

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB –BLIDA 1**

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE**

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention
du diplôme de Master II en sciences de la nature et de la vie
Spécialité: Biologie des interactions plantes-microorganismes

**RECHERCHE ET IDENTIFICATION DES PUCERONS-VECTEURS DU
CITRUS TRISTEZA VIRUS SUR AGRUMES**

Présenté par :

HAMDANI MERYEM

DJELLAB DALILA

Devant le jury composé de :

Mr AROUN M .E.	MAA	USDB1	Président
Mme BELKAHLA H.	Professeur	USDB1	Promotrice
Mme BENSAID F.	MAA	USDB1	Examinatrice
Mme YAHOU S.	Magister	USDB1	Examinatrice

Soutenu : Lundi 22 Juin 2015

ANNEE UNIVERSITAIRE: 2014 / 2015

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail

On expriment d'abord notre profond remerciement à notre Dieu qui nous a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

On fait devoir d'adresser le témoignage de notre gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à nous permettre de mener notre tâche à fin sans oublié Walid et Amina.

Nos 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.

*Nos remerciements s'adressent aussi à Mr AROUN M.E
« Présidente du Jury » et Mme BESAIID F et Mme YAHOU S
« Examinatrices » qui nous ont honorés en acceptant de juger notre travail.
On tenait enfin à remercier tout le corps d'enseignements qui ont participés à notre formation et plus particulariser les enseignants de spécialité BIPM et spécialement au chef d'option.*

Liste des abréviations :

OEPP: Organisme Européenne de la protection des plantes

ARN: Acide ribonucléique

Da: Dalton

KDa: Kilodalton

CP: Protéine de la capsule

RdRp: ARN dépendant ARN polymérase

ORF: Open Reading frame

HEL: Hélicase :

HSP: Protéine de choc

dcp: la protéine de la couche de divergence

Pro: protéase

HEL: l'Hélicase

MT: méthyltransférase

CTV: *Citrus Tristeza Virus*.

Fig: Figure

Liste des figure

Figure 1 :Tableau des maladies.....	4
Figure 2 : Particules de <i>CTV</i> sous microscope électronique.....	6
Figure 3 : Diagramme du génome du <i>CTV</i> montrant les cadres ouverts de lecture (ORF).....	7
Figure 4 : Symptôme du Déclin rapide causé par le <i>CTV</i>	9
Figure 5 : Eclaircissement des nervures sur les feuilles de limettier.....	9
Figure 6 : Striure de bois.....	10
Figure 7 : Réduction du calibre des fruits.....	11
Figure 8 : Subérification des nervures sur la lime mexicaine.....	11
Figure 9 : Déformation sur les plantes indicatrices sur la lime mexicaine.....	11
Figure 10 : Symptôme de jaunissement des feuilles.....	12
Figure 11 : Symptômes de nid d'abeille.....	12
Figure 12 : Photo électronique montrant l'ultra structure des cellules de <i>Lime mexicaine</i> infectées par <i>CTV</i>	13
Figure13 : Cycle annuel de vie des pucerons.....	15
Figure14 : Individus aptères et ailés d' <i>Aphis gossypii</i>	16
Figure 15 :Individus aptères et ailés d' <i>Aphis spiraecola</i>	17
Figure16 : Individus aptères de <i>Toxoptera aurantii</i>	19
Figure 17 :individus ailés et aptères de <i>Toxoptera citricida</i>	20
Figure 18 :Individus aptères et ailés de <i>Myzus persicae</i>	21
Figure 19 : Transmission selon le mode semi persistant.....	23
Figure 20 : Station expérimentale du département de Biotechnologie	24

Figure 21 : Exploitation 1.....	25
Figure 22: Exploitation 2	25
Figure 23: Exploitation 3.....	26
Figure 24: Exploitation 4.....	26
Figure 25: Exploitation 5.....	27
Figure 26: Schéma représentatif du protocole de la collecte des pucerons (La diagonale).....	28
Figure 27: Conservation des échantillons dans des sacs en plastiques.....	29
Figure 28: Etapes de montage des pucerons.....	30
Figure 29: Transmission du puceron <i>Aphis spiraeicola</i> sur pois	31
Figure 30: Symptôme de feuille en cuillère	32
Figure 31: Symptôme de l'enroulement des feuilles.....	32
Figure 32: Symptôme d'éclaircissement des nervures.....	33
Figure 33: Symptôme de feuille en cuillère	33
Figure 34: Symptôme de jaunissement des feuilles	33
Figure 35: Symptôme de dépérissement d'arbre	34
Figure 36: Symptôme de bois strié sur tronc.....	34
Figure 37: Symptômes d'enroulement et feuille en cuillère.....	34
Figure 38: Symptôme de jaunissement des feuilles	35
Figure 39: Symptôme de dessèchement des branches.....	35
Figure 40: Symptôme d'enroulement des feuilles.....	35
Figure 41: Symptôme d'éclaircissement des nervure	36
Figure 42: Symptôme d'éclaircissement des nervurs.....	36

Figure 43: Symptôme de jaunissement	37
Figure 45: Symptôme de dessèchement des feuilles	37
Figure 46: Symptôme de dessèchement des branches.....	37
Figure 47: Symptôme de nanisme.....	38
Figure 48: Symptôme de bois strié sur tronc.....	38
Figure 49: Symptôme d'enroulement des feuilles.....	38
Figure 50: Symptôme de feuille en cuillère.....	39
Figure 51: Symptôme de jaunissement des feuilles.....	39
Figure 52: Pucerons <i>Aphis spiraecola</i> observés sur les jeunes pousses d'oranger	40
Figure 53: Individu aptère d' <i>Aphis spiraecola</i> observé sous la loupe binoculaire Gr X 40	40
Figure 54: Taux d'infestation d' <i>Aphis spiraecola</i> dans les différents sites prospectés.....	41
Figure 55: symptôme d'enroulement des feuilles.....	42
Figure 56: symptôme taches annulaires sur feuilles.....	43
Figure 57: Symptômes éclaircissement des nervures.....	43
Figure 58: Symptôme de jaunissement.....	43
Figure 59: Symptôme de vein banding.....	44
Figure 60: Symptôme de feuille en cuillère.....	44
Figure 61: Symptôme de nanisme.....	44
Figure 62: Symptôme de dessèchement des feuilles.....	45
Figure 63: Symptôme de dépérissement de la plantule.....	45

Résumé

La maladie de la *Tristeza* est causée par *Citrus Tristeza Closterovirus (CTV)*, et est largement répandue dans le monde et à une grande incidence économique sur les agrumes. Ce virus se transmet par plusieurs espèces de pucerons (*Aphis gossypii*, *Aphis citricola*, *Toxoptera citricida*, *Toxoptera aurantii*, *Myzus persicae*). L'objectif de notre travail était de rechercher et identifier les pucerons-vecteurs du *CTV* en Mitidja dans le but de réaliser un diagnostic phytopathologique par l'inventaire des pucerons vecteurs de cette maladie dans les willayate de : Blida au niveau de: la station expérimentale de département de Biotechnologie, exploitations de Mouzaia 1, Guerouaou 1, Boufarik 1 et de Tipaza au niveau de Berbessa 1 et Attatba 1. L'étude symptomatologique a montré la présence des symptômes typiques du *CTV*: jaunissement des feuilles, éclaircissement des nervures, feuilles en forme de cuillère, nanisme, et le dépérissement de l'arbre. Un vecteur responsable de la transmission du virus a été identifié, il s'agit d'*Aphis spiraecola*.

Mots clés : puceron-vecteur, *CTV*, agrumes, *Aphis spiraecola*, Mitidja.

Abstract

Research and identification of aphids-vectors of *CTV* on citrus in the region Mitija.

Tristeza disease caused by *Citrus Tristeza Closterovirus (CTV)*, which is widespread in the world and a major economic impact on citrus is transmitted by several species of aphids (*Aphis gossypii*, *Aphis citricola*, *Myzus persicae*, *Toxoptera citricida*, *Toxoptera aurantii*). The objective of our work was to investigate and identify aphid-vectors of *CTV*, the purpose is to make a diagnosis Phytopathological inventory of aphid vectors of this disease in Mitidja in the following stations: Blida :station of the Department of biotechnology, Mouzaia 1, Guerouaou 1, Boufarik 1 and Tipaza: Berbessa 1 et Attatba 1.

The symptomatology study showed us the presence of typical symptoms of *CTV*: leaf yellowing, vein clearing, spoon-shaped leaves, dwarfism plants, and wasting of the tree. A vector responsible for the transmission of the virus has been identified, it is *Aphis spiraecola*

Key words: vector, *CTV*, citrus fruits, *Aphis spiraecola*, Mitidja,

بحث وتشخيص المن الوسيط : **CTV** الحمضيات في منطقة متيجة

التريستيزا فيد يسببه فيروس **CTV** يسبب خسارة اقتصادية فادحة للحمضيات. لديه

: عن طريق التطعيم أو هي: *Aphis citricola* *Aphis gossypii*

Myzus persicae, *Toxoptera citricida*, *Toxoptera aurantii*

الهدف المرجو من هذا العمل هو البحث و التعرف عن الوسيط التريستيزا و كذلك القيام

بتشخيص هذا المرض من اجل إيجاد حلول لتتيسر السريع لأشجار الحمضيات الذي ظهر في الحقول المدروسة

ولايتين البلدية (ربيبة التابعة لكلية البيوتكنولوجيا، موزاية 1 و بوفاريك 1 و تيبازة (بربيسة 1 (1).

التريستيزا بينت لنا وجود الأعراض الخاصة لهذا المرض المتمثلة في:

, التيبس الكامل للشجرة. الوسيط المسؤول عن نقل هذا المرض

, التريستيزا هو *Aphis spiraeicola* .

: لوسيط ، **CTV** المتيجة الحمضيات *Aphis spiraeicola*

Sommaire

Introduction

Chapitre I : Partie Bibliographique

I. Présentation de la plante hôte.....	3
I.1. Origine et historique.....	3
I.2. Exigences des agrumes.....	3
I. 2. a. Exigences climatiques.....	3
I. 2. b. Exigences édaphique.....	4
I.3. Maladies de dépérissement des agrumes.....	4
I.3.1. Maladies cryptogamiques.....	4
I.3.2. Maladies bactériennes.....	5
I.3.3. Maladies à phytoplasme.....	5
I.3.4. Maladies à viroïde.....	6
I.3.5. Maladies à agent causal inconnu.....	6
I.3.6. Maladies virales.....	6
II. Etude du CTV	7
II.1. Impact du CTV.....	7
II.2. Classification.....	8
II.3. Synonymes.....	10
II.4. Répartition géographique.....	10
II.5. Gamme d'hôte.....	10
II.6. Symptôme.....	11
II.6.1. Symptômes macroscopiques.....	11
II.6.2. Symptômes microscopiques	16
III. Etude des pucerons-vecteurs.....	17
III.1. Classification des pucerons-vecteurs.....	17
III.2. Cycle biologique.....	17
III.3. Dégâts causés par les pucerons.....	19
III.4. Principaux vecteurs.....	19
III.5. Voies de transmission.....	24
III.5. a. Voie végétative.....	25
III.5. b. Contact.....	26
III.5. c. Pucerons.....	26

Chapitre II: Matériels et Méthodes

I. Prospection et échantillonnage.....	27
I. 1. Présentation des sites prospectés.....	27
I. 2. Méthode d'échantillonnage.....	30
I. 3. Conservation des échantillons.....	31
I. 4. Méthode d'identification.....	32
I. 4.1. Méthode de montage des pucerons.....	32
II. Méthode biologique.....	33
II. 1. Préparation des plantules tests.....	33
II. 2. Inoculation par pucerons.....	34

Chapitre III: Résultats et Discussion

I. Analyse symptomatologique sur terrain.....	35
I. 1. Distribution des symptômes au niveau des sites prospectés.....	35
I. 2. Discussion de la distribution des symptômes.....	43
II. Résultats de la collecte des populations aphidiennes.....	43
II. 1. Identification des populations de pucerons-vecteurs du <i>CTV</i>	43
II. 2. Discussion de l'identification.....	44
III. Test Biologique.....	45
III. 1. Résultats du test biologique.....	45
III. 2. Discussion de résultats de test biologique.....	48

Conclusion et Perspectives

Références bibliographiques

Introduction :

Les agrumes sont le groupe de fruits le plus cultivé dans le monde et qui représentent la première production fruitière dans de nombreux pays (**Aubert et Vullin, 1997**). Le terme agrume recouvre différents types de fruits et de produits dérivés bien que les organes soient le principal représentant de cette catégorie avec environ 70% des agrumes produits, le groupe inclut également d'autres fruits tels que les mandarines, les clémentines, les citrons, ainsi que les pamplemousses ...etc. Les agrumes sont produits dans différents pays à travers le monde, bien que la production soit principalement concentrée dans certaines zones géographiques, les pays du bassin méditerranéen constituent la première région productrice de fruit frais (**Bové, 1965**).

La production mondiale d'agrumes se situe autour de 115 Millions de tonnes (mt), dont 65 mt sont consommés localement en frais, 35 mt sont destinés à la transformation et 15 mt à l'exportation. La production mondiale d'agrumes comprend 63 mt d'orangers (*Navel, Maltaises, Sanguines, Valencia late...*) 24 mt de petits fruits (*Satusma, Clémentines, Mandarines...*), 14 mt de limons (Citrons, Limes) et 14mt de Pamplemousses. Dans la région méditerranéenne, 16 à 17 mt sont produites par les 12 pays membres du Comité de Liaison des Agrumes Méditerranéens (CLAM) (**Kaouthar, 2010**).

