.80,N°5,pp.512-525.

Annexe

Superficies agrumicoles productives des principales communes de la wilaya de Blida (région de la Mitidja)(en Hectare).

Communes	Superficie(ha)
El Affroun	180
Ouer Djer	30
Blida	1.915
Béni Mered	780
Bouarfa	407
Chrea et Ouled Yaich	115
Ben Khellil	346
Chebli	501
Boufarik	4.190
Bouinan	1.441
Soumaa	874
Guerouaou	624
Oued El Alleug	5.118
Béni Tamou	2.241
Ouled Slama	274
bougara	1.854
Hammam Melouane	709
Larbaa	5.848
Meftah	3.005
Sohane	856
Djbabra	858
chiffa	2.284
Mouzaia	6.872
Al Romana	2.148
Superficie totale	43.740

(DSA Blida,2008)



*CONCLUSION ET
PERSPECTIVES*

Chapitre III

*RESULTATS &
DISCUSSIONS*

Chapitre II

*MATERIELS &
METHODES*

Chapitre I

*SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE*



INTRODUCTION