L'Algérie parmi les pays du bassin Méditerranéen où l'agrumiculture constitue l'un des principaux secteurs de l'économie, couvre une superficie globale de 59 368 ha en 2004 et la production répartie dans trois grandes régions, la région de l'ouest qui est l'Oranie avec les wilayate : Oran, Mostaganem, Tlemcen, Mascara, Sidi Belabbes et Relizane ; la région de centre avec la plaine de Mitidja, Tizi Ouzou, Bouira et Chlef, et la région de l'est le Constantinois avec les régions de Djijel, Annaba, Skikda, Guelma et Bejaia (**Hadj Sahraoui, 2007**).

La production algérienne des agrumes a baissé pendant la dernière décennie par suite des conditions climatiques défavorables (sécheresse sévère), vieillissement des vergers, mais le facteur limitant par excellence reste les maladies : bactériennes, fongiques et virales. Ces dernières peuvent se transmettre par divers moyens à savoir : greffage, par graine et par vecteurs (**Anonyme, 2006**).

Comme toutes les autres spéculations agricoles, les agrumes sont l'objet d'attaques de diverses maladies et ravageurs. Celles-ci peuvent avoir lieu sur différentes parties des arbres (feuilles, fleurs, fruits, racines, tronc et branches...etc.) et leur importance varie d'une région à l'autre suivant les conditions de l'environnement et les pratiques culturelles (**Ouedraogo, 2002**).

En effet, les agrumes sont confrontés à des virus endémiques et d'autres émergent. Parmi ces virus, certains peuvent avoir des conséquences graves telles que la *Psorose* et la *Tristeza* (**klotz, 1973**).

Parmi les maladies les plus redoutables sur les agrumes, le dépérissement constitue certainement un souci majeur dans les régions agrumicoles: le *CitrusTristeza virus* qui est la maladie la plus destructrice sachant que la quasi-totalité des portes greffes utilisés pour les agrumes algériens est le bigaradier qui est connu comme étant le plus sensible au *CTV* (**Khan, 2007**).

Le *CTV* a été détecté pour la première fois en Algérie par **Bayoud en (2001)**, **Benazouz en (2002)**, **El-feran en (2003)**, **Kheddem en (2009)**, **Alloun en (2010)**, **Bouafia en (2011)**, **Guettouche en (2012 et 2013)** et enfin **Seffar et Chanane en (2014)**.

A cet effet l'objectif de notre travail a consisté à la recherche et identification des pucerons-vecteurs du *CTV* qui sont : *Toxoptera aurantii*, *Toxoptera citricida*, *Aphis spiraecola*, *Aphis gossypii* et *Myzus persicae*, dans différentes régions agrumicoles afin de mettre au point un moyen de lutte contre ces vecteurs de virus de dépérissement (*Tristeza*) qui apparaît au sein des vergers agrumicoles chaque année.

I. Présentation de la plante hôte :

1. Origine et historique :

L'origine géographique exacte des agrumes n'est pas clairement identifiée. D'après (**Loussert, 1985**), ils sont originaires de 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 anciennes de la Chine, qui les cultivèrent d'abord pour leurs parfums, puis pour leurs fruits. Avec le rayonnement des civilisations Chinoises et Hindoues que leur culture commença à se propager, au cours du premier millénaire avant notre ère, à l'ensemble des pays du sud-est asiatique (sud du Japon et Archipel de Malaisie). Les Cédraiers furent probablement les premiers agrumes cultivés en méditerranée au VII^{ième} siècle avant notre ère (**Loussert, 1989**). Ce même auteur souligne aussi que c'est à partir du bassin méditerranéen et aux grandes découvertes que les agrumes furent diffusées dans le monde. Dès le X^{ième} siècle, les navigateurs arabes les propagent sur les côtes orientales de l'Afrique jusqu'au Mozambique. Christophe Colomb, à l'occasion de son second voyage (1493), les introduit en Haïti, à partir de laquelle la diffusion se fera vers le Mexique (1518), puis les Etats-Unis d'Amérique (1569 à 1890). Enfin, ce sont les navigateurs Anglo-hollandais en 1654 qui introduisent les premiers agrumes dans la province du Cap en Afrique du Sud.

2. Exigences des agrumes :

a) Exigences climatiques :

Les températures moyennes favorables à la culture des agrumes sont de l'ordre de 10 à 12°C pour les moyennes hivernales et de 22 à 30°C pour les moyennes estivales. Les agrumes ne supportent pas le gel qui peut affecter le feuillage, les jeunes pousses et même les rameaux, avec une différence de dégât selon la rusticité de l'espèce ou la variété. Les exigences des agrumes en eau sont de 1.500 mm de pluie par an (**Grissa, 2010**).

b) Exigences édaphiques :

Les sols légers et profonds conviennent mieux pour les agrumes. Ces derniers prospèrent en sols perméables, bien aérés et bien drainés, où les eaux de pluies et celles de l'irrigation s'écoulent facilement en profondeur. Un bon sol agrumicole doit avoir une perméabilité de 8 à 10 mm/h. Les agrumes s'accommodent à des pH plutôt acides variant entre 6,5 à 7 et sont favorables à une bonne assimilation des éléments minéraux (**Grissa, 2010**).

3. Maladies de dépérissement des agrumes :

Les maladies des agrumes sont nombreuses, causées par des champignons (Pourriture noire, Gommose), bactéries (Dragon jaune, Chlorose variéguée), phytoplasme (stubborn), viroïde (exocortis) (**Praloran, 1971**) et enfin et des virus (Psorose et Tristeza) (**klotz, 1973**).

Agent responsable	Maladie	Références
Champignon	La gommose à <i>Phytophthora</i>	Loussert, 1989
	La fumagine	Loussert, 1989
	L'anthracnose	Loussert, 1989
	Le mal secco	Loussert, 1989
Bactérie	Huang Long Bin (HLB)	Anonyme, 2003
	Chlorose varie gue	Anonyme, 2003
	Chancre des agrumes	Loussert, 1989
Phytoplasme	Stubborn	Praloran, 1971
Viroïde	Exocortis	Praloran, 1971
	cachéxie-xyloporose	Anonyme, 2007
Virus	Psoroses	Mhamdi, 2012
	<i>Citrus Tristeza Closterovirus</i>	klotz, 1973

II. Etude du CTV:

1. Impact du CTV :

Le *CTV* 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), principalement en raison de la sévérité des dommages qu'elle cause (Albiach-Marti et al., 2000). Cette maladie touche presque toutes les espèces du genre *Citrus*, les cultivars et l'hybrides inter-génériques (Kim et al., 2000), cependant l'effet le plus dramatique est la mort des arbres greffés sur le bigaradier (*Citrus aurantium L*) (Iracheta-Cardenas et al., 2009).

L'origine du *CTV* 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 ensuite elle a 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), en 1984 et 1987 (Nadori et Zenzami, 1992) 64 cas du *CTV* ont été décelés dans les collections à travers le Maroc, et en 2001 le *CTV* été détecté pour la première fois en Algérie par Bayoud.

Son nom signifiant la tristesse, lui a été donné par les paysans du Brésil dès cette époque où la maladie avait détruit, en dix ans, plus de 8 millions d'arbres (Ayers, 2001 ; Batista et al., 2008).

2. Classification :

Le *CTV* fait partie de l'ordre des *Nivirales*, famille des *Closteroviridae* et de genre *Closterovirus* (Satyanayana et al., 2002 ; Nolasco et al., 2009 ; Wang et al., 2009). Il appartient à la liste A2 OEPP: n° 93 (Anonyme, 1978).

Ce virus apparait au microscope électronique sous forme de tige flexueuse mesurant environ 12x2000 nm (Fig.1) (Iracheta-Cardenas et al., 2002 ; Folimonov et al., 2008 ; Iftikhar et al., 2009).



Figure 1: Particules de *CTV* sous microscope électronique Gr x 2000 (Cherry, 2004).

Le *CTV* est constitué d'un brin d'ARN d'environ $6,5 \cdot 10^6$ Da (Bar-Joseph et al., 1989) à sens positif. Le génome est formé de 193 nucléotides (Price et al., 1996) avec 2 protéines capsidiales (CP):

- CP couvrant 95% de la longueur de la particule et la protéine de la couche de divergence.
- dCP couvrant 5% de la longueur de la particule (Xiao-Feng et al., 2006) présente à une seule extrémité de la particule formant une structure en serpent (Gargo-Zachert et al., 1999).
- Entre les 2 protéines (CP et dCP) existe 4 régions de séquence de conservation (Domaine I, II, III, IV) (Agranovsky et al., 1995).

Le séquençage du *CTV* a été réalisé par (Karasev et al., 1995); en étudiant le T36 isolat de Floride; trois blocs de gènes sont identifiés (Zhu et al., 1998) (Fig. 2). Son génome est organisé en 12 cadres ouverts de lecture (Open Reading Frame « ORFs ») codant pour la production de 17 protéines ; le bloc 5' est appelé « ORF1a » (ORF du début) situé au nucléotide 108 et comportant plusieurs polyprotéines du 5' au 3' dont 2 papain- like protéase (P- Pro), Methyltransferase (MT) et l'Helicase (HEL). L' « ORF1b » d'arrêt est formé de 57 KDa de RNA putatif-RNA polymérase-dépendant « RdRp », qui est probablement exprimé grâce à une lecture inverse au niveau de plusieurs ribosomes et cela à cause du codon CGG (arginine) (Fig.2) (Karasev et al., 1995 ; Yang et al., 1999; Lbida et al., 2004).

Le deuxième bloc contient 5 ORFs; 3-7 conservant le *CTV* parmi les *Closterovirus*, et renfermant les gènes du *CTV* homologue de HSP70 protéines, et la duplication des gènes de la protéine capsidiale (**Fig.2**) (**Price et al., 1996**).

Le troisième bloc contient l'ORF 8 et 11 terminaux codant pour le RNA-protéine agglomérant (attachante) ORF11 et 3 protéines à fonction indéterminée (**Fig.2**) (**Karasev et al., 1995**).

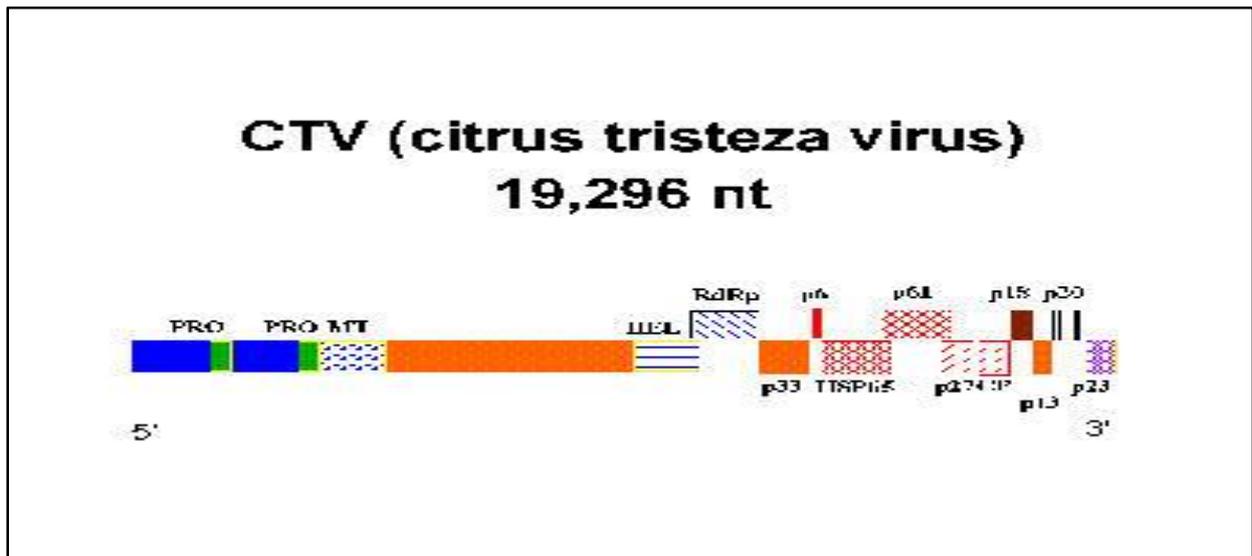


Figure 2: Diagramme du génome du *CTV* montrant les cadres ouverts de lecture (ORF) (**Lee et al., 1994**).

Légende: CP: protéine de la capsidie ; HEL: hélicase ; HSP: protéines du choc par la chaleur ; MT: méthyltransférase ; PRO : protéase ; RdRp: ARN dépendant d'ARN polymérase.

3. Synonymes :

Cette grave affection est connue par plusieurs appellations :

- *Citrus seedling yellows virus* (**Fraser, 1952**).
- *Citrus quick decline virus* (**Fawcett et Wallace, 1946**).
- *Grapefruit stem pitting virus* (**Oberholzer et al., 1949**).
- *Lime die-back virus* (**Hughes et Lister, 1949**).
- *Hassaku dwarf virus* (**Lee, 1989**).

4. Répartition géographique:

Le *CTV* a une répartition géographique très vaste et très étendue (Lee, 2000). Il a été déclaré dans les pays de l'OEPP (Espagne, France, Palestine, Turquie, Algérie, Egypte, Italie, Maroc et Tunisie). En Asie (Arabie saoudite, Chine, Inde, Iran, Japon, Pakistan). En Afrique (Afrique du Sud, Cameroun, Ghana, Kenya, Nigéria, Tchad). En Amérique (Mexique, Etats-Unis, California, Florida, Hawaii, Jamaïque, Brésil, Chili) et en Océanie (Australie, Nouvelle-Zélande) (Fig. 3) (Anonyme, 1978).



Figure 3: Répartition géographique du *CTV* dans le monde (Benidicte et Bachés, 2001).

5. Gamme d'hôte :

Le *CTV* infecte toutes les espèces, cultivars et hybrides des agrumes. Ce virus infecte aussi certains genres apparentés aux agrumes tels qu'*Aeglopsis*, *Afraegle*, *Fortunella*, *Pamburus* et quelques hybrides intergénériques (Smith et al., 1992). Dans la région méditerranéenne, pratiquement toutes les espèces d'agrumes sont hôtes (Bertin et al., 2000).

6. Symptômes :

Les symptômes causés par le virus du *CTV* sont différents par leur sévérité, la spécificité du vecteur et de la gamme d'hôte et peuvent être décrits de la manière suivante :

6.1. Symptômes macroscopiques :

Les symptômes du *CTV* sont extrêmement variables et dépendent de l'isolat du virus, de l'hôte, d'environnement, et du rapport de greffon / porte greffe (Olsen et al., 2000). Le *CTV* cause deux symptômes importants : déclin rapide et bois strié (Bar-Joseph et al., 2002). Le symptôme le plus foudroyant du *CTV* est le « déclin rapide » ou mort brutale affectant l'oranger, mandarinier et pomelo greffés sur bigaradier. Le virus présent dans la sève du greffon, cause rapidement une occlusion (nécrose) du phloème du porte-greffe au niveau du point de greffe, le flux de sève est bloqué et un rapide déclin de l'arbre est observé, il est possible d'observer une décoloration jaune brun au niveau du point de greffe (Fig.4) (Leblanc et al., 2005).



Figure 4: Symptôme du Déclin rapide causé par le *CTV* (Leblanc et al., 2005).

Légende: A : arbre malade ; B : arbre sain.

Sur limettier (en particulier la *Lime mexicaine*), le *CTV* est caractérisé par des symptômes foliaires typiques, dénommés « éclaircissement des nervures ». Ces symptômes qui apparaissent tardivement consistent en l'éclaircissement en tiret des nervures foliaires, lorsqu'on observe les feuilles à contre-jour (Fig.5) (Leblanc et al., 2005).

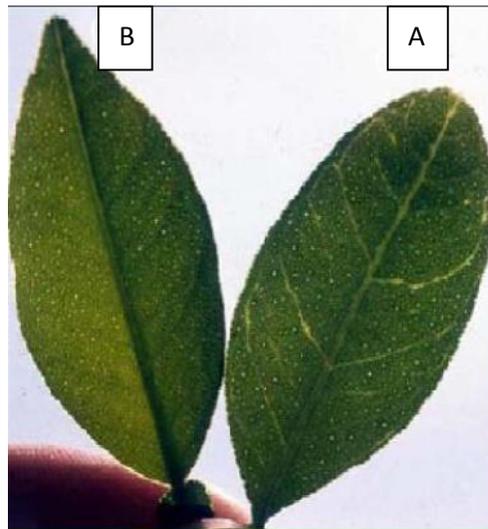


Figure 5: Eclaircissement des nervures sur les feuilles de limettier (Zemzami, 2008)

Légende: A : Feuille malade ; B : Feuille saine.

La striure de bois est le symptôme typique de la maladie, il est observé généralement sur limettiers, pomelos et certaines variétés d'orangers, en soulevant l'écorce au niveau du point de greffe, on observe de fines et longues cavités qui sont le résultat de la destruction d'îlots de cambium (assise génératrice du bois).

Pour des cas sévères de striure de bois, il apparaît des cannelures plus moins régulières et plus ou moins profondes correspondant à des dépressions du bois sous-jacent (**Fig. 6**) (Leblanc et al., 2005).



Figure 6: Striure de bois (Zemzami, 2009).

Légende: A: plant malade; B: plant sain.

Les fruits des arbres affectés sont souvent petits et de mauvaise qualité (**Fig. 7**) (**Anonyme, 1978**).

Le *CTV* se caractérise également par la présence des symptômes typiques chez certaines espèces, qui consiste à des subérfications des nervures (**Fig. 8**) suivis de jaunissements (**Fig. 10**) et des déformations des feuilles de limiers en forme de cuillère (**Fig. 9**) (**Bar-Joseph et al., 1989 ; Guerri et al., 1990 ; Ghorbel et al., 2001 ; Bar-Joseph et al., 2010**).



Figure 7: Réduction du calibre des fruits (**Navaro, 2004**)

Légende: A :

Fruits malade ; B : Fruit sain.

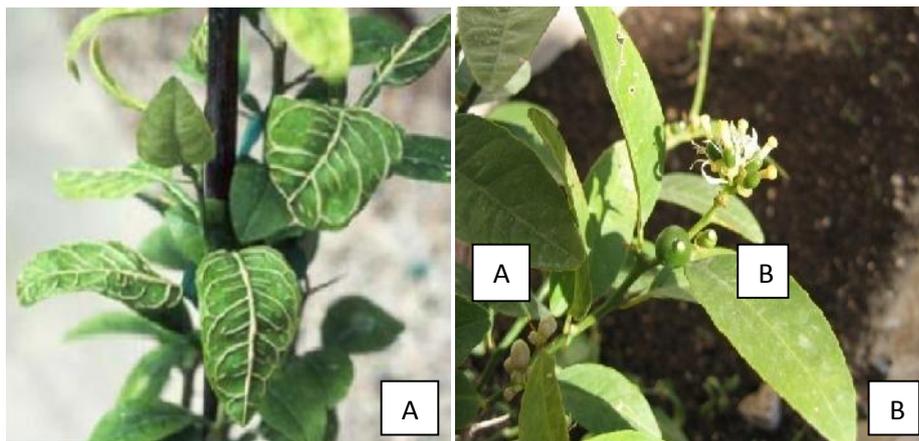


Figure 8: Subérfication des nervures sur la lime mexicaine (**Zemzami, 2009**).

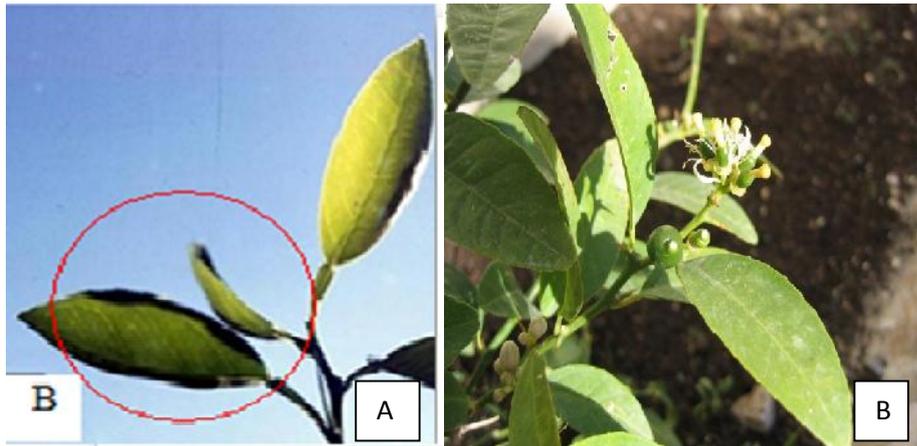


Figure 9: Déformation sur les plantes indicatrices sur la lime mexicaine (Roistacher, 1991).

Légende: A: Feuilles malade ; B: Feuilles saine

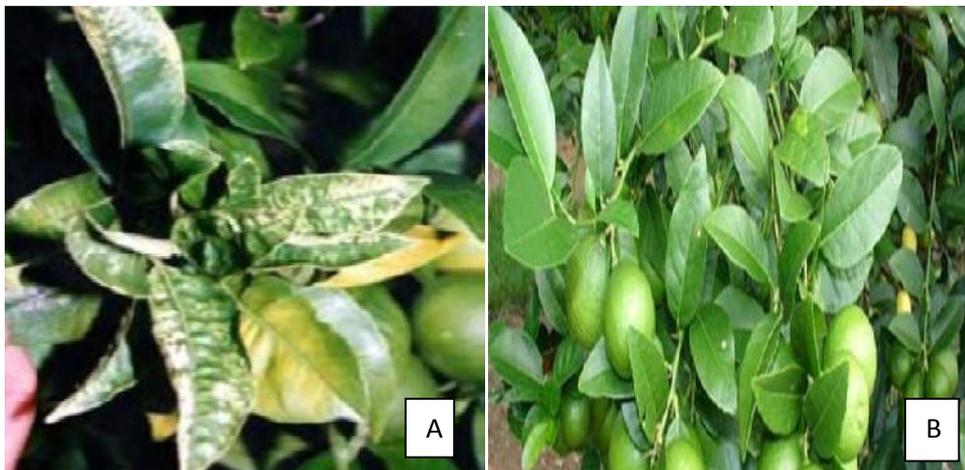


Figure 10: Symptôme de jaunissement des feuilles (Roistacher, 1991). **Légende:** A : Feuilles malade (jaunissement); B : Feuilles saine.



Figure 11: Symptômes de nid d'abeille (Zemzami, 2009).

Légende: A: plant malade; B: plant sain.

6.2. Symptômes microscopiques :

Les expériences réalisées ont montré que l'infection des plantes indicatrices *Lime mexicaine* (*Citrus aurantifolia* (L.) Swingle) et 'Madame Vinous' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) par le CTV est courante dans le parenchyme du phloème et dans les cellules voisines et moindre dans les éléments de vaisseaux criblés matures (**Fig. 13**). 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 (**Fig. 12**) (**Zhou et al., 2002**).

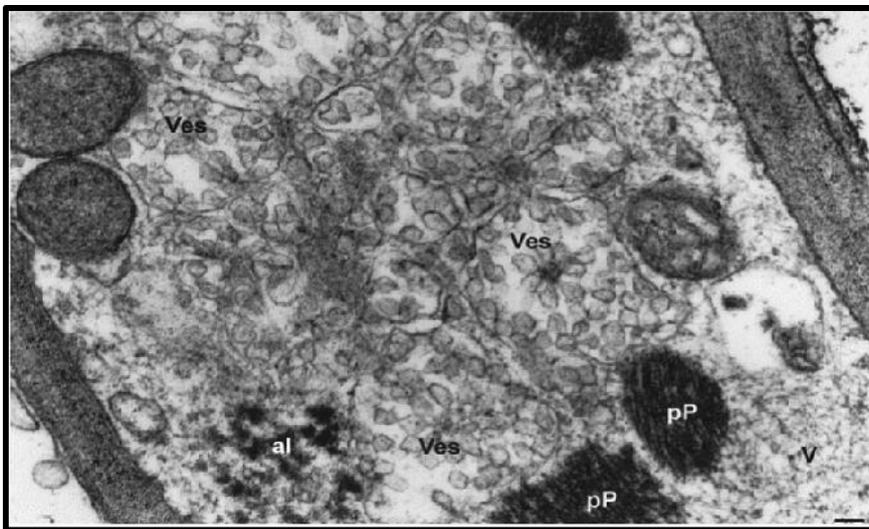


Figure 12: Photo électronique montrant l'ultra structure des cellules de *Lime mexicaine* infectées par CTV Gr x 80000 (**Satyanarayana et al., 2001**).

Légende : V: accumulation des grandes particules du virus, pP: des agrégats de protéines, al: des corps d'inclusions amorphes, Ves: vésicules typiques dans une cellule de parenchyme de phloème (Bar=100nm).

III. Etude des Pucerons-vecteur du CTV :

Les pucerons ou les aphides constituent un groupe d'insectes extrêmement répandu dans le monde. On connaît actuellement plus de 4500 espèces dans le monde dont 900 environ en Europe. 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).

1. Classification des pucerons vecteurs :

D'après Cambrat et al., 2000 les pucerons sont classés :

Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Arthropoda</i>
Sous-embr.	<i>Hexapoda</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Sous-classe	<i>Pterygota</i>
Infra-classe	<u><i>Neoptera</i></u>
Super-ordre	<i>Hemipteroidea</i>
Ordre	<i>Hemiptera</i>
Sous-ordre	<i>Sternorrhyncha</i>

2. Cycle biologique :

Les pucerons peuvent être divisés en 2 groupes en fonction de leur cycle de vie :

1. Les espèces dites monoeciques qui se nourrissent sur les mêmes espèces de plantes vivaces ou herbacées tout au long de l'année (**Fig. 13**).
2. Les espèces dites dioeciques ou hétéroeciques qui, au cours de leur cycle biologique, changent d'hôte et migrent d'un hôte primaire (souvent des plantes ligneuses, en hiver) vers une ou plusieurs espèces secondaires (telles des plantes herbacées durant l'été) (**Fig. 13**) (**Rabatel, 2011**).

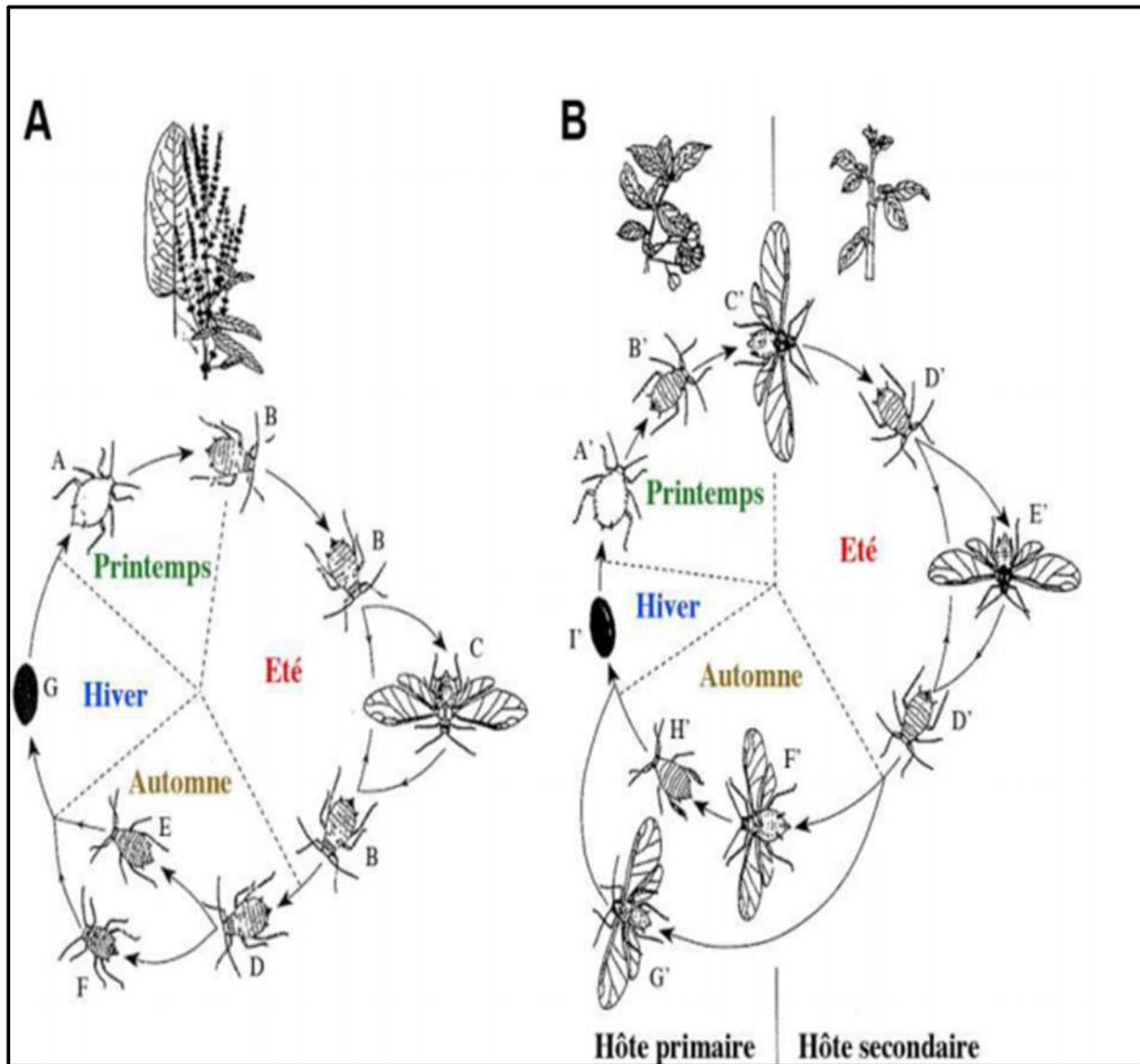


Figure 13: Cycle annuel de vie des pucerons (Rabatel, 2011).

Légende :

(A) Cycle monœcique du puceron :

(A) la femelle fondatrice, (B) les formes aptères parthénogénétiques, (C) la forme ailée parthénogénétique, (D) la sexupare, (E) la femelle sexuée, (F) le mâle, et (G) l'œuf.

(A) Cycle diœcique du puceron :

(A') la femelle fondatrice, (B') la fondatrigrène, (C') la forme ailée migrante de printemps, (D') les formes aptères parthénogénétiques, (E') la forme ailée parthénogénétique, (F') la forme gynopare migrante d'automne, (G') la femelle sexuée, (H') le mâle, (I') l'œuf.

3. Dégâts causés par les pucerons :

Les pucerons causent des dégâts directs qui sont dus à la ponction de la sève entraînant l'enroulement et la crispation des jeunes feuilles et par la suite, la réduction du développement des pousses. Ils peuvent, également, entraîner la chute des fleurs et des jeunes fruits. Les dégâts indirects sont dus essentiellement à la transmission des virus (**Grissa, 2010**) et la sécrétion du miellat qui forme un enduit visqueux et luisant qui gêne la photosynthèse et provoque la déshydratation, le dessèchement et la chute prématurée des feuilles (**Assabah, 2011**).

4. Principaux vecteurs :

D'après (**Moreno et al., 2008**) : les principaux pucerons vecteurs du *CTV* sont:

Aphis gossypii (Clover), *Aphis spiraecola* (Patch), *Toxoptera aurantii* (Boyer de fonscolombe), *Toxoptera citricida* (Kirkaldy), *Myzus persicae* (Sulzer).

4.1. *Aphis gossypii* Clover (1877) :

a) Morphologie:

Le puceron *A. gossypii* est appelé communément le puceron du melon. Les individus sont de couleur jaunâtre à vert sombre, d'une longueur de 1.2 à 2.2mm, les antennes sont jaunes pale (**Fig. 14**) (**Halbert et al., 2000**). Les ailés sont généralement verts à vert foncé portant de courtes antennes (**Halbert et al., 2000**).

b) Biologie :

Ce puceron est très polyphage, retrouvé dans toutes les régions tempérées, il s'attaque à des très nombreuses plantes: les agrumes, cultures maraichères (**Celini, 2001**) et se développe dès le début du printemps et jusqu'à la fin de l'été (**Fig. 14**) (**Hullé et al., 1999**).



Figure 14: Individus aptères et ailés d'*Aphis gossypii* (Sekkat, 2007)

4.2. *Aphis spiraecola* Patch (1914) :

a) Morphologie :

Ce puceron est appelée le puceron vert des *Citrus*. Les individus sont de petite taille d'une longueur de 1.2 à 2.2mm d'une couleur verte. Les antennes sont pales et courtes (**Fig. 15**) (**Hullé et al., 1998**).

b) Biologie :

Le puceron est holocyclique en Amérique et Japon, et anholocyclique en Europe (**Hullé et al., 1998**) (**Fig. 15**). Plusieurs générations se développent au cours de l'année sur les *Citrus* où l'on dénombre plus de 40 générations par an. 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 (**Djouidi et al., 2004**).



Figure 15: Individus aptères et ailés d'*Aphis spiraecola* (Djoudi et al., 2004)

4.3. *Toxoptera aurantii* B.D.F. (1841) :

a) Morphologie :

Ce puceron a un corps de couleur foncée. Les adultes aptères sont noirs brillant. Les antennes et les pattes sont de couleur alternativement claire et foncée, rosâtre et brunâtre le plus souvent. Le puceron adulte mesure 2 mm de long d'environ (Fig. 16) (Andriantianarivo, 2002).

b) Biologie :

Cette espèce évolue en plusieurs générations qui se chevauchent au cours de l'année. Elle se reproduit sans interruption pendant toute l'année. Les deux périodes de grandes pullulations se distinguent nettement ; l'une se situe au printemps, l'autre à l'automne. La durée du développement complet d'une génération, sous les conditions optimales (20 à 25°C), s'élève à une semaine environ. En hiver, l'évolution se poursuit normalement mais au ralenti. Par contre les températures élevées (plus de 30°C) et les vents chauds d'été provoquent sa mort. Les zones littorales offrent des conditions particulièrement favorables au développement de cette espèce. Un adulte peut donner naissance à une cinquantaine de larves (Fig. 16) (Halbert et al., 2004).



Figure 16: Individus aptères de *Toxoptera aurantii* (Anonyme, 2013)

4.4. *Toxoptera citricida* Kirkaldy (1907):

a) Morphologie :

Les adultes aptères sont de taille moyenne de 1,5 à 2,8mm de long. Ils sont brillants, brun très foncé à noir. La queue est épaisse et arrondi au sommet (**Fig. 17**) (Anonyme, 2006).

Les adultes ailés sont distinctifs. Ils peuvent être reconnus par des segments noirs antennaires remarquables I, II et III (Halbert et al., 2000). Le 3^{ème} segment antennaire est totalement noir suivi d'un 4^{ème} segment pâle. 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 (**Fig. 17**) (Stoetzel, 1994).

b) Biologie :

Le cycle de vie de ce puceron est beaucoup moins complexe que les autres aphides et diffère selon les régions (Halbert et Brown, 1998). Ce puceron est anholocyclique pendant la majeure partie de sa vie, préférant les climats chauds. Il peut cependant tolérer les régions froides comme le sud du Japon en développant une étape holocyclique et d'hivernage pour les œufs (Yokomi, 2009).

Les larves ou nymphes se développent rapidement à température de 20°C. Les femelles sont parthénogénétiques et une génération se développe en 6-8 jours. On ne lui connaît pas de reproduction sexuelle fertile. Le potentiel de reproduction dépend plutôt de l'abondance de sève; il est compris entre plus de 47 larves pondues en 12 jours à moins de 22 larves pondues en 20 jours (Yokomi, 2009).



Figure 17: individus ailés et aptères de *Toxoptera citricida* (Anonyme, 2013)

4.5. *Myzus persicae* Sulzer (1776) :

Le puceron vert du pêcher est un parasite majeur et potentiellement très dangereux (Fig18) (Frantantuono, 2011). Il attaque le plus grande nombre des plantes cultivées (Blackman et Eastop, 2000).

a) Morphologie :

Le puceron vert du pêcher est un petit puceron qui mesure 1.4 à 2.6 mm, d'une couleur vert jaunâtre et rose chez les nymphes. Les cornicules et les pattes sont assez courtes. Les antennes sont à peu près égales au corps. La queue est petite et de forme triangulaire (Fig18) (Irbab et al., 2005).

b) Biologie :

Ce puceron est le plus répandu en vergers de pêcher et amandier. Ce dernier est une espèce migrant vers les plantes herbacées. Il hiverne au stade œufs pondus à la base des bourgeons. Sous climat méditerranéen, les éclosions ont lieu de fin Janvier à fin Février. La larve évolue en femelle adulte fondatrice une semaine plus tard. Elle pénètre dans les boutons floraux où elle donne la première descendance de virginipares aptère (**Fig. 18**). Le maximum des infestations a lieu en Mai. Les premiers individus ailés apparaissent dès la deuxième génération et migrent vers des plantes basses, en particulier les solanacées. Cette migration est complète à partir de début de Juillet. A l'automne, des sexupares ailées issue des plantes basses retournent sur les pêchers (**Fratantuono, 2011**).



Figure18: Individus aptères et ailés de *Myzus persicae* (**Bejan, 2007**).

5. Voies de transmission :

Le CTV est une maladie très épidémique, dont la transmission peut se faire par plusieurs voies :

a) Voie végétative :

Le virus se propage de région en région à la faveur des transports de matériel de multiplication infecté (greffon, porte-greffes ou jeunes arbres). Des morceaux de plantes infectées peuvent parcourir ainsi de longues distances et franchir des barrières naturelles comme des chaînes de montagnes, des forêts et des océans (Celetti et al., 2002).

b) Contact :

Il arrive souvent que les racines d'arbres qui se touchent dans le sol se fusionnent spontanément et acquièrent des tissus communs. Mais ce mode de propagation serait de faible importance (Celetti et al., 2002).

c) Pucerons :

Le CTV utilise ces fabuleux moyens de transport que sont les pucerons vecteur pour se maintenir dans la nature et se propager de plante à plante. Bien que les processus d'acquisitions des virus dans une plante infectée et de transmission à une plante saine soient liés au comportement alimentaire commun à tous les pucerons, les virions, une fois ingérés, vont suivre des routes variées et utiliser des mécanismes différents pour se maintenir dans le puceron. Le devenir des virions dans le vecteur dépend d'interactions intimes qui s'établissent entre des protéines du puceron (récepteur) et les composants des particules virales (Brault et al., 2009).

- **Mécanisme de la transmission**

La transmission du CTV s'effectue selon le mode semi-persistant (Fig. 19). Le puceron pratique une pique d'essai, c'est-à-dire il enfonce son stylet dans les cellules épidermiques (superficielles) de la plante et aspire une petite quantité du contenu des cellules (acquisition du virus). Ses récepteurs du goût indiquent si la plante lui convient pour la nutrition et la colonisation. Si la plante s'avère lui convenir, le puceron commence alors ses piques d'alimentation (acquisition du virus). Quelques secondes après avoir fait une ponction d'essai chez une plante infectée, il pique une plante saine (inoculation du virus) et il lui transmet le virus par la même occasion (Gottwald et al., 2000). En général, les pucerons ne gardent pas le virus plus d'une heure. Ils perdent rapidement les particules virales après la pique d'essai ou d'alimentation suivante et doivent de nouveau visiter une plante infectée pour continuer à transmettre le virus (Celetti et al., 2001).

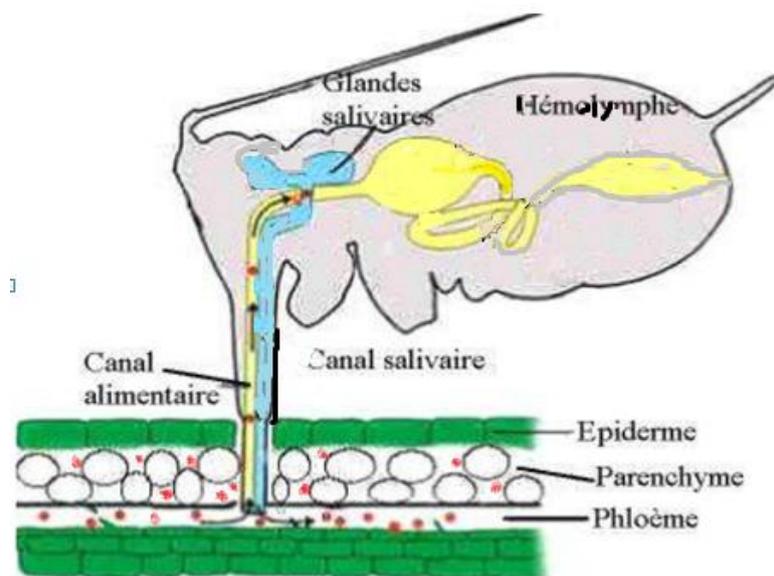


Figure 19: Transmission selon le mode semi persistant (Sekkat, 2007)

I. Prospection et échantillonnage

1. Présentation des sites prospectés :

Les prospections sur terrain ont été effectuées dans les wilayates de Blida au niveau de: la station expérimentale de département de Biotechnologie, exploitations de Mouzaia 1, Guerouaou 1, Boufarik 1 et de Tipaza au niveau de Berbessa 1 et Attatba 1. Ces stations font à une production soit intensive (4 /5) ou extensive (5 /5).

1.1. La station expérimentale de département de Biotechnologie :

La superficie du verger d'agrumes est de 0,25 ha, comportant des arbres d'orangers variété *Thomson*, plantés en ligne greffés sur bigaradier, âgés de 13 ans. L'irrigation est basée uniquement sur les eaux des pluies et aucun traitement n'a été effectué (**Fig. 20**).



Figure 20: Station expérimentale du département de Biotechnologie (**Google – Earth, 2015**).

1.2. Exploitation 1 :

Ce verger d'agrumes est situé à Mouzaia, avec une superficie de 3 ha, comportant 1000 arbres de citronniers, plantés en ligne de manière alternée, greffés sur bigaradier, âgés de 15 ans est entouré par des arbres de *Cupressus sempervirens* comme brise vent. L'irrigation est basée sur le système traditionnel et aucun traitement n'a été effectué (**Fig. 21**).



Figure 21: Exploitation 1 (Google – Earth, 2015).

1.3. Exploitation 2 :

C'est une plantation située à Guerouaou, d'une superficie de 8 ha, comportant 2800 arbres d'orangers variétés du *Thomson* (Washington), plantés en ligne de manière alternée, greffés sur bigaradier, âgé de 13 ans. Dans cette station, l'olivier est utilisé comme brise vent. L'irrigation est basée sur le système traditionnel et aucun traitement n'a été effectué (Fig. 22).



Figure 22: Exploitation 2 (Google – Earth, 2015).

1.4. Exploitation 3 :

C'est une plantation située à Boufarik, avec une superficie de 3 ha, comportant 1200 arbres d'orangers variétés du *Thomson*, plantés en ligne de manière alternée, greffées sur bigaradier, âgée de 3 ans. Le *Cupressus sempervirens* est utilisé

comme brise vent. L'irrigation est basée sur le système traditionnel et aucun traitement n'a été effectué (**Fig. 23**).



Figure 23: Exploitation 3 (Google – Earth, 2015).

1.5. Exploitation 4 :

C'est une plantation située à Berbessa, avec une superficie de 7 ha, comportant environ 2500 arbres d'oranger variétés du Thomson (Washington), plantés en ligne de manière alternée, greffées sur bigaradier, âgée de 30 ans. Les arbres de cette station sont protégés par les vents par des pins. L'irrigation est basée sur le système traditionnel et aucun traitement n'a été effectué (**Fig. 24**).



Figure 24: Exploitation 4 (Google – Earth, 2015).

1.6. Exploitation 5 :

C'est une plantation située à Attatba, avec une superficie de 2 ha, comportant environ 500 arbres d'oranger variétés du Thomson (Washington), plantés en ligne

de manière alternée, greffées sur bigaradier, âgée de 14 ans. L'irrigation est basée sur le système traditionnel et aucun traitement n'a été effectué (**Fig. 25**).



Figure 25: Exploitation 5 (Google – Earth, 2015).

2. Méthode d'échantillonnage :

Les prélèvements des échantillons ont été effectués durant le mois d'Avril 2015, selon le plan d'échantillonnage en diagonal. Ce dernier nous a permis de rassembler environ 400 échantillons au niveau des stations prospectées (**Fig. 26**).

Dans un premier temps le travail a consisté à observer des plants malades présentant des symptômes décelables à l'œil nu, attribuables à une origine virale par comparaison aux données bibliographiques. Pour cela les symptômes recherchés étaient des éclaircissements des nervures des feuilles, feuilles en cuillère, nanisme des plants, raccourcissement des entre nœuds (balais de sorcière), dépérissement, déformation des feuilles, nid d'abeille au niveau du tronc, bois strié, subérification des feuille, flétrissement des rameaux, réduction du calibre du fruit.

Dans la méthode d'échantillonnage, au niveau d'un site prospecté d'agrume les prélèvements ont portés uniquement sur 10 arbres se trouvant sur la diagonale or les arbres de la périphérie du verger n'étaient pas concernés par cet échantillonnage. Seules les jeunes pousses qui contiennent des pucerons au niveau des quatre points cardinaux de l'arbre et ceux du milieu ont été prélevées.

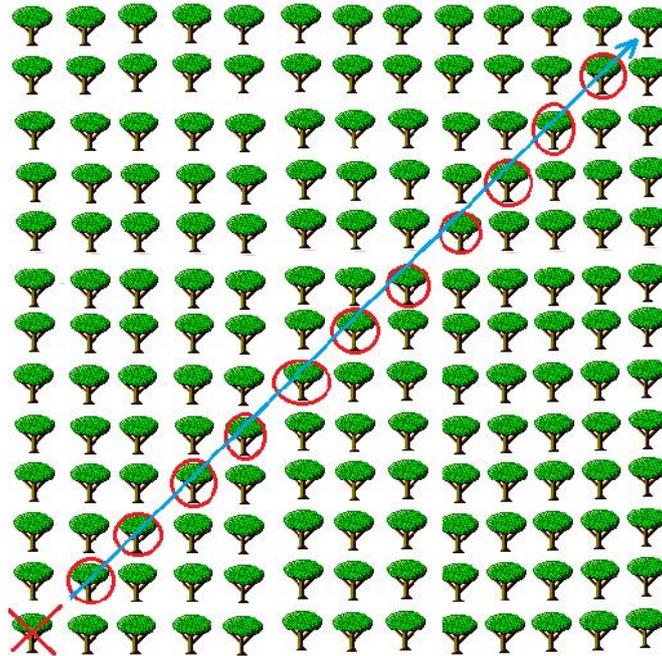


Figure 26: Schéma représentatif du protocole de collecte des pucerons (La diagonale)

Légende :

 Arbre non échantillonné

 Arbre échantillonné

 Direction du prélèvement

3. Conservation des échantillons :

Les échantillons prélevés sont emballés dans des sacs en plastique et conservés dans un endroit humide à une température de 4°C (**Fig. 27**).



Figure 27: Conservation des échantillons dans des sacs en plastiques
(Personnelle, 2015)

4. Méthodes d'identification :

L'identification à été faite au niveau du laboratoire de Zoologie département des biotechnologies de Blida1 par Monsieur Aroun après le montage des pucerons.

4.1. Méthode de montage :

- a) Après avoir piqué les pucerons à l'aide d'une épingle entomologique sur la face abdominale, entre le 4^{eme} et le 6^{eme} sternite abdominal, les pucerons sont plongés dans une solution de potasse à 10 % à chaud pendant 3 à 4 mn.
- b) Nettoyage ou dégraissage des pucerons avec de l'eau distillée.
- c) Remise à nouveau dans une solution de chloral phénol à chaud pendant 3 à 4 mn.
- d) Montage des pucerons dans une lame contenant le milieu de montage, et à l'aide d'une épingle étalage du puceron sur la face ventrale.

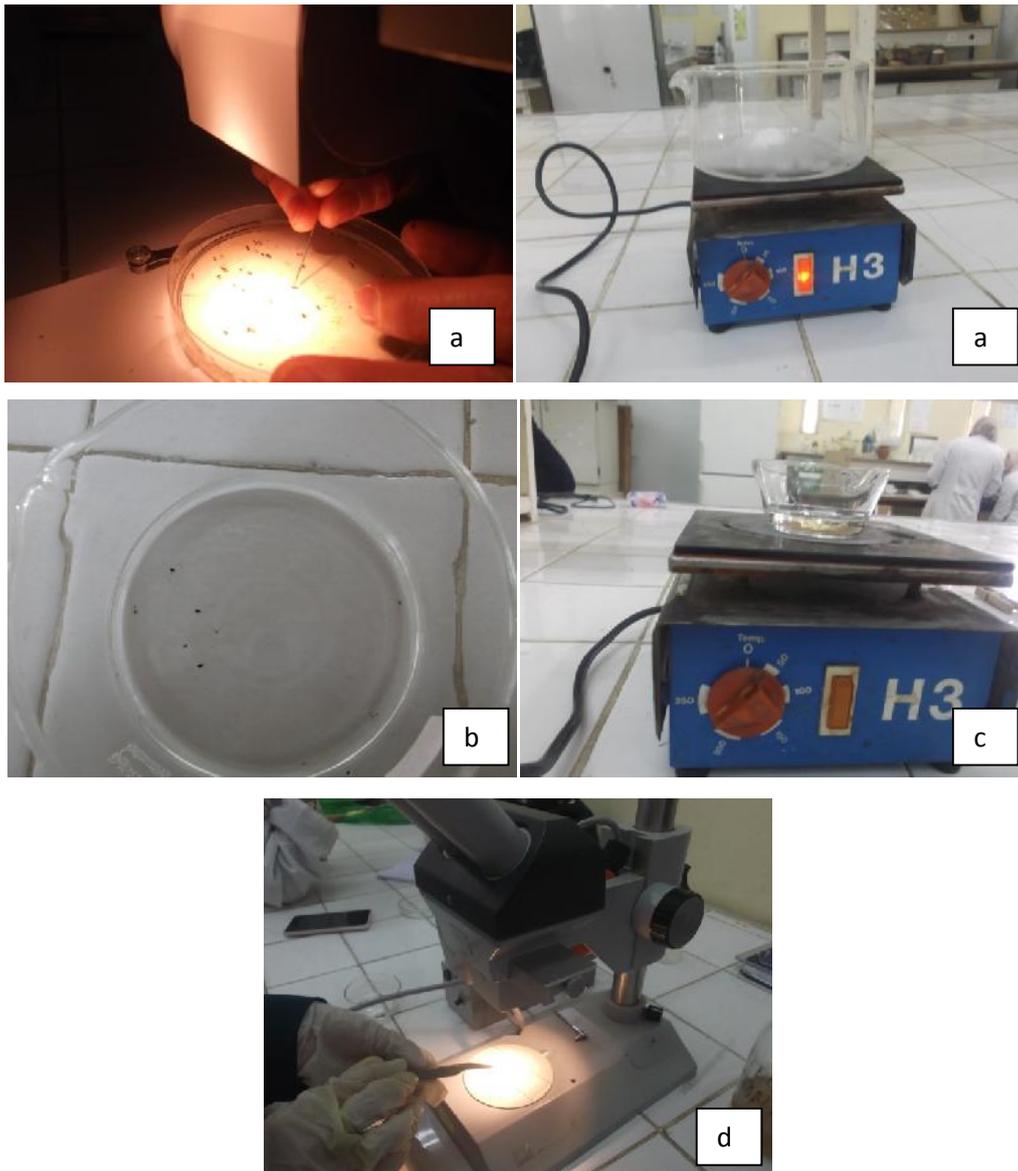


Figure 28: Etapes de montage des pucerons (Personnelle, 2015)

Légende : **a :** piquer les pucerons à l'aide d'une épingle et les plongés dans une solution de potasse à 10 % ; **b:** Nettoyage des pucerons avec de l'eau distillée ; **c:** mettre les pucerons dans une solution de chloral phénol à chaud ; **d:** montage des pucerons dans une lame

II. Méthode biologique :

1. Préparation des plantules tests :

Des plantules de pois de la variété Serpette Guilloteaux ont été utilisées comme plantes indicatrice du CTV. Pour cela, nous avons procédé au semis. Dans un

premier temps, nous avons préparé les semences. Ces dernières sont trempées dans l'eau une nuit, pour stimuler leur germination.

Dans un deuxième temps, nous avons mis un grain par pot, contenant un mélange de tourbe et de terreau. Les plantules sont élevées en serre à une température de 25° à 35°C à la serre de la virologie, l'irrigation des plantules a été effectuée tous les jours.

2. Inoculation par pucerons :

Les pucerons aptères collectés sont mis au contact avec des plantules de pois au stade de 2 à 3 feuilles à l'aide d'un pinceau humide, à raison de 6 individus de pucerons/plantule. Par la suite les plantules sont recouvertes de bonnettes. Ainsi pour chaque espèce et station l'expérience a été répétée 5 fois.

Après 5 minutes d'inoculation, les bonnettes sont retirées et les pucerons ont été éliminés mécaniquement. Les plantules inoculées sont maintenues en serre à température de 25 à 35°C.

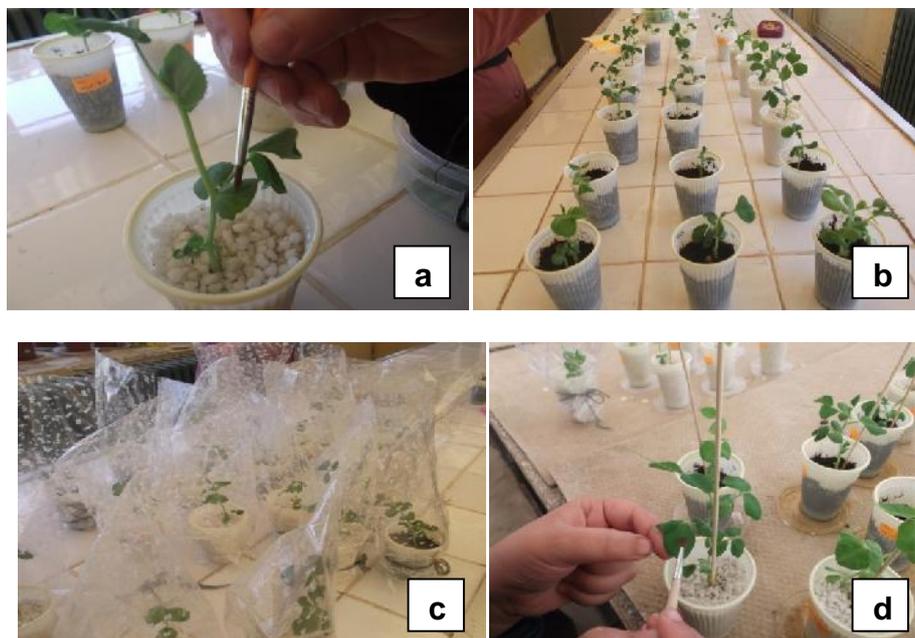


Figure 29: Transmission du puceron *Aphis spiraecola* sur pois (Personnelle, 2015)

Légende: a: mise en contact le puceron avec la plantule ; b: répétition des plants inoculés par station ; c : Plantules de pois recouvertes de bonnettes ; d : Elimination mécanique du puceron *A. spiraecola*.

I. Analyse symptomatologiques sur terrain :

1. Distribution des symptômes au niveau des sites prospectés :

Le diagnostic visuel qui a été effectuée au niveau des 6 stations sur les agrumes pendant le mois d'Avril 2015 a permis l'observation des principaux symptômes pouvant être provoqués par le virus du CTV. Il en ressort la dominance du symptôme d'enroulement des feuilles qui est un symptôme typique d'attaque aphidienne suivi de feuille en cuillère, jaunissement, éclaircissement des nervures, dessèchements des feuilles et branches, dépérissement des arbres et bois strié.

A. Station expérimentale de département de Biotechnologie :

Les symptômes sont de type enroulement (**Fig. 30**) qui est le plus fréquent, feuille en cuillère (**Fig. 31**), éclaircissement des nervures (**Fig. 32**).



Figure 30: Symptôme de l'enroulement des feuilles (**Personnelle, 2015**).



Figure 31: Symptôme de feuille en cuillère (**Personnelle, 2015**).



Figure 32: Symptôme d'éclaircissement des nervures (Personnelle, 2015).

B. Exploitation de Mouzaia 1 :

Des symptômes de *CTV* ont été observés également dans ce verger, ils étaient de type feuilles en cuillère (Fig. 33), jaunissement (Fig. 34), dessèchement des arbres (Fig. 35) et le bois strié (Fig. 36) qui est le symptôme typique du *CTV*.



Figure 33: Symptôme de feuille en cuillère (Personnelle, 2015).



Figure 34: Symptôme de jaunissement des feuilles (Personnelle, 2015).



Figure 35: Symptôme de dépérissement d'arbre (Personnelle, 2015).



Figure 36: Symptôme de bois strié sur tronc (Personnelle, 2015).

C. Exploitation de Guerouaou 1 :

Un ensemble de symptômes a été observé dont le plus remarquable était l'enroulement des feuilles et feuilles en cuillère (**Fig. 37**) jaunissement (**Fig. 38**), dessèchement des branches (**Fig. 39**).



Figure 37: Symptômes d'enroulement et feuille en cuillère (Personnelle, 2015).



Figure 38: Symptôme de jaunissement des feuilles (Personnelle, 2015).



Figure 39: Symptôme de dessèchement des branches (Personnelle, 2015).

D. Exploitation de Boufarik :

L'enroulement des feuilles est le symptôme le plus fréquent (**Fig. 40**) accompagné d'éclaircissement des nervures (**Fig. 41**).



Figure 40: Symptôme d'enroulement des feuilles (Personnelle, 2015)



Figure 41: Symptôme d'éclaircissement des nervures (Personnelle, 2015).

E. Exploitation de Berbessa :

Les symptômes les plus fréquents dans ce verger sont : l'éclaircissement des nervures (**Fig. 42**), jaunissement (**Fig. 43**), dessèchement des feuilles (**Fig. 44**) suivi d'un dessèchement des branches (**Fig. 45**) et le bois strié (**Fig. 46**) qui est le symptôme typique du *CTV*.



Figure 42: Symptôme d'éclaircissement des nervures (Personnelle, 2015)



Figure 43: Symptôme de jaunissement (Personnelle, 2015)



Figure 44: Symptôme de dessèchement des feuilles (Personnelle, 2015)



Figure 45: Symptôme de dessèchement des branches (Personnelle, 2015)



Figure 46: Symptôme de nanisme (Personnelle, 2015)



Figure 47: Symptôme de bois strié sur tronc (Personnelle, 2015).

F. Exploitation d'Attatba 1 :

Les symptômes sont de type enrroulement (**Fig. 48**) qui est le plus fréquent, feuille en cuillère (**Fig. 49**), et jaunissement (**Fig. 50**).



Figure 48: Symptôme d'enroulement des feuilles (Personnelle, 2015)



Figure 49: Symptôme de feuille en cuillère (Personnelle, 2015)



Figure 50: Symptôme de jaunissement des feuilles (**Personnelle, 2015**).

2. Discussion :

Au cours de nos prospections à travers les différentes exploitations de la willaya de Blida et de Tipaza, on a remarqué une grande diversité de symptômes. Ces derniers étaient l'enroulement, jaunissement, dessèchement, éclaircissement des nervures, nanisme et le dépérissement des feuilles et branches.

L'extériorisation de ces symptômes par les arbres des différents vergers prospectés rappellent ceux causés par le CTV, car ils sont typiques et surtout dans les exploitations de Mouzaia 1 et Berbessa 1 où le symptôme de « bois strié » était spectaculaire.

Ces symptômes sont déclarés comme signes de présence du CTV (**Bar-Joseph et al., 1989 ; Bové et Vogel, 1964 ; Bar-Joseph et al., 2000 ; Bar-Joseph et al., 2010 ; Olsen et al., 2000 ; Roistacher, 1991**). Les mêmes symptômes ont été observés par (**Alloune, 2011 ; Bouafia, 2011 ; Moudoud, 2012 ; Bouzidi et Guettouche, 2012 ; Belkahla et al., 2013 ; Merouane, 2013 ; Sadouki, 2013 ; Chanane et Seffar, 2014**) au niveau des différentes stations agrumicoles de la Mitidja.

II. Résultats de la collecte des populations aphidiennes :

1. Identification des populations de pucerons vecteurs du CTV:

Les résultats de l'identification obtenu par le laboratoire de zoologie de département de Biotechnologie des vergers de Blida (Département de Biotechnologie, Mouzaia 1, Guerouaou 1, Boufarik 1) et Tipaza (Berbessa 1 et Attatba 1); ont montré uniquement la présence d'une seule espèce vectrice du CTV (**Fig. 51**). Il s'agit du puceron d'*Aphis*

spiraecola (Fig. 52). Celui-ci a été identifié dans tous les vergers prospectés et sur toutes les variétés confondues avec des fréquences variables selon les régions.



Figure 51: Pucerons *Aphis spiraecola* observés sur les jeunes pousses d'orangier (Personnelle, 2015)



Figure 52: Individu aptère d'*Aphis spiraecola* observé sous la loupe binoculaire Gr X 40 (Personnelle, 2015).

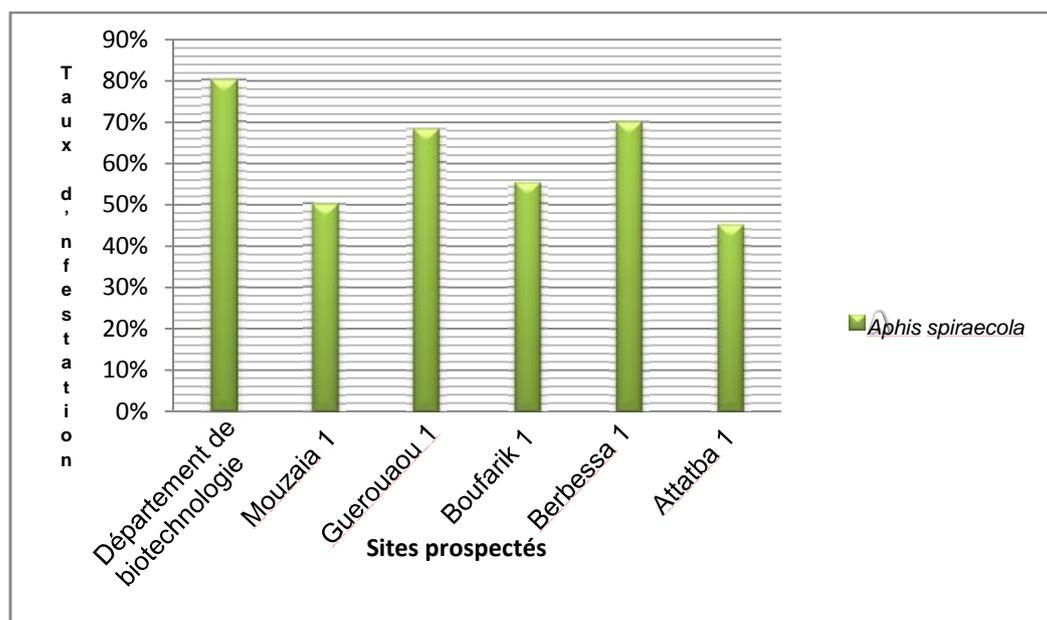


Figure 53: Taux d'infestation d'*Aphis spiraecola* dans les différents sites prospectés

2. Discussion :

Les résultats d'identification ont montré la présence d'une seule espèce vectrice du CTV : *Aphis spiraecola* le même vecteur a été déjà observé par (Hullé et al., 1998 ; Djoudi et al., 2004) ; (Bouafia, 2011) et (Alloune, 2011); (Moudoud, 2012) ; (Chanane et Seffar, 2014).

La présence d'une seule espèce dans tous les vergers prospectés, de Blida et Tipaza sur toutes les variétés confondues, et l'absence des autres espèces vectrices du CTV à savoir *Aphis gossypii*, *Toxoptera aurantii*, *Myzus persicae* déjà identifiés (Halbert et al., 2000 ; Adriantianarivo, 2002) et (Blackman et Eastop, 1984 ; Aroun, 1985 ; Irbab et al., 2005 ; Bejan, 2007 ; Frantantuono, 2011) et (Hullé et al., 1999 ; Halbert et al., 2000 ; Celini, 2001 ; Sekkat, 2007) bien que les prélèvements des échantillons ont coïncidés avec la poussée de sève printanière (Avril-Mai) ce qui correspond à la période de forte pullulation de puceron. Cette absence peut être expliqué par :

- L'impact des changements de températures enregistrées ce printemps (Wang, 2000).
- L'absence des plantes adventices qui constituent des plantes hôtes secondaires (Komazaki, 1991 ; Franco et al., 2006).

- La raréfaction des prédateurs aphidiphages d'*Aphis spiraecola* dans les sites prospectés (Saharaoui et al., 2001).

III. Test Biologique :

1. Résultats de test biologique :

Les plantules de pois inoculées par *Aphis spiraecola* ont extériorisés des symptômes sous formes :

- Enroulement des feuilles
- Taches annulaires sur feuilles
- Eclaircissement des nervures
- Jaunissement des feuilles
- Vein banding
- Forme en cuillère
- Nanisme
- Dessèchement des feuilles
- Dépérissement complet des plantules



Figure 54: symptôme d'enroulement des feuilles (Personnelle, 2015)

Légende : A: plantule malade ; B: plantule saine.



Figure 55: Symptôme taches annulaires sur feuilles (**Personnelle, 2015**)

Légende : A : plantule malade ; B : plantule saine.



Figure 56: Symptômes éclaircissement des nervures (**Personnelle, 2015**)

Légende : A : plantule malade ; B : plantule saine.



Figure 57: Symptôme de jaunissement (**Personnelle, 2015**)

Légende : A : plantule malade ; B : plantule saine.

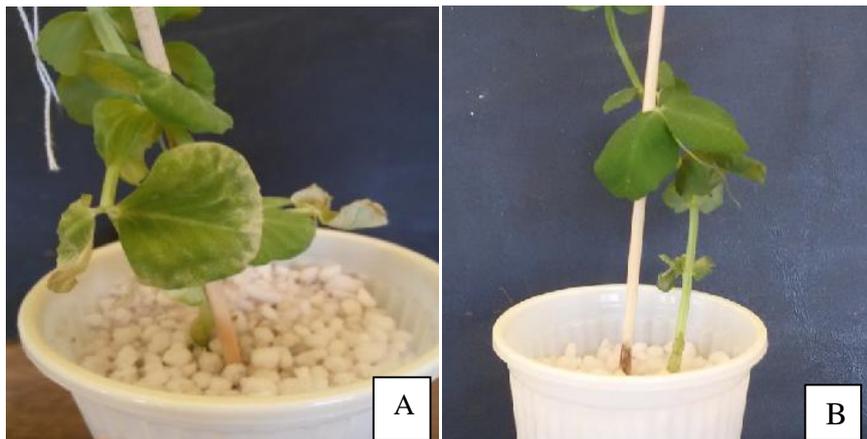


Figure 58: Symptôme de vein banding (Personnelle, 2015)

Légende : A : plantule malade ; B : plantule saine

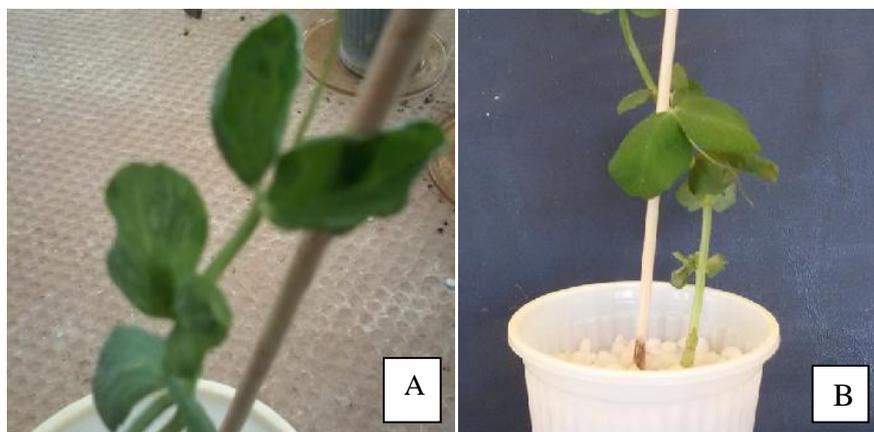


Figure 59: Symptôme de feuille en cuillère (Personnelle, 2015)

Légende : A : plantule malade ; B : plantule saine.

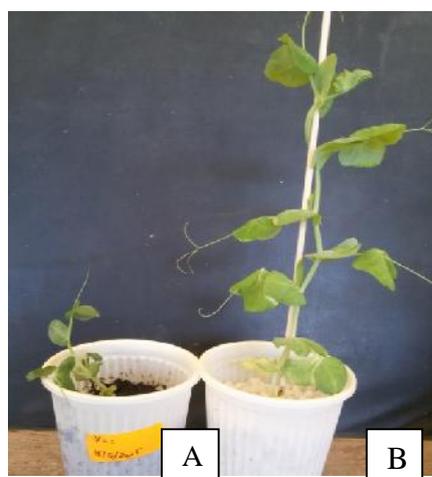


Figure 60: Symptôme de nanisme (Personnelle, 2015)

Légende : A : plantule malade ; B : plantule saine.

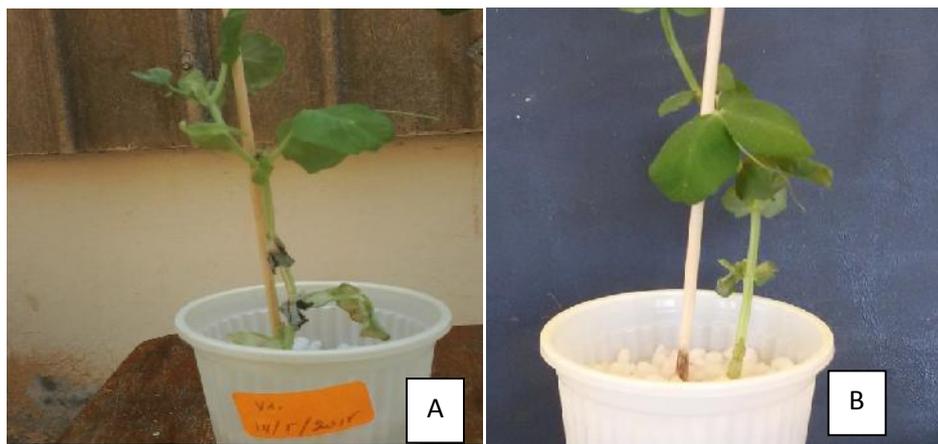


Figure 61: Symptôme de dessèchement des feuilles (Personnelle, 2015)

Légende : A : plantule malade ; B : plantule saine



Figure 62: Symptôme de dépérissement de la plantule (Personnelle, 2015)

Légende : A: plantule dépérit ; B: plantule saine

2. Discussion :

Les résultats obtenus ont confirmé que l'inoculation d'*Aphis spiraecola* collecté lors des prospections effectuées dans les différents sites visités était virulifère et par conséquent porteur du CTV, extériorisée par les symptômes d'éclaircissement des nervures, enroulement des feuilles, déformation des feuilles, dépérissement des plantules de pois. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par: (Bar-Joseph en 1989 ; Gueri et al en 1990 ; Roistacher en 1991 ; D'onghia en 1998 ; Yang et al en 1999 ; Ghorbel et al en 2001 ; Herron en 2003 ; Lbida et al en 2004 ; Zemzami en 2009, Bar-Joseph en 2010 ; Bouafia en 2011 ; Bouzidi et Guettouche en 2012 ; Moudoud en 2012 ; Sadouki en 2013 ; Chanane et Seffar en 2014).

Conclusion et perspectives :

Les agrumes sont produits dans différents pays à travers le monde, bien que la production soit principalement concentrée dans certaines zones géographiques. Les pays du bassin méditerranéen constituent la première région productrice de fruits frais. En Algérie, la Mitidja est classée comme première région agrumicole au niveau national.

Le *CTV* est la principale virose des agrumes, il est considéré comme une maladie de quarantaine, car il possède un caractère épidémique très vaste sur une large gamme des plantes de genre *Citrus*.

Dans cette étude, nous avons essayé de rechercher et identifier les pucerons-vecteurs du *CTV* (*Toxoptera aurantii*, *Toxoptera citricida*, *Aphis Spiraecola*, *Aphis gossypii*, *Myzus persicae*) afin de mettre en place, au plus vite, des mesures visant à limiter sa transmission et à améliorer la production nationale tant sur le plan qualitatif que quantitatif.

L'analyse symptomatologique sur terrain dans les deux wilayate Blida et Tipaza, a montré la présence des symptômes typiques du *CTV* comme l'éclaircissement des nervures, le jaunissement, les feuilles en forme de cuillère, nanisme, dessèchement des feuilles et le bois strié qui est le symptôme typique du *CTV*.

L'inventaire des différents pucerons vecteurs du *CTV* a été fait dans toutes les stations visitées, il ressort que seule l'espèce *Aphis Spiraecola* était collectée, alors que les autres espèces vectrices (*Toxoptera aurantii*, *Toxoptera citricida*, *Aphis Spiraecola*, *Aphis gossypii*, *Myzus persicae*) étaient absentes.

Cette maladie est extrêmement dangereuse et dommageable non seulement sur les différentes espèces cultivées, mais aussi bien sur l'économie du pays. Pour cela il faut appliquer une stratégie de lutte, dans le but de minimiser les dégâts et les pertes en évitant la dissémination de l'épidémie.

1. La lutte contre le vecteur :

Il existe plusieurs méthodes de lutte contre le vecteur : lutte chimique, lutte biologique et la lutte biotechnologique.

Actuellement, les moyens de lutte utilisés contre le vecteur de *CTV* sont :

- **La lutte biologique:** c'est l'utilisation d'ennemis naturels de vecteur du CTV. Généralement, les coccinelles sont prédatrices de pucerons ; les bactéries telle que le *Bacillus thuringiensis* (**Balachowsky, 1951**).
- **La lutte biotechnologique :** c'est le contrôle de la transmission des maladies ou l'expression de certains gènes de bactéries symbiotiques peut rendre un puceron incapable de transmettre un deuxième micro-organisme pathogène. Donc, c'est la prévention des maladies causées par les pucerons en utilisant des bactéries symbiotique telle que *Buchenra* (**Khedam, 2009**).

2. La lutte contre l'agent pathogène:

Pour toutes les maladies virales, la lutte est beaucoup plus préventive que curative, c'est dans ce contexte qu'il faut combiner tous les moyens de lutte contre ce virus, donc, il serait important de procéder au:

- Désherbage des vergers pour diminuer ou bien éliminer les plantes adventices qui représentent un foyer d'infection.
- Désinfection des outils de travail.
- Dresser le schéma de certification des plantes.
- Utilisation des porte-greffes tolérants telle que *Citrangle carrizo*.
- Limitation de l'extension de la maladie en choisissant des plants certifiés; certains hybrides, tels que *Citrangle Troyer* ou *Citromelo Swingle*, sont prometteurs en tant que porte-greffes résistants.
- L'arrachage des arbres malades pour minimiser les réservoirs d'inoculum.
- Mise en quarantaine des vergers contenant des arbres contaminés par la CTV.

References:

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: Differentiation of *Citrus Tristeza Virus* isolates by serological analysis of p25 coat protein peptide maps. J. Virol. Meth. 88. Pp 25-34.

Alloune A., 2011. Etude de virus de la *Tristeza* des agrumes (*Citrus Tristeza Virus*) dans la plaine de la Mitidja: Identification sérologique et inventaire des vecteurs. Mem. Ing. Agro. Blida. Pp 60.

Andriantianarivo S., 2002: Impacts du traitement phytosanitaire des arbres fruitiers sur les abeilles: Cas de l'agrumiculture dans les régions d'Ambositra. Mem. Ing. Univ. Antananarivo. Pp 31.

Anonyme, 1976: La protection phytosanitaire des agrumes en Algérie. Ed. Ciba-Geigy, Alger, Pp159.

Anonyme, 1978: Fiches informatives sur les organismes de quarantaine (93), *Citrus Tristeza Virus*. Bulletin OEPP/EPPO. Pp 8.

Anonyme, 2003: Food and agriculture organisation (FAO), problèmes phytosanitaire du secteur des agrumes et politiques de lutte (troisième section),CCP:CIO3/3. Pp 9.

Anonyme, 2006: *Toxoptera citricida*. Bulletin 36: 451-456. OEPP/EPPO. Pp 5.

Anonyme, 2007: Conférence des Nations Unies sur le commerce et le Développement (CNUES). Pp 7.

Anonyme, 2010: ITAFV: Statistiques annuelles. Pp 3.

Anonyme, 2013: OEPP: *Toxoptera citricida*. Bulletin. Pp 1.

Aroun M.E., 1985: Les aphides et leurs ennemis naturels en vergers d'agrumes de la Mitidja (Algérie). Mem. Mag. Agro. Inst. Nat. Agro. El-Harrach. Pp 125.

Assabah M., 2011: Evolution du peuplement aphidien et de ses ennemis naturels sur une culture de blé dur (var. Vitron) dans la station d'Oued Smar (El-Harrach Alger). Mem. Master. INA El- Harrach. Pp104.

Aubert B., et Vullin G., 1997: Pépinières et plantations d'agrumes. Montpellier: CIRAD. Pp184.

Ayres A.J., 2001: Le contrôle des maladies des agrumes au Brésil. Fundé *Citrus*. Brésil : Pp 109-118.

Balachowsky A., 1951: La lutte contre les insectes. Inst. Pasteur. France. Ed. Payot. Pp 380.

Bar-Joseph M., Marcus R., Lee R.F., 1989: The continuous challenge of *Citrus Tristeza Virus* control, A. Rew. Phytopathol. (27). Pp 291-316.

Bar-Joseph M., Che X., Mawassi M., Gowda S., Sayanarayana T., Ayllon M.A., 2002: The continuous challenge of *Citrus Tristeza Virus* Molecular research. IOCV Conference. Pp 7.

Bar-Joseph M., and Dawson W.O., 2010: *Citrus Tristeza Virus*: In Mahy, B.W.J and Vanregemortel, M.H.V, Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology, Elsevier, USA. Pp 160-170.

Batista L., Bassanezi R.B., and Laranjeira F.F., 2008: Comparative epidemiology of *Citrus Tristeza Virus* in Cuba and Citrus Sudden death in Brazil. Tropic. Plant Pathol. (33) 5. Pp 348-358.

Bayoud 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. Mem. Ing. Agro. Blida. Pp 112.

References

Belkahla H., Larbi D., Bouafia L., Moudoud R., Gettouche F., Bouzidi S., 2013: Serodetection of *Citrus Tristeza Closterovirus (ctv)* in Algeria. Amer-Euras. J. Suit. Agri, 7(1) : 2013 ISSN 1995-0748. Pp 10-13.

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

Bejan M., 2007: Études sur la résistance d'accessions de *Solanum* sauvages envers le puceron de la pomme de terre *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) et le puceron vert du pêcher *Myzus Persicae* (Sulzer) (Aphidae). Mem. Ing . Pp78.

Bertin Y., Goudin R., Coranson R., Pancarte C., Poliakoff F., 2000: La *Tristeza* des agrumes dans les Caraïbes: Cas particulier de la Martinique. Atelier régional d'information sur la situation phytosanitaire des agrumes dans les Caraïbes, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe. Pp 12.

Blackman R.L., and Eastop V.F., 1984: Aphid on the world crops: an identification guide. Ed. Wiley. N.Y. Pp 446.

Blackman R.L., and Eastop V.F., 2000: Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide. Ed. Wiley. NY. Pp 324

Bouafia L.F., 2011 : Etude de virus de la *Tristeza* des agrumes (*Citrus Tristeza Virus*) en Algérie. Mem. Mag. Agro. Blida. Pp 87.

Bouzidi S., Guettouche F., 2012: Etude de virus de la *Tristeza* (*Citrus Tristeza Virus*) des agrumes dans la plaine de la Mitidja: Identification sérologique par DTBIA et biologique). Mem. Ing. Agro. Blida. Pp 52.

Bové J.M., et Vogel R., 1964 : Stem pitting sur bigaradier et sur orangier torroco en Corse: une maladie à virus. Pp192.

Bové J.M., 1965: Citrus virus diseases in the Mediterranean area. Report presented at the meeting on phytiatry and phytopharmacy. Marseille. France.

References

- Bralut V., Uzest M., Monsion B., Jacquot E., Blanc S., 2009:** Les maladies virales causées par les pucerons: mécanismes de transmission des virus. Académie d'agriculture de France. Pp1.
- Cambra M., and Moreno P., 2000:** *Tristeza* In Enfermedades de los citricos. Ediciones. Mundi-Prensa. Madrid. Pp 77-81.
- Celini L., 2001:** Le puceron du cotonnier : *Aphis gossypii* (Glover) et son parasite *Aphelinus gossypii* Timberlake en République Centrafricaine (122) : 7-10.
- Celetti M., 2001:** Globale distribution, strains symptoms, horst range, spread and transmission. Ed. Horticulture corps. OMAF. Pp 15.
- Celetti M.H., Fraser N., Carter J., 2002:** Le virus de la sharka des espèces fruitières et ornementales du genre *Prunus* Ed. Onario, Canada. www.Omafra.Gov.
- Cherry C., 2004:** *Citrus Tristeza Virus*, Symptoms and Control. Pathology Laboratory. Research Station Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries Okitsu, Shimizu, Shizuoka, Japan. Pp 55
- Cevik B., 2001:** Characterization of the RNA polymerase gene of *Citrus tristeza Closterovirus*. Univ. Florida. Pp 138.
- Chanane B., Seffar M.L., 2014 :** Recherche et identification des pucerons vecteurs du *Citrus Tristeza Virus* sur agrumes. Mem. Ing. Biotech. Blida. Pp 64.
- D'onghia A.M., Saade P., Castellano M.A., Saveno V., 1998:** Occurrence and distribution of *Citrus tristeza Virus* in Lebanon. Phytopathol. Medit.37. Pp 75-78.
- Djoudi A., Bahia H., Yahiaoui GH., 2004:** Les ravageurs des agrumes. Univ. Ibn-Khaldoun Tiaret. Pp 63.
- El-Ferran 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. Mem. Mag. Agro. Blida. Pp 90.

References

Fawcett H.S., Wallace J.M. 1946: Evidence of virus nature of citrus quick decline. California Citrograph. 32: Pp 88-89.

Folimonov Y.S., Alexy S.F., Satyanarayana T., and Dawson W.O., 2008: *Citrus Tristeza Virus*: Survival at the edge of the movement continuum. J. Virol. (82). Pp 13

Franco J.C., Garcia-Marí F., Ramos A.P., and Besri M., 2006: Survey on the situation of citrus pest management in Mediterranean countries. IOBC/WPRS Bulletin 29(3). Pp 34.

Fraser L., 1952: Seedling yellows, an unreported virus disease of citrus. Agricultural Gazette of New South Wales 63. Pp 125-131.

Fratantuono M., 2011: Le contrôle du puceron vert du pêcher (*Myzus persicae* sulz.).Fiche 86. Pp 2.

Gargo-Zachert S.P., Costa N.B., Semorille L., and Grau O., 1999: Sequence variability in gene of *Citrus Tristeza Virus* (CTV) revealed by SSCP analysis. Elec.J. Biotech. 1 (2): 41-50. Pp 27.

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* isolates origins 15 The conf. IOCV. Pp 75-93.

Ghorbel R., Lopez C., Moreno P., Navarro L., Flores R., Penal L., 2001: Transgenic citrus plant expressing the *Citrus Tristeza Virus* p23 protein exhibit virallike symptoms. Mol. Plant Pathol. 2. Pp 27-36.

Gottwald T.R., Hughes G., 2000: A new survey method for *Citrus Tristeza Virus* disease assessment, Fourteenth IOCV Conference. Pp 77-87.

References

Grissa K.L., 2010: Etude de base sur les cultures d'agrumes et de tomates en Tunisie. Consultation nationale. Pp 92.

Guerri J., Moreno P., Lee R.F. 1990: Identification of *Citrus Tristeza Virus* strains by peptide maps of virion coat protein. *Phytopathology*, 80. PP 692.

Hadj-Sahraoui K., 2007: Mesures de développement des agrumes. *Revue semestrielle N°4 Agriculture & développement rural durable*. ISSN : 1112-5438. Pp 19-24.

Halbert S.E., and Brown L.G., 1998: *Toxoptera citricida* (Kirkaldy), Brown Citrus aphid-identification, Biology and management strategies. *Entomol. Circular* 374. Pp 3-6.

Halbert S.E., Remandiere G., and Webber S.E., 2000: Newly established and rarely collected Aphids (Homoptera: Aphididae) In Florida and the South Eastern United States. *Florida Entomol.* 83. Pp 79-91.

Halbert S.E., Genc H., Cevik B., Brown L.G., Rosales I.M., Munjunath K.L., Pomerinke M., Davison D.A., Lee F.R., and Niblett C.L, 2004: Distribution and characterization of *Citrus Tristeza Virus* in South Florida following establishment of *Toxoptera citricida*. *Plant Dis.* 935-941. Pp 88.

Halbert S.E., Brown L.G., 2011: Brown Citrus Aphid, *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Insecta: Hemiptera: Aphididae). Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida: Pp 6.

Herron C.M., 2003: *Citrus Tristeza Virus*: Characterization of Texas isolates, studies on aphid transmission and pathogen-derived control strategies. *Plant. Pathol.* Pp 58.

Hughes W.A., Lister C.A., 1949: Lime disease in the Gold Coast. *Nature*. Pp 164.

Hullé M., Turpeau E., Leclant F., et Rahn M.J., 1998: les pucerons des arbres fruitiers: cycles biologique et activités de vol. Ed. INRA, Paris. Pp 78.

References

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

Iftikhar y., Aslam K., Rashid A., Mughal S.M., Iqbal Z., Batool A., Abbas M., Khan M.M., Muhammad S., and Jaskani M.J., 2009: Occurrence and distribution of *Citrus Tristeza Closterovirus* in the Punjab and NwFf, Pakistan. Pak. J. Bot.(41)1. Pp 373-380.

Iracheta-Cardenas M.M., Almeyda-Lion I.H., Manjunath K., Cevik B., Niblett Ch., Lee, R., and Rocha-Peria M.A. 2002: Molecular cloning and expression of the gene of two Mexican isolates of *Citrus Tristeza Virus*. Revis. Mexi. phytopathol.20. Pp 174-181.

Iracheta-Cardenas M.M., Metheney P., Polek M.L., Manjunath K.L., Lee R.F., and Rocha-Penna M.A., 2009: Serological detection of *citrus Tristeza Virus* with antibodies developed to the recombinant Coat protein. Plant Dis. 93. Pp 11-16.

Irbab M., et Laanen A., 2005: Identifications des principaux pucerons de la betterave. Centre Agricole Chicori. Belgique. Pp 7-8.

Kaouthar B., 2010: Etude de base sur les cultures d'agrumes et de tomates en Tunisie. International Journal of Agronomy and Agricultural Research. Pp 7.

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

Khedam H., 2009: Contribution à l'étude de la *Tristeza* des agrumes. Mem. Mag. ENA. El Harrach. Pp 60.

References

Kim D., Hyun J., Hwang H., and Lee S., 2000: RT-PCR detection of *Citrus Tristeza virus* from early Satsuma mandarin and Yuzu in Cheju Island. *Plant Pathol.* J.16 (1). Pp 48-51.

Klotz L., 1973: Color Handbook of Citrus Diseases. University of California. Riverside. California. Pp 122.

Komazaki S., 1991: Studies on the biology of the spirea aphid, *Aphis spiraeicola* Patch, with special reference to biotypic differences. Bulletin of the Fruit Tree Research Station. Extra No. 2. Pp 60.

Lbida B., Fonseca F., Santos C., Zemzami M., Bennani A., and Nolasco G., 2004: Genomic variability of *Citrus Tristeza Virus (CTV)* isolates introduced into Marocco. *Phytopathol. Medit.* Pp 205-210.

Leblanc F., Fournier P., and Etienne J., 1998: *Citrus Tristeza virus*. Ed.Cirad. Pp 9.

Leblanc F., Fournier P., Etienne J., 2005: *Tristeza (Citrus Tristeza Virus)*. http://caribfruits.cirad.fr/production_fruitiere_integree/protection_raisonnee_des_vergers_maladies_ravageurs_et_auxiliaires/tristeza.

Lee R.F., Baker P.S., Rocha-Pena M.A. 1994: *Citrus Tristeza Virus (CTV)*, introduction to current priority, with special reference to the worsening situation in Central America and the Cariebean International institute of biological control center for FAO. UK. Pp 179.

Lee R.F., 1989: Plant viruses online, *Citrus Tristeza Closterovirus*, Californie, Citrographe. Pp 35-69.

Lee R.F., and Bar-Joseph M., 2000: *Tristeza*. Ed. Compendium of *Citrus* diseases. APS. Press. St.Paul. MN. Pp 61-63.

Loussert R., 1985: Les agrumes. Ed. Baillière. Paris. Pp136.

Loussert R., 1989: Les agrumes, production. Ed. Sci. (2), Liban. Pp 289.

References

Merouane K., 2013: Etude du virus de la *Tristeza* (*Citrus Tristeza Virus*) dans certains vergers d'agrumes dans la plaine de la Mitidja : Identification sérologique par DTBIA et inventaire des pucerons. Mem. Ing. Agro. Blida. Pp57.

Mhamdi H., 2012: Psorose des agrumes. Tunisie.
<http://www.techagrumes.educagri.fr/fiches-dinformation/maladies-virales/la-psorose>

Moreno P., Ambros S., Albiach-Marti M.R., Guerri J., and Pena L., 2008: *Citrus Tristeza Virus*. A pathogen that changed the course of the *Citrus* industry. Mol. Plant Pathol 9. Pp 251-268.

Mostefaoui H., Allal-Benfekih L., Djazouli Z.E., Petit D., Saladin G., 2014: Why the aphid *Aphis spiraecola* is more abundant on clementine tree than *Aphis gossypii*? Comptes Rendus Biologies. 337(2). Pp 123-133.

Moudoud R., 2012: Etude de virus de la *Tristeza* des agrumes (*CTV*) identification par ELISA et DTBIA. Mem. Mag. Blida. Pp127.

Nadori D., et Zemzami M., 1992: Historical review of Citrus Tristeza in Morocco. Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches. N° 65. Pp 101.

Navarro L., 2004: *Citrus Tristeza Virus* Symptoms. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Spain Anne-Sophie Roy. Euro. Mediter. Plant Protec. Organ. Pp 365-370.

Nolasco G., Santos C., Silva G., and Fonseca F., 2009: Development of an asymmetric PCR-ELISA typing method for *Citrus Tristeza Virus* based on the Coat protein gene. J. virol. Methods155. Pp 97-108.

Nurhadi S., Micra K., and Sulaiman I., 2003: Production of polyclonal antibody to the coat protein of *Citrus Tristeza Virus* in Chicken EGGS. Indonesian. J. Agricultural Science 4(1). Pp 18-26.

References

Oberholzer P.C.J., Mattews I., Stiemie S.F., 1949: The decline of grapefruit trees in South Africa. A preliminary report on so-called 'stem pitting'. Science Bulletin of the Department of Agriculture South Africa. Pp 297.

Olsen M., Mike M., Mike Mc., Zhongguo X., 2000: Diseases of Citrus in Arizona; Plant Disease Publications. Cooperative Extension, College of Agriculture & Life Sciences. Univ. Arizona. Pp 925.

Ouedraogo S., 2002: Etude diagnostique des problèmes phytosanitaires du *Mangifera indica L.*, de l'oranger *Citrus Sinensis* et du mandarinier *Citrus reticulata Blanco* dans la province du kénéDougou. Mem. Ing. Développement rural. Pp 70 .

Papayiannis L.C., Santos C., Kyrakou A., Kapari T., and Nolasco G., 2007: Molecular Characterization of *Citrus Tristeza Virus* Isolates from Cyprus on the basis of the Coat protein gene. J. Plant Pathol. (89)12. Pp 291-295.

Praloran J.C., 1971: Les agrumes. Techniques agricoles et production tropicale. (21-22). Pub. G-P. Maisonneuve et Larousse, France. Pp 516.

Price M., Schell J., Grosser S.S., Pappu H.R., Papu V., Manjunath K.L., Niblett C.L., Derrick K.S., et Lee R.F., 1996: Replication Of *Citrus Tristeza Closterovirus* In *Citrus* Protoplastes. Phytopathol.86 (8). Pp 830-833.

Rabatel A., 2011: Développement embryonnaire du puceron *Acyrtosiphon pisum* : caractérisation de voies métaboliques et gènes clé dans les interactions trophiques avec *Buchnera aphidicola*. Pp 35-36.

Roistacher C.N., 1991: Transmissible disease of *Citrus*. In handbook for detection and Diagnosis. F.A.O, Rome. Pp 286.

Sadouki A., 2013: Etude du virus de la *Tristeza* au niveau des vergers et des pépinières agrumicoles dans la région de la Mitidja: détection sérologique par DTBIA et enquête sur les méthodes de contrôle. Mem. Ing. Agro. Blida Pp57.

References

- Saharaoui L., Gourreau J.M., Ipertti I., 2001:** Gabriel Étude des paramètres bioécologiques de quelques coccinelles aphidophages d'Algérie (Coleoptera, Coccinellidae) = Bioecological parameters of some aphidophagous coccinellids in Algeria (Coleoptera, Coccinellidae). Bulletin de la Société zoologique de France. Vol. (126)4. Pp 351-373.
- 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 a cDNA clone and infection of citrus trees. J. Virol. 280. Pp 87-96.
- Satyanayana 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. J. Virol. Pp 473-483.
- Sekkat A., 2007:** Les pucerons des agrumes au Maroc. Mem. Ing. INA. Maroc. Pp 126.
- Smith I.M., McNamara D.G., Scott P.R., Harris K.M., 1992:** Quarantine pests for Europe. Data sheets on quarantine pests for the European Communities and for the European and Mediterranean Plant Protection Organization. Pub. CAB International. UK. Pp 10-41.
- Stoetzel M.B., 1994:** Aphides (Homoptera: Aphinidae) of potential importance on *Citrus* in the united states with illustrated keys species. Proc. Entomol. Soc. Wath. Pp 74-90.
- Stubbing G., Eggert P.R., Arriaga J.T., 2009:** *Citrus tristeza virus* (CTV). NAPPO Diagnostic Protocol. Pp 1:3-20.
- Wang J.J., and Tsai J.H., 2000:** Effect of temperature on the biology of *Aphis spiraecola* (Homoptera: Aphididae). A. Entomol. Soc. America 93. Pp 874-883.

References

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

Xiao-Feng X., Chang-Yong Z., Zhen S., And Fang-Yng Y., 2006: Preliminary studies on CPG/Hinf I RFLP groupe of *Citrus Tristeza Virus* infected Sweet oranges in China. Agricul. Sci. China 5 (1). Pp 39-44.

Yang Z.N., Mathewas D.M., Dodds J.A and Mirkov T.E., 1999: Molecular characterization of an isolate of *Citrus Tristeza Virus* that causes severe symptoms in sweet orange, Virus Genes.19(2). Pp 131-142.

Yokomi R.K., 2009: The brown citrus aphid, *Toxoptera citricida*. Pp 35- 46.

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. Pp 26.

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

Zhu H.Y., Ling K.S., Goszozynski D.E., McFerson J.R., and Gonsalvers D., 1998: Nucleotide sequence and genome organization of grapevine leafroll-associated virus-2 are similar to beet yellow virus, the *Closterovirus* type member. J. Gen. virol. Pp 79.

Zhou C.L.E., El-Desouk 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*. (80)5. Pp 512-525.

INTRODUCTION

Chapitre I :
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre II :
MATERIELS
ET
METHODES

Chapitre III :

Résultats et discussion

Conclusion

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES