

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des sciences agronomiques et vétérinaires

Département d'agronomie

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : phytopathologie

ETUDE DU VIRUS DE LA TRISTEZA DES AGRUMES (CTV) :

IDENTIFICATION PAR ELISA ET DTBIA

Par

Parika MOULOUD

Devant le Jury composé de

M.BOUTEFRAÏT	Professeur	U.S.D.Blida	Président
M.BENCHABANE	Maître de conférences A	U.S.D.Blida	Examineur
L.ALLAL	Professeur	U.S.D.Blida	Examinatrice
H.BELKAHLA	Professeur	U.S.D.Blida	Promotrice
D.LARBI	Maître assistante A	U.Skikda	Examinatrice

Blida ,Juin 2012

RESUME

Le *Citrus tristeza virus* (CTV) est présent dans la majeure partie de l'aire citricole, et est reconnu comme la maladie la plus dangereuse des *Citrus*, connu sous le nom de «déclin rapide». Le mouvement du matériel infecté et sa transmission selon le mode semi-persistant, assuré par plusieurs espèces de pucerons plus particulièrement *Toxoptera citricida*, vecteurs efficace, sont à l'origine de la généralisation de ce virus dans le monde. L'objectif de notre travail était la détection sérologique et biologique du CTV dans 7 sites dans la wilaya de Blida et Tipaza dans la région de Mitidja . Les résultats des observations visuelles et des prélèvements de pucerons ont montré que le symptôme le plus fréquent était la forme en cuillère des feuilles et dépérissement total de l'arbre sur la variété Mandarine et sur la variété Satsuma et Thomson . Deux vecteurs potentiels du CTV ont été observé il s'agit de *T. aurantii* et *A. citricola*. Egalement les tests sérologiques ont confirmés la présence du CTV dans la région de la Mitidja. Ainsi la DAS-ELISA et DTBIA ont révélé un taux d'infection de 24.25 et 25.18% respectivement durant la campagne 2010-2011. Les tests de transmission ont révélé que les capacités de transmission était identique pour *T. aurantii* et *A. citricola*.

Mots clés : Tristeza, *Toxoptera citricida* , *T. aurantii* , *A. citricola* , CTV, DAS-ELISA . DTBIA

SUMMARY

The *Citrus tristeza virus* (CTV) is present in most of the citrus area, and is recognized as the most dangerous disease of citrus known as a "rapid decline". The movement of infected material and its transmission according to the semi-persistent, provided by several aphid species especially *Toxoptera citricida*, effective vectors, are the cause of the spread of this virus in the world. The objective of our work was the serological detection and biological of CTV at 7 sites in the Mitidja. The results of visual observations and sampling of aphids have shown that the most common symptom was the spoon shape of leaves and dieback of the tree all the variety of Mandarin and on the Satsuma variety and Thomson. Two potential vectors of CTV were observed it comes to *T. aurantii* and *A.citricola*. Also serological tests have confirmed the presence of CTV in the Mitidja region. So the DAS-ELISA and DTBIA revealed an infection rate of 24.25 and 25.18% respectively during the 2010-2011 campaign. The transmission tests revealed that the transmission capacity was identical to *T. aurantii* and *A.citricola*.

Keywords: Tristeza, *Toxoptera citricida*, *T. aurantii*, *A.citricola*, CTV, DAS-ELISA, DTBIA.

ملخص

فيروس (CTV) موجود في معظم مناطق الحمضيات ويعتبر فيروس التريزيتزا من أخطر الفيروسات يطلق عليه الموت السريع في الولايات المتحدة , هو معروف بأنه فيروس يصيب الحمضيات ويحدث نتيجة لتنقل المواد المصابة بانتقاله عبر نصف-العميق الذي يؤمن عن طريق حشرات المن خصوصا *Taxoptera citricida* و يعتبر الناقل الرئيسي لهذا الفيروس في العالم . الهدف من دراستنا هو الكشف المصلي والبيولوجي لفيروس CTV في سبعة مواقع من منطقة متيجة، قد أظهرت نتائج عمليات المراقبة البصرية وأخذ العينات من المن أكثر الأعراض شيوعا هو شكل ملعقة واليبوسة الكلية لشجرة اليوسفي، Satsuma و Thomson وقد تم تحديد حشرتي المن الناقلة لهذا الفيروس وهما *T. aurantii*, *A. citricola* أيضا الاختبارات عن طريق المصل DTBIA et ELISA أثبتت عن وجود هذا الفيروس في منطقة المتيجة بنسبة 25.18% و 24.25% خلال الموسم (2010 / 2011)، اختبارات النقل كشفت أن الحشرتين الناقلتين *T. aurantii*, *A. spiraecola* لهما قدرة متساوية لنقل الفيروس.

الكلمات المفتاحية : التريزيتزا *T. citricida*, *T. aurantii*, *A. spiraecola*, CTV, ELISA, DTBIA.

REMERCIEMENTS

C'est pour nous un plaisir autant qu'un devoir, d'exprimer notre gratitude et reconnaissance à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier madame BELKAHLA H. professeur à la faculté des sciences Agro-vétérinaire, promotrice de ce mémoire, pour nous avoir encadré et orienté tout au long de ce travail qu'elle trouve ici l'expression de notre gratitude.

Nous tenons à remercier également à Monsieur BOUTEKRABT, professeur à la faculté des sciences Agro-vétérinaire, pour avoir accepté de présider le jury.

Nos remerciements vont aussi à Monsieur BENCHABANE et à madame ALLAL L. maîtres de conférences à la faculté des sciences Agro-vétérinaire, pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons à remercier également à Madame LARBI, D maître assistante de l'université de Skikda, pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons à exprimer également nos sincères et profonds remerciements aux propriétaires des vergers d'étude (BELHADEF B. (exploitation 2), directeurs de l'exploitation 7, directeurs de l'EURL de l'exploitation 1 et TAYEB S (exploitation 3) pour nous avoir permis et facilité la réalisation de notre travail d'échantillonnage.

Ma reconnaissance affectueuse va à tous les membres de ma famille, pour les encouragements qu'ils m'ont prodigué tout au long de la réalisation de ce travail.

Un merci particulier à Monsieur KHEDDAM H. Pour leur encouragement et leur conseil. Et Je tiens à exprimer ma gratitude à Malika, au secrétariat de la PGRS, pour sa disponibilité et son efficacité.

Enfin mes remerciements vont à tous mes amis de phytopathologie

TABLES DE MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

TABLES DE MATIERES

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION.....	11
1-PESENTATION DE LA PLANTE HOTE	13
1.1- Généralités sur les agrumes.....	13
1.2- Origine et histoire des agrumes.....	14
1.3 -Répartition géographique dans le monde.....	14
1.4- Importance de l'agrumiculture	16
1.4.1 -Dans le monde.....	16
1.4.2 -En Algérie.....	18
1.5 - Classification botanique	19
1.6- Conditions de croissance des agrumes.....	20
1.7- Les différents porte- greffes cultivés	20
2-ETUDE DU VIRUS DU CTV.....	25
2.1- Généralités sur les virus des agrumes.....	25
2.2 Généralité sur le virus du CTV.....	28
2.3 Synonymes.....	28
2.4- Historique.....	29
2.5- Répartition géographique.....	29
2.6- Impact économique.....	30
2.7- Etude de la particule virale.....	31
2.7.1- Propriétés de la particule virale	31
2.7.2- Propriétés biochimique et moléculaire.....	31
2.7.3- Organisation génomique du CTV.....	32
2.8.-Symptomes causes par le CTV.....	33
2.8.1- Symptômes macroscopique.....	33

2.8.2- Symptômes microscopiques	36
5-VOIES DE TRANSMISSION.....	37
3.1 -Vecteurs du CTV.....	37
3.1.1- <i>Toxoptera citricida</i>	39
3.1.2 -Puceron vert: <i>Aphis spiraecola</i> Patch.....	44
3.1.3- Puceron noir : <i>Toxoptera aurantii</i>	45
3.1.4- Puceron du citronnier : <i>Aphis gossypii</i> Glover	46
3.1.5- <i>Myzus persicae</i> (sulzer).....	48
3.2 -Transmission semi-persistante.....	48
3.3- Gamme d'hôtes	49
4- MATERIELS ET METHODES	50
4-1- Identification du CTV.....	50
4.1.1- Source d'inoculum.....	50
4.1.2- Sites prospectées.....	50
4.1.3- Méthode d'identification.....	52
4.1.3.1- Le diagnostic visuel	52
4.1.3.2- Conservation des échantillons.....	53
4.1.4- Identification par sérologie	54
4.1.4.1- Direct Tissue Blot ImmunoAssay (DTBIA).....	54
4.1.4.2- Test sérologique ELISA.....	57
4.1.4.2.1- Les solutions tampon.....	57
4.1.4.2.2 -Préparation des échantillons	57
4.1.4.2.3- Principe de test ELISA.....	57
4.1.4.2.4 -Sérum utilisé.....	58
4.1.4.2.5- Mode opératoire	58
4.1.4.2.6 -Lecture des résultats	58
4.1.4.2.7 -Taux d'infection	61
4.2- Détection biologique et efficacité de la transmission.....	61
4.2.1- Collecte les pucerons.....	61
4.2.2 -Identification des pucerons.....	61
4.2.3 -Taux d'infestation	61
4.2.4 -Transmission par pucerons	62

5- RESULTATS ET DISCUSSION	63
5.1 -Diagnostic symptomatologique du CTV	63
5.2- Discussion	67
5.3- Inventaire des populations aphidiennes	67
5.4- Discussion	69
5.5 -Résultats de la serodétection de la Tristéza.....	69
5.5.1- Résultats de DAS-ELISA.....	69
5.5.2- Discussion.....	71
5.5.3- Résultats de test DTBIA.....	72
5.5.4- Discussion.....	74
5.6- Identification biologique du virus du CTV	75
5.6.1- Transmission par pucerons.....	75
5.6.2- Discussion.....	77
CONCLUSION	78
APPENDICES	82
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	86

PDF Created by www.nuance.com

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1	Les agrumes : une forte spécialisation géographique	15
Figure 1.2	Les agrumes poussent bien dans un climat tropical ou subtropical	16
Figure 1.3	Production mondiale d'agrumes totale ainsi que par catégorie de produit de 1961 à 2004 en tonnes	17
Figure 1.4	Répartition géographique de la production d'agrumes destinés au marché frais	17
Figure 2.1	Répartition géographique à l'échelle internationale de la maladie de la Tristeza des agrumes	30
Figure 2.2	Virus du CTV	31
Figure 2.3	Génome du CTV	32
Figure 2.4	Sur limettier des symptômes sur feuilles caractérisée par le jaunissement des nervures	33
Figure 2.5	Symptômes de dépérissement	34
Figure 2.6	Striures du bois sur tronc	34
Figure 2.7	Striures du bois sur lime mexicaine	35
Figure 2.8	Dégât sur fruits	35
Figure 3.1	Les différents vecteurs du CTV	38
Figure 3.2	<i>Taxoptera citricida</i>	39
Figure 3.3	Aire de répartition et mouvement de <i>T. citricida</i> dans le monde	40
Figure 3.4	<i>Taxoptera citricida</i> (individus ailés)	42
Figure 3.5	<i>Taxoptera citricida</i> (puceron colonisateur des agrumes)	43
Figure 3.6	Puceron vert	44
Figure 3.7	Dégât sur les feuilles	44
Figure 3.8	Dégât sur feuille	45

Figure 3.9	Puceron noir	46
Figure 3.10	Dégât sur les jeunes rameaux	47
Figure 4.1	Echantillonnage hiérarchique (monitorage)	53
Figure 4.2	Empreintes d'une coupe des ovaires des fleurs sur les membranes de Nitrocellulose	54
Figure 4.3	Blocage de la membrane dans une solution de BSA.	55
Figure 4.4	Membrane avec le conjugué	55
Figure 4.5	Révélation	56
Figure 4.6	Observation à la loupe binoculaire	56
Figure 4.7	Principe du test – ELISA	60
Figure 5.1	Enroulement des jeunes pousses A : observé sur la double fine de l'exploitation 7 ; B : observé sur Thomson de l'exploitation 1.	63
Figure 5.2	Jaunissement des feuilles sur Double fine observé à l'exploitation 7	64
Figure 5.3	Feuilles en cuillère A et B : observé sur la mandarine de l'exploitation 5 ; C : observé sur double fine de l'exploitation 7.	65
Figure 5.4	Dessèchement des branches sur Mandarine observé à l'exploitation 5	66
Figure 5.5	Dessèchement total de Mandarine observé à l'exploitation 5	66
Figure 5.6	Espèces aphidiennes rencontrées dans les sites prospectés A : <i>Toxoptera aurantii</i> ; B : <i>Aphis spiraeicola</i>	67
Figure 5.7	Taux d'infection de différentes espèces de parc à bois de l'exploitation 4	70
Figure 5.8	Taux d'infection de différentes espèces de l'exploitation 7	71
Figure 5.9	Taux d'infection de différentes espèces de parc à bois de l'exploitation 4	73
Figure 5.10	Taux d'infection de différentes espèces de l'exploitation 7	74
Figure 5.11	Résultat de la transmission par pucerons virulifères : A : taches sur la face supérieure des feuilles ; B :déformation des feuilles en forme de cuillère	75

Tableau 1.1	Production d'agrumes en Algérie en 2004	18
Tableau 1.2	Situation des agrumes par région. Sur trois périodes 2000 ; 2006 et 2009	19
Tableau 1.3	Sensibilité des portes greffe d'agrumes aux maladies	24
Tableau 2.1	Classification des virus des agrumes	26
Tableau 2.2	Famille et genre du virus présents chez les agrumes et d'autres familles de plantes	27
Tableau 5.1	Symptômes de transmission par pucerons sur petit fruit	76

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

INTRODUCTION

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) [1]. Sur la période 2000-2004 la production annuelle totale s'est élevée à plus de 105 millions de tonnes, et a atteint 115 millions de tonnes en 2008 juste devant le groupe des bananes (106 millions), et très loin devant le raisin (69 millions) ou la pomme (64 millions) [2].

La superficie du verger agrumicole s'étend sur environ 3,5 millions d'hectares répartie sur une aire très large située approximativement entre les 40° de latitude Nord et Sud tout autour du Monde, présentant donc une grande capacité d'adaptation à des conditions pédoclimatiques très différentes [1].

Les agrumes sont essentiellement cultivés pour leurs fruits destinés à la consommation en frais ou à la transformation : extraction du jus principalement (oranges, pomelos, mandarines, citrons). La richesse en vitamines A, B et C, la teneur en jus et en fibres équilibrent la ration alimentaire de base. Dans les régions les plus arides, les agrumes (souvent des limes ou des citrons) sont séchés pour être conservés avant d'accommoder les plats cuisinés [3].

Les fleurs et feuilles des variétés les plus aromatiques (bigaradiers à fleurs, bergamotiers, citronniers...) sont distillées et les huiles essentielles utilisées par l'industrie de la parfumerie, les tourteaux, sous-produits de la transformation, peuvent être utilisés en alimentation animale [3].

La Méditerranée fait partie des principales zones de production d'agrumes dans le monde. Avec 17 millions de tonnes, elle figure en deuxième position après le Brésil (20 millions de tonnes), et arrive devant la Chine et les Etats-Unis qui produisent 14 millions [3].

L'Algérie parmi les pays de la Méditerranée où l'agrumiculture couvrait une superficie globale de 59 368 ha en 2004 [4]. En 2010 le verger agrumicole occupait 63.589ha [5]. Cependant chaque année la rentabilité des vergers d'agrumes est conditionnée par les facteurs climatiques défavorables (la sécheresse...etc), le vieillissement des vergers et l'attaque par les ravageurs et les maladies cryptogamiques, bactériennes et virales.

La présence de maladie à virus dans les vergers d'agrumes est connue depuis assez longtemps. Toutes les régions agrumicoles du monde sont affectées, plus ou moins sévèrement par ces viroses. Les symptômes d'affections virales peuvent apparaître sur une ou plusieurs parties de l'arbre. Dans ces conditions toute portion de la plante est susceptible de transmettre par greffage le virus à un plant non affecté. Les viroses des agrumes peuvent être transmises de diverses manières : par greffage, par les semences et par les insectes vecteurs.

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 [6]. Les dégâts provoqués par cette maladie sont étroitement liés à l'utilisation du bigaradier comme porte-greffe. Presque toutes les espèces et variétés greffées sur bigaradier (sauf le citronnier) dépérissent en présence de Tristeza [7].

En Algérie le porte greffe le plus multiplié (à plus de 90%) est le bigaradier. Par conséquent l'utilisation généralisée du bigaradier ainsi que la présence des principaux pucerons vecteurs du CTV constituent des facteurs de sensibilité des agrumes au virus de la Tristeza qui est une maladie de quarantaine [4].

Selon l'importance et la gravité de cette maladie, notre travail est axé autour des objectifs suivants:

- Observation macroscopique des symptômes de la Tristeza dans les vergers d'agrumes dans la région de Mitidja.
- Collection d'échantillons et la sélection des échantillons infectés par le virus du CTV par les tests immuno-enzymatiques (ELISA et DTBIA).
- Détection biologique par transmission semi-persistante par pucerons.

CHAPITRE 1

PRESENTATION DES AGRUMES

1.1- Généralités sur les agrumes

Le mot « *agrumes* » est un mot italien, venant lui-même du latin médiéval *acrumen* qui désigne ces « arbres à fruits acides » [8].

Les agrumes sont les fruits des végétaux des genres *Citrus*, *Fortunella*, *Microcitrus*, *Eremocitrus* et *Poncirus* (famille des *Rutaceae*), parmi lesquels on trouve les citrons, les clémentines, les kumquats, les bergamotes, les limes, les mandarines, les oranges, les pamplemousses, les pomelos, les tangerines et les cédrats. Le genre *Fortunella* regroupe les kumquats. Le genre *Poncirus* renferme une seule espèce qui produit des fruits non comestibles (les bigaradiers) [9].

Les agrumes sont de petits arbres de 4 à 12 m de hauteur, à feuillage dense et persistant (sauf le *Poncirus trifoliata*). Les branches sont parfois épineuses, plus particulièrement lorsque l'arbre est issu de semis. Les feuilles sont trifoliées (*Poncirus* et ses hybrides) ou simples (*Citrus*, *Fortunella*). Elles peuvent avoir un pétiole ailé développé comme chez le bigaradier et les pomelos. Les jeunes pousses présentent parfois des signes distinctifs pubescents chez les pamplemoussiers, nettement anthocyanés chez les citronniers et plus discrets chez les limettiers [10].

Le fruit, de taille très variable (10 g à plusieurs g), à une structure particulière, c'est une baie constituée de trois enveloppes :

- Un épicarpe coloré ou flavédo qui contient des glandes renfermant les huiles essentielles ;
- Un mésocarpe ou albédo, constitué de tissus spongieux blancs. Il est très développé et ferme chez les cédrats ;

- Un endocarpe, paroi interne des carpelles, qui est tapissé par des poils qui se transformeront en vésicules juteuses à maturité.

1.2-Origine et histoire des agrumes

L'origine géographique exacte des agrumes n'est pas clairement identifiée, bien que la plupart des chercheurs la situe dans le sud-est asiatique et plus particulièrement de la partie basse de la chaîne de l'Himalaya [3]. Les Chinois et les indiens connaissaient déjà le cédratier, le kumquat et le pomélo il y a 4000 ans et commencèrent à le cultiver 1000 ans avant Jésus-Christ [11].

Leur apparition dans le bassin méditerranéen est très ancienne. Elle remonte au temps des échanges entre l'Orient et l'Occident avant l'ère chrétienne. Les agrumes se sont développés un peu plus tard au Maghreb et en Espagne par les Arabes. Ces derniers par leurs conquêtes avaient introduit le bigaradier dans l'empire des Almohades, l'orangier fut importé quelques siècles après par les Maures d'Andalousie. Le Bassin méditerranéen constitue toutefois une importante zone de diversification pour trois espèces majeures au plan économique : les orangiers, les mandariniers et les citronniers. Le pomelo, *Citrus paradisi*, hybride naturel du pamplemousse, est un des rares agrumes commerciaux originaire des Caraïbes [12].

En Algérie, le bigaradier embellissait déjà pendant la période ottomane (du 16 au 18 siècle) les jardins des Beys (Casbah, Hauteurs d'Alger et Constantine). Au début de la colonisation en 1850, le Mandarinier fût introduit en Algérie par M. Hardy. Au XIX ème siècle le Père Clément de l'Orphelinat agricole de Misserghin (Wilaya d'Oran), effectuant un croisement de mandarinier " Commun " avec le bigaradier " Granito " découvrit la clémentine qui s'est avéré une variété précoce parmi le groupe des mandarines [4].

1.3- Répartition géographique dans le monde

La production d'agrumes est très répandue autour du globe, plus de 140 pays produisaient des agrumes. Cependant, la majeure partie de la production se concentre dans certaines zones géographiques. La plupart est cultivée dans l'Hémisphère Nord, comptant pour environ 70% de la production totale [13].

Les principaux pays producteurs d'agrumes sont le Brésil (20 millions de tonnes), les pays du bassin méditerranéen (17 Mt), la Chine (4 Mt) et les États-Unis (14 Mt où les agrumes sont principalement cultivés pour leur commercialisation sur le marché frais sont produites en Californie, en Arizona et au Texas, alors que ceux destinés à la fabrication de jus d'orange sont produits en Floride). Ces états comptent pour plus des deux tiers de la production totale d'agrumes (Figure 1.1&1.2) [12]

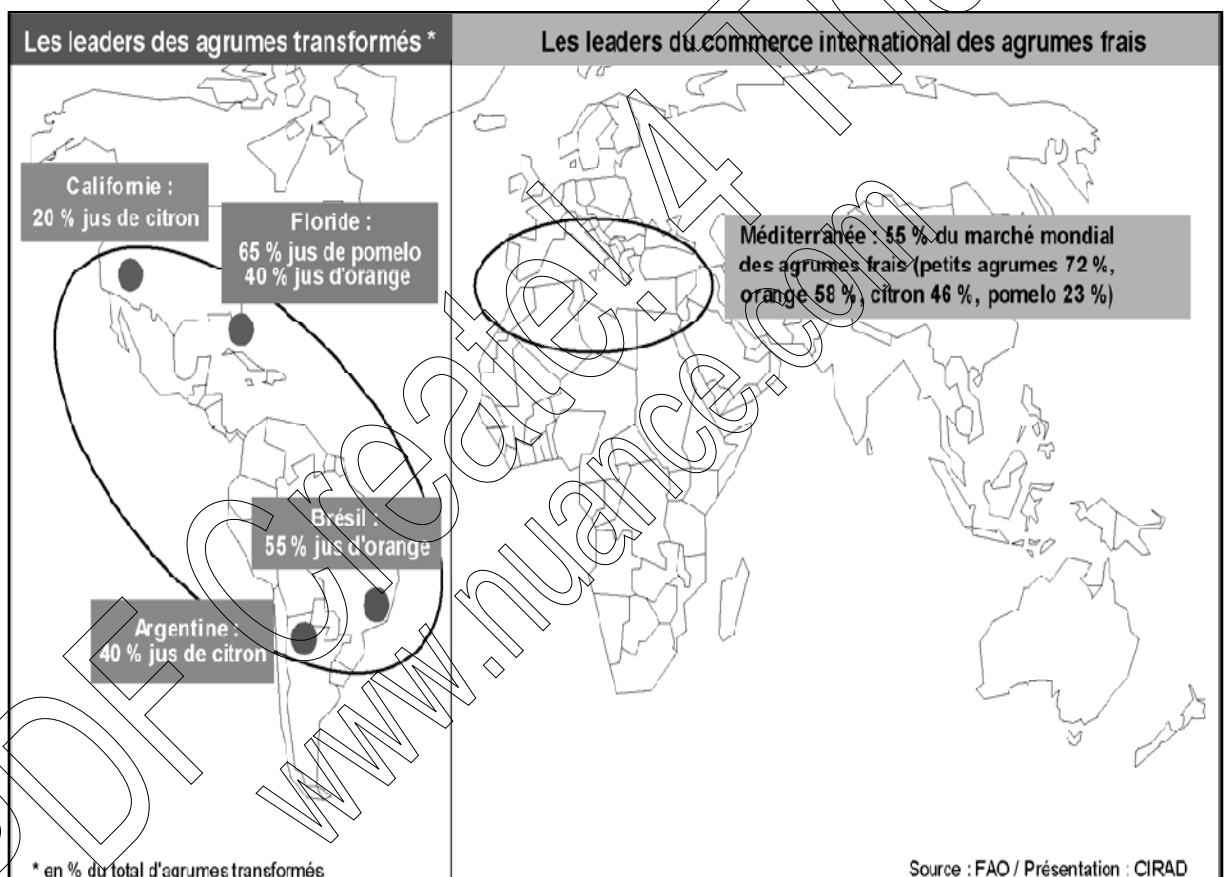


Figure 1.1 : Les agrumes : une forte spécialisation géographique [12].

En Europe, les agrumes sont cultivés dans les pays méditerranéens, l'Italie possède une tradition historique et un savoir faire particulier (Bergamote de Calabre, Limoncello de Sorrente, agrumes décoratifs des jardins florentins, etc.) [14].

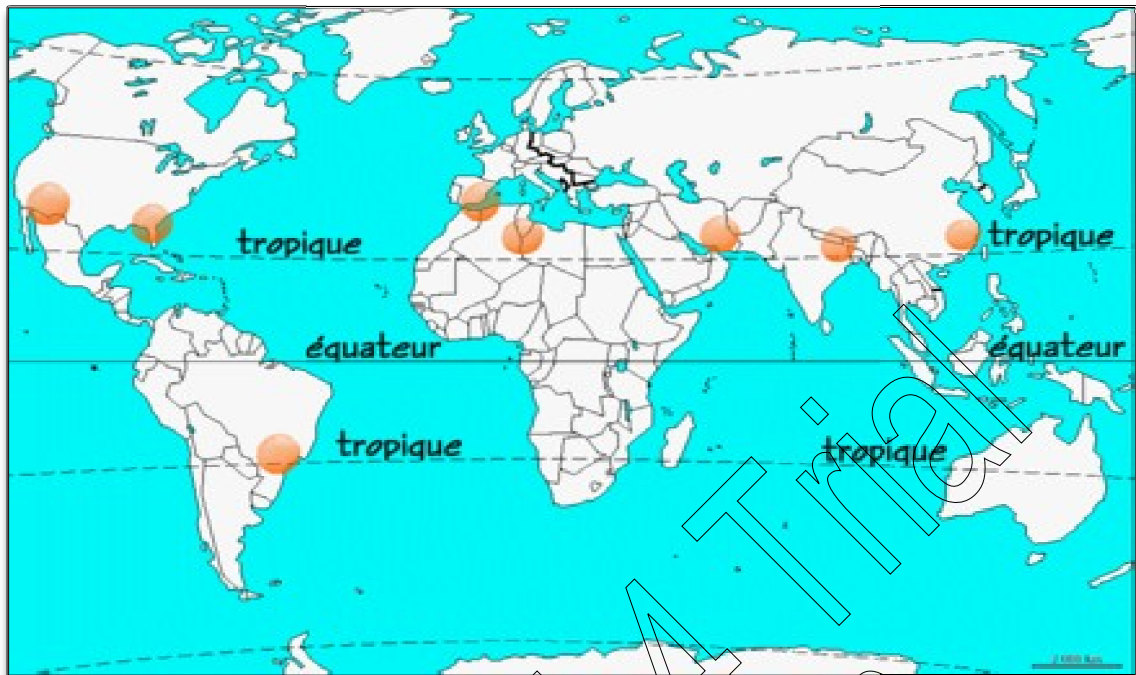


Figure 1.2 : Les agrumes poussent bien dans un climat tropical ou subtropical [15].

1.4- Importance de l'agrumiculture

1.4.1-Dans le monde

La croissance de la production mondiale des agrumes a été relativement linéaire au cours des dernières décennies du XXème siècle. La production annuelle totale d'agrumes s'est élevée à plus de 105 millions de tonnes sur la période 2000-2004. Les oranges constituent la majeure partie de la production d'agrumes avec plus de la moitié (71%), citrons et limes (13 %), mandarines, clémentines, tangerines (10 %) et pomelos et pamplemousse (6 %) (Figure 1.3)

[16]

L'amélioration de la production est principalement due à la croissance des terres cultivées consacrées aux agrumes, mais également à un changement de comportement de la part des consommateurs dont le revenu progresse et dont les préférences s'orientent de plus en plus vers des produits sains et pratiques (Figure 1.4) [16]

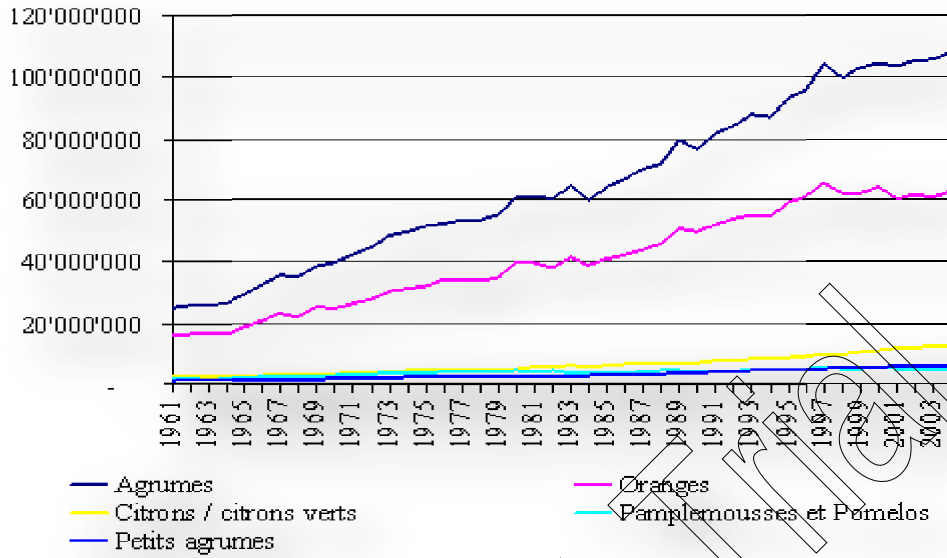


Figure 1.3 : Production mondiale d'agrumes totale ainsi que par catégorie de produit de 1961 à 2004 en tonnes [17].

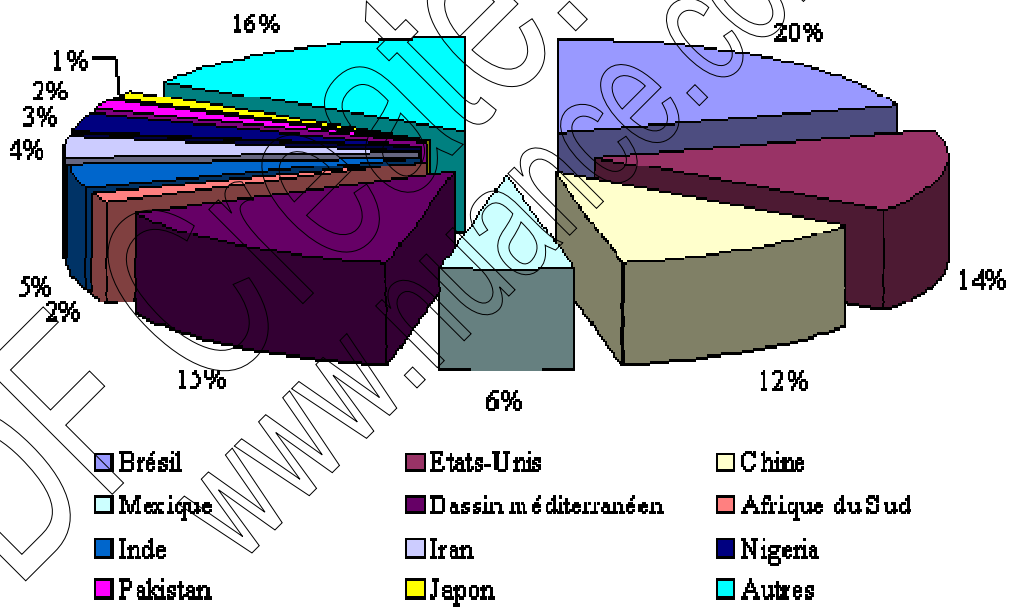


Figure 1.4 : Répartition géographique de la production d'agrumes destinés au marché frais [17].

1.4.2 - En Algérie

Actuellement les agrumes n'occupent que 7,7 % de la superficie des cultures fruitières. Les plus grandes superficies sont occupées par l'olivier 288.442 ha le palmier dattier 160.867, l'ensemble des rosacées fruitières 263.332 ha, le figuier n'occupe pas que 46.935 ha [5].

Une progression sensible des plantations d'agrumes :

- Au cours de la décennie 1990-1999 le verger agrumicole s'étendait sur une superficie de 41380 ha, soit 8,38% de la superficie arboricole nationale et la production moyenne des agrumes était de 3,5 millions de quintaux [18].
- En l'an 2000 la superficie agrumicole était de 46.000 ha
- A la fin de 2004, le verger agrumicole s'étendait sur une superficie de 59 368 ha soit 0.7 % de la SAU et se répartissait essentiellement dans les wilayas les plus importantes (Tableau 1.1).

Tableau 1.1 : Production d'agrumes en Algérie en 2004

Wilayas	Superficie (ha)	Production (T)
Blida	16030	375102
Chlef	5649	87559,5
Alger	4709	80053
Relizane	4130	79842,25
Mostaganem	3030	77265
Skikda	2180	33790
EL-Tarf	2097	37116,9
Total des 7 wilayas	37825	770728,68
Total Algérie	59368	1038346,68

- Nous remarquons que la période la plus importante de plantation se situe entre l'an 2000 et 2006, une augmentation de 16.892 ha sans une occupation significative de nouvelles zones ; les plus grands chantiers ont eu lieu dans les régions traditionnelles des citrus (Tableau 1.2) [5].

Tableau 1.2 : Situation des agrumes par région. Sur trois périodes 2000 ; 2006 et 2009

Wilayas	Superficie 2000	Superficie 2006	Superficie 2009
Total	46.010	62.902	63.589

Les rendements des agrumes restent en dessous de la moyenne internationale et plus faible que les rendements de nos voisins méditerranéens [19]. Culture intensive par excellence l'agrumiculture rencontre de nombreuses contraintes liées à l'insuffisance des ressources hydriques, à l'état défectueux des réseaux d'irrigation et de drainage, à l'âge très avancé de plus de la moitié des plantations et à une utilisation modeste des techniques modernes [20].

1.5- Classification botanique

Le terme d'agrumes correspond à 3 genres botaniques : *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus* (les AngloSaxons appellent " *Citrus* " l'ensemble des agrumes). Ils appartiennent, avec 8 autres genres dont *Eremocitrus*, *Microcitrus*, *Clymenia*, *Citropsis* et *Severinia* à la sous-tribu des *Citrinae*, tribu des *Citreae*, sous-famille des *Auranrioideae*. Famille des *Rutaceae*. Ordre des *Géraniales* [21].

- Deux grandes classifications existent pour le genre *Citrus*. Celle de Tanaka [22] comprend 156 espèces tandis que Swingle et Reece [21] n'en distinguent que 16. Cette contradiction s'explique par les larges possibilités d'hybridations interspécifiques ainsi que par la polyembryonie qui fixe ces structures hybrides : Tanaka [22] élève ainsi au rang d'espèce de nombreux hybrides intra ou interspécifiques.

- Le genre *Fortunella* désigne les Kumquats. Il comprend 2 ou 4 espèces selon les auteurs avec quelques cultivars commerciaux.
- Le genre *Poncirus* est monospécifique : *P. trifoliata* est la seule espèce, parmi les agrumes, à être à feuilles caduques et trifoliolées, très résistante au froid, son fruit est impropre à la consommation.

1.6-Conditions de croissance des agrumes

Les agrumes sont généralement cultivés dans des régions semi-arides où l'irrigation est nécessaire. Les températures moyennes favorables à la culture des agrumes sont de l'ordre de 10 à 12°C pour l'hiver, 22-24°C pour l'été. Au printemps, En général, les agrumes montent en sève et fleurissent lorsque la température nocturne ne descend pas en dessous de 10 ou 12°C [23].

L'humidité excessive de l'air ambiant et le vent sont deux facteurs non négligeables qui peuvent parfois endommager non seulement la production mais également l'arbre [23].

Les plantes d'agrumes sont composées d'une partie racinaire et une aérienne. Le développement, tant en profondeur que latéralement, démontre que le porte-greffe joue aussi un rôle dans le développement et la localisation des racines. En règle générale, le système racinaire est localisé dans le 1^{er} mètre de profondeur [24].

1.7- Porte-greffes cultivés

Les agrumes présentent une très grande diversité mais le matériel végétal destiné à être utilisé comme porte-greffe d'agrumes doit permettre une meilleure résistance au froid, une adaptation à certains types de sols (calcaires), une meilleure vigueur de la variété cultivée (greffon), une meilleure résistance aux maladies plus particulièrement la tolérance à la Tristeza et la résistance ou la tolérance à la gommose due au *Phytophthora* [25]. Le porte-greffe idéal n'existe pas, il convient donc de retenir le meilleur compromis. En pépinière de production de plants, les porte-greffes sont obtenus par multiplication de semis, Si l'on greffe

sur des pieds âgés (2-3 ans), la production peut avoir lieu au bout d'un an pour les agrumes [26].

➤ Bigaradier ou oranger amer (*Citrus aurantium*)

Le bigaradier est le principal porte-greffe utilisé jusqu'à présent en région méditerranéenne [27]. Cependant l'extension du CTV impose de devoir développer rapidement un nouveau porte-greffe résistant à cette maladie et bien adapté aux contraintes de cette zone de culture [28].

Son origine est du Sud Est de l'Inde. Les Arabes l'auraient introduit au XII^e siècle en Perse, Irak, Syrie, Palestine, Égypte, Afrique du Nord, Sicile, Sardaigne et en Espagne. Ceux sont les croisés qui le répandront dans toute l'Europe où, pendant près de 500 ans, il fut le seul type d'organier cultivé. Christophe Colomb l'introduisa aux Antilles lors de son deuxième voyage, et il atteindra les rives de l'Amérique continentale vers 1518. Aux États-Unis, où il trouve une terre particulièrement fertile, il poussa en vastes jardins sauvages [29].

Le terme "bigarade" vient de *bigarrer*, un mot provençal apparu au XV^{ème} siècle et dont l'origine semble être germanique. Le mot est apparu en 1600, remplaçant l'expression plus ancienne "d'*orangier bigarrat*". L'arbre de bigaradier est vigoureux, de croissance rapide. Il est d'ailleurs le plus grand des agrumes, avec un maximum de 12 mètres dans sa zone de culture [30].

Le bigaradier constitue le porte-greffe de fond (95 % des plantations agrumicoles sont réalisées sur le bigaradier), en raison de sa bonne résistance à la gommoose due au *Phytophthora* (Tableau 1.3) [24], il se comporte comme le porte greffe le plus rustique des agrumes. Il peut supporter des températures de l'ordre de -10°C. Ainsi il supporte les sols sablo limoneux, craint les excès d'eau et les sols lourds. Il présente une bonne tolérance aux chlorures si le terrain est perméable, une assez bonne tolérance au calcaire [31]; et une bonne affinité avec l'ensemble des variétés commerciales (sauf Kumquat et mandarine de type Satsuma), productivité moyenne à bonne qualité du fruit [27].

➤ Les citranges

a-Citrance troyer (*Citrus sinensis* x *Poncirus trifoliata*)

Le *citrance troyer* est un hybride de l'oranger *Washington Navel* avec le *Poncirus trifoliata*. De ce fait, il a les caractéristiques de ses deux parents [32]. Du point de vue aptitude, ce porte-greffe présente une résistance assez élevée aux maladies virales, une vigueur moyenne, une productivité élevée et une mise à fruit améliorée [33].

Quant aux aptitudes édaphiques, sa résistance en terre est moyenne. Elle est faible à moyenne en terre sèche. Sa résistance aux chlorures est faible et sa multiplication est facile et se fait soit par semis ou par greffage [34].

b-Citrance carrizo

C'est un porte-greffe hybride de *Citrus sinensis* et de *Poncirus trifoliata* [35]. Après ce croisement, le docteur Swingle était impressionné de l'aspect des fruits du *citrance carrizo* et de l'uniformité des jeunes plants qui les ont produits [36,37].

Ce porte-greffe se comporte globalement comme le *citrance troyer*, mais il présente un enracinement plus dense et plus profond et il est plus résistant aux chlorures et confère une haute productivité et une bonne qualité aux fruits du greffon [36,34]. En général, le *citrance carrizo* peut être légèrement préférable au *troyer* comme porte-greffe pour les oranges [37].

➤ Poncirus trifoliata

Le citronnier épineux (*Poncirus trifoliata*) originaire de Corée et du nord de la Chine, d'une hauteur de 3 à 4 mètres, il possède des feuilles trifoliées caduques, une tige très épineuse et la pulpe des fruits n'est pas comestible [38,39].

Les diverses variétés de ce genre monospécifique, résistant à des températures de -20°C sans concurrence chez les agrumes, est partiellement conférée au scion [40]. Ce porte-greffe est donc recommandé pour les zones à hiver marqué. Le *Poncirus* supporte bien les terres humides et l'asphyxie, mais il

craint les sols secs. En revanche, il montre une grande sensibilité au calcaire et aux chlorures, c'est un porte-greffe mal adapté aux régions chaudes et arides [34].

➤ Citrus volkameriana

A l'origine, ce porte-greffe avait retenu l'attention pour sa résistance au mal secco. C'est un bon porte-greffe, notamment pour les citronniers, les limettiers et divers autres agrumes. Le *Citrus volkameriana* est assez résistant aux chlorures, s'adapte bien en sols secs, mais nécessite des sols aérés. Il supporte moyennement les sols lourds et présente une mauvaise résistance à l'asphyxie [34].

➤ Mandarinier Cléopâtre (*Citrus reticula blanco*)

Le porte-greffe Mandarinier Cléopâtre est originaire de l'Inde et a été introduit en Floride de la Jamaïque dans le milieu du 19^{ème} siècle. Il est utilisé en Floride, Espagne et en Australie pour les sols alcalins peu profonds [34].

Les mandariniers Cléopâtre tolèrent les sols alcalins en raison d'un système de racines peu profond. Il est sensible à l'engorgement et fonctionne mieux dans les sols bien drainés [34]. Ce porte-greffe est utilisé pour sa bonne tolérance à la salinité due à sa capacité d'exclure les chlorures [41].

➤ Citrus macrophylla

Il est originaire de l'île de Cebu aux Philippines. C'est un hybride issu d'un croisement entre citronnier et pamplemoussier. Ce porte-greffe peut être recommandé de préférence pour les citronniers et les limettiers à gros fruits dans les régions indemnes de Tristeza. *Citrus macrophylla* est sensible au froid et aux sols humides. En revanche, il supporte des teneurs élevées en chlorures et s'accommode aux sols très calcaires mais souvent sensible aux carences en magnésium [34]

Tableau 1.3: Sensibilité des portes greffe d'agrumes aux maladies [34] [42].

Porte greffe	Gommose et phytophthora	Tristéza	Cachexis Xyloporose	Exocortis
Bigaradier	Résistant	Très sensible	Tolérant	Tolérant
Mand. Cléopâtre	Résistant ou sensible	Tolérant	Tolérant	Tolérant
Poncirus trifoliata	Résistant	Tolérant	Tolérant	Très Sensible
Citrange " Troyer "	Résistant	Tolérant	Tolérant	Sensible
Citrange " Carrizo "	Résistant	Tolérant	Tolérant	Sensible
Orangier de semis	Sensible	Tolérant	Tolérant	Tolérant
Limette douce de Palestine	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
Lime Rangpur	Sensible	Tolérant	Sensible	Sensible
Rough lemon	Très Sensible	Tolérant	Tolérant	Tolérant
Citrus taiwanica	Résistant	Tolérant	Tolérant	Tolérant
Citrus macrophylla	Résistant	Sensible	Sensible	Tolérant
Citrus volkameriana	Résistant	Tolérant	Tolérant	Tolérant
Citrus junos (Yuzu)	Résistant	Tolérant	Tolérant	Tolérant

CHAPITRE 2

ETUDE DE VIRUS DU CTV

2.1- Généralités sur les virus des agrumes

En 1966, le comité international de la taxonomie des virus (ICNV) a établi une classification des virus en fonction des propriétés biologiques et physico-chimiques des particules virales. Les virus des agrumes sont divisés en trois catégories :

- La première catégorie est composée de virus appartenant à des genres regroupés en cinq familles. Ces dernières possèdent un acide nucléique de type ARN simple brin, mis à part la famille des *Caulimoviridae* qui est constituée d'un génome de type ADN double brin. La particule virale de ces virus est présente sous différentes formes : sphérique, bâtonnet, filament et isométrique (Tableau 2.1).
- La deuxième catégorie se compose de virus appartenant à des genres non regroupés en famille. Leur génome est de type ARN simple brin, leur particule virale est sous forme de bâtonnet et en filament.
- La troisième catégorie se compose de virus non assignés ni à une famille ni à un genre. Les particules virales sont de type filamenteux comme le Citrus ringspot (*CRSV*) et sphérique comme le *Satsuma dwarf virus* (*SDV*) avec un ARN simple brin.

Tableau 2.1 : Classification des virus des agrumes [43,44].

Génome	Particule	Ordre	Famille	Genre
ADN db Circulaire	Isométrique, Bâtonnet	-	<i>Caulimoviridae</i>	<i>Badnavirus</i>
ARN sb,	Filamenteuse	<i>Nidovirales</i>	<i>Closteroviridae</i>	<i>Closterovirus</i>
ARN sb et Enveloppe	Isométrique, Monopartite, Sphérique, Tripartite.	<i>Nidovirales</i> <i>Mononegavirales</i> <i>Nidovirales</i>		<i>Lutteovirus</i> <i>Ophiovirus</i> <i>Iiarvirus</i>
ARN sb	Isométrique, Tripartite, Filamenteuse, Bâtonnet	- -		<i>Capillovirus</i> <i>Rhabdovirus</i>

Légende :- : Non déterminé, ADN db : ADN double brin, ARN sb : ARN simple brin.

Les trois catégories des virus des agrumes ne sont pas spécifiques seulement aux agrumes mais à d'autres cultures (Tableau 2.2).

Tableau 2.2: Famille et genre de virus présents chez les agrumes et d'autres familles de plantes [44,45].

Famille	Genres spécifiques Agrumes	Genres non spécifiques Agrumes
<i>Bromoviridae</i>	<i>Ilarvirus</i> : (CVV) , (CLR)V	<i>Ilarvirus</i> : (TSV) <i>Alfavirus</i> : (AMV) <i>Bromovirus</i> : (BMV) <i>Cucumovirus</i> :(CMV) <i>Oleavirus</i> : (OLV2)
<i>Bunyaviridae</i>	<i>Ophiovirus</i> : (CPsV)	<i>Tospovirus</i> : (TSWV) <i>Tenuivirus</i> : (RSV)
<i>Caulimoviridae</i>	<i>Badnavirus</i> : (CIMV)	<i>Badnavirus</i> : (ComYMV) <i>Caulimovirus</i> : (CaMV) PVCV-like (SBCMV-like viruses CsVMV-like viruses (CsVMV) RTBV-like viruses (RTBV)
<i>Clotroviridae</i>	<i>Clotrovirus</i> : (CTV)	<i>Clotrovirus</i> : (BYV) <i>Crinivirus</i> : (LIYV) <i>Capillovirus</i> : (ASGV)
<i>Luteoviridae</i>	<i>Luteovirus</i> :(CVEV)	<i>Luteovirus</i> : (BYD-PAV) <i>Polerovirus</i> : (PLRV) <i>Enamovirus</i> : (PEMV)

Légende: (TSV) : *Tabacco streak virus* , (CVV) : *Citrus infections variegation virus* , (CLR) : *Cherry leaf roll virus* , (AMV) : *Alfalfa mosaic virus* , (BMV) : *Brome mosaic*

virus, (CMV):Cucumber mosaic virus , (OLV2):Olive latent virus 2, (CPsV) : citrus psorosis virus, (TSWV):Tomato spotted wilt virus,(RSV):Rice stripe virus, (CIMV) : Citrus mosaic badnavirus,(ComYMV):Commelina yellow mottle virus, (CaMV): Cauliflower mosaic virus,(PVCV-like) :Petunia vein clearing virus, (SBCMV-like viruses):Soybean chlorotic mottle virus,(CsVMV):Cassava vein mosaic virus,(RTBV): Rice tungoro bacilliform virus, (CTV) : Citrus tristeza virus, (BYV):Beet yellows virus,(LIYV): Lettuce infectious yellows virus,(ASGV): Apple stem grooving virus,(CVEV) :Citrus veiné nation virus,(BYD-PAV):Barley yellow dwarf virus-PAV,(PLRV):Potato leafroll virus ,(PEMV): Pea enation mosaic virus.

2.2- Généralité sur le virus de la Tristeza

Le virus de la Tristeza appartient à l'ordre des *Nivirales*, famille des *Closteroviridae* et genre *Closterovirus* [44,46]. D'après Bar-Joseph *et al.* [47], la tristeza est la seule maladie de cette famille qui infecte les agrumes, cause la maladie le 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 [48,49].

2.3- Synonymes

Noms communs : *CTV* (acronyme), Citrus quick decline virus [50], Citrus seedling yellows virus [51], Grapefruit stem pitting virus [52], Lime die-back virus [53], Tristeza, seedling yellows, quick decline (anglais), Tristeza (espagnol, français), Podre dumbre de las raciallas (Argentine), < la Tristeza > (Tristesse) au Brésil, Graft incompatibility (Java et Afrique du Sud), Dépérissement du limettier (Ghana) et Bud union decline (Australie), la Dégénérescence infectieuse dans les pays de langue française [54].

La vaste répartition géographique de cette maladie explique la diversité des appellations sous lesquelles on la désigne; deux noms : Tristeza et Quick decline sont nettement prévalu sur les autres [42].

2.4-Historique

Le virus de la Tristeza est l'un des virus le plus redoutable sur agrumes dans le monde entier [54]. Le virus est originaire d'Asie et s'est propagé par l'homme dans la plupart des régions productrices d'agrumes [55].

Les épidémies dévastatrices ont eu lieu au début dans l'hémisphère occidentale, puis en Afrique, en Amérique du Sud dans les années 1920 [56,57] et en Amérique du nord par l'importation porte greffes d'agrumes en Floride dans les années 1950 et en Californie en 1939 [58,59].

En Thaïlande, ce virus a été signalé en 1973 par Knorr et ses collaborateurs. Le CTV a été signalé en Afrique du Sud en 1910 suite à un greffage de l'oranger doux sur bigaradier [60].

En 1954, la maladie a été découverte dans les régions agrumicoles de l'Afrique du Nord et dans le Bassin méditerranéen. Elle fut identifiée sur des variétés particulières comme le Citron Meyer [61].

Frezal l'identifiât pour la première fois en Algérie sur le Citronnier Meyer en 1957 [62], puis par Boyé et Blondel sur mandarinier, Satsuma greffé sur bigaradier en 1967, sur oranger et mandarinier (Bayoud 2001), (Kheddam 2009) et (Bouafia 2011) sur les différents variétés d'agrumes dans la région de Mitidja.

2.5-Répartition géographique

La Tristeza est largement répandue dans les zones tropicales productrices d'agrumes (Figure 2.1) [63]

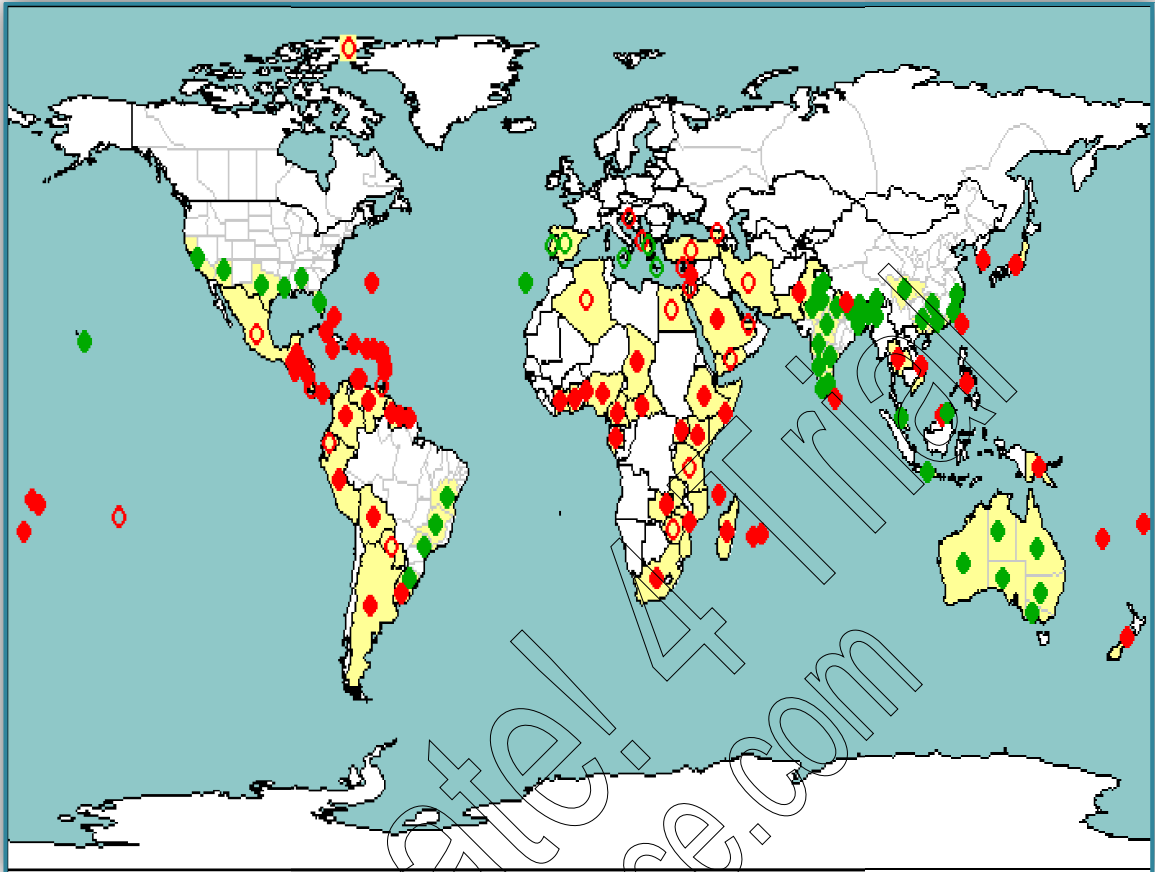


Figure 2.1: Répartition géographique à l'échelle internationale de la maladie de la Tristeza des agrumes [63].

2.6-Impact économique

La Tristeza est la maladie virale la plus destructrice des agrumes. Elle provoque la mort des arbres infectés de la plupart des cultivars d'agrumes (sauf ceux du citronnier) greffés sur bigaradier, porte-greffe extrêmement sensible qui a été très utilisé dans le passé à cause de ses excellentes qualités agronomiques. Des dizaines de millions d'arbres ont été détruits, notamment en Amérique du Nord et du Sud et dans certains pays Méditerranéens [65,64,3].

2.7-Etude de la particule virale

2.7.1- Propriétés de la particule virale

Le CTV est un virus à longues particules flexueuses de 2 000 nm de longueur et 12 nm de largeur. Le poids moléculaire de la protéine de la capsid est de 27 000 à 28000 Da. La particule contient un ARN monocaténaire d'environ $6,5 \times 10^6$ Da (Figure 2.2) [66,67].



Figure 2.2: Particules du CV (GX 80.000 [64].

2.7.2-Propriétés biochimique et moléculaire

La particule virale contient un ARN simple brin d'environ $6,5 \times 10^6$ Da [66], à sens positif, est formée de 193 nucléotides [68], avec deux protéines capsidiales : CP (Capsid proteins) couvrant 95% de la longueur de la particule avec un poids moléculaire de 27 000 à 28 000 Da et la protéine de la couche de divergence «d CP» (diverged coat proteins) présente à une seule extrémité de la particule formant une structure en serpent [69,70,71,72,73]. A la «d CP» la fonction de transmission par les aphides est toujours postulée [72].

Quatre modes de conservation en séquence (domaines I, II, III, IV) existent entre les deux protéines (Figure 2.3) [74]. L'acide nucléique du génome a été isolé par Bar-Joseph et *al*, [75].

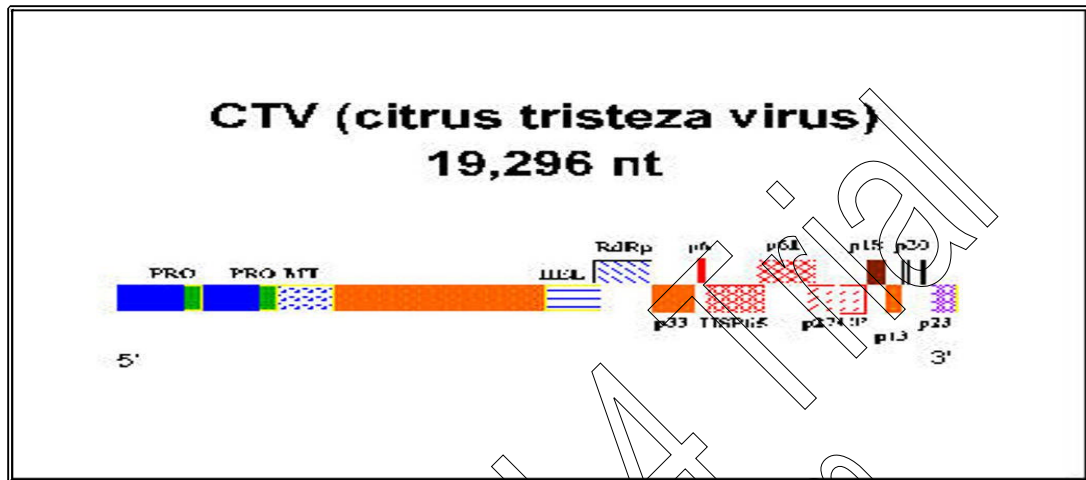


Figure 2.3 : Génome du CTV [72].

2.7.3-Organisation génomique du CTV

Le séquençage du virus a été réalisé par Karasev *et al* [68] en étudiant l'isolat T36 de Floride. Ainsi, trois blocs de gènes sont identifiés chez le CTV [76].

Son génome est organisé en 12 cadres ouverts de lecture (Open Reading Frame) (ORF) codant pour la production de 17 protéines ; le bloc 5' est appelé ORF1a (ORF de début) situé au nucléotide 108 et comportant plusieurs polyprotéines du 5' au 3' dont 2 papain like protéase (P-Pro), Methyltransferase (MT), l'hélicase (HEL), L'ORF1b d'arrêt est formé de 57 KDa de ARN putatif-ARN 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) [68, 77, 78,79].

Le deuxième bloc contient 5 ORFs ; 3-7 conservant le CTV parmi les *Closterovirus*, et renfermant les gènes du CTV homologue de gènes HSP70 protéines (heat-shock protein), et la duplication des gènes de la protéine capsidiale [68].

Le bloc 3 contient les ORF (8-11) terminaux codant pour une ARN- protéine agglomérante (attachante) ORF 11 et 3 protéines à fonction indéterminée [68].

2.8-Symptômes causes par le CTV

2.8.1-Symptômes macroscopique

Les dégâts provoqués par le CTV sont étroitement liés à l'incompatibilité de greffage avec le porte-greffe et à l'utilisation du bigaradier comme porte-greffe (*C.aurantium*) [48].

Les symptômes induits sur arbres greffés sur bigaradier sont la dégénérescence et la nécrose des tubes criblés au niveau de la ligne de greffe, Cela se traduit par une hypertrophie des cellules parenchymateuses (changement de couleur des nervures des feuilles du vert au blanc) (Figure 2.4) et l'arrêt de passage de la sève élaborée provoquant ainsi la mort de l'arbre par dépérissement du système racinaire (Figure 2.5) [80].



Figure 2.4: Sur limettier des symptômes sur feuilles caractérisée par le jaunissement des nervures.



Figure 2.5: Symptômes de dépérissement [79]

Les symptômes externes de la maladie se traduisent par un flétrissement puis un dessèchement plus ou moins rapide de la frondaison en élevant un morceau d'écorce au niveau de la ligne de greffe il est observé de très fines aiguilles de bois sur la partie bigaradier (Figure 2.6).



Figure 2.6 : striures du bois sur tronc [79].

Le virus du CTV peut aussi provoquer des striures du bois, des rabougrissements et une diminution des rendements chez des espèces sensibles (surtout lime, pomélo et certains orangiers) même si elles sont greffées sur des porte-greffes tolérants (Figure 2.7) [81].



Figure 2.7 : striures du bois sur lime mexicaine [79].

Les fruits des arbres affectés (arbres dépérissants greffés sur bigaradier ou arbres avec des striures sévères du bois) sont souvent petits et de mauvaise qualité (Figure 2.8).



Figure 2.8 : Dégâts sur fruits [79]

2.8.2-Symptômes microscopiques

Le CTV est un virus du phloème, les particules virales se localisent dans le phloème de la plante hôte. Les modifications induites par le CTV sont observées dans le phloème, où il s'accumule en très larges agrégats dans le cytoplasme, lieu de sa réplication [82,83,84]. On peut l'observer aussi dans le réticulum endoplasmique ou au niveau des mitochondries [85].

Le virus et les inclusions se localisent dans le cytoplasme des cellules infectées et sont sous forme d'inclusions cristallines [86,87]. Les températures optimales pour l'infection par le virus et pour sa réplication sont de 20 à 25 °C.

PDF Create! 4
www.nuance.com

CHAPITRE 3

VOIES DE TRANSMISSION

La transmission du CTV se fait de façon indirecte et à longue distance, il est systémique dans la plante et s'y réplique et persiste dans le matériel propagé par voie végétative (greffage). La propagation locale du virus est effectuée par les vecteurs naturels [48,91].

3.1- Vecteurs du CTV

Au niveau du verger, le virus est transmis selon le mode semi-persistant par plusieurs espèces de pucerons [92, 93, 48,94] *Toxoptera citricida* (Puceron brun des citrus), *Aphis gossypii* (Puceron du Cotonnier), *Aphis spiraecola* (Puceron vert des citrus), *Toxoptera aurantii* (Puceron noir des citrus) (Figure 3.1) et *Myzus persicae* (sulzer).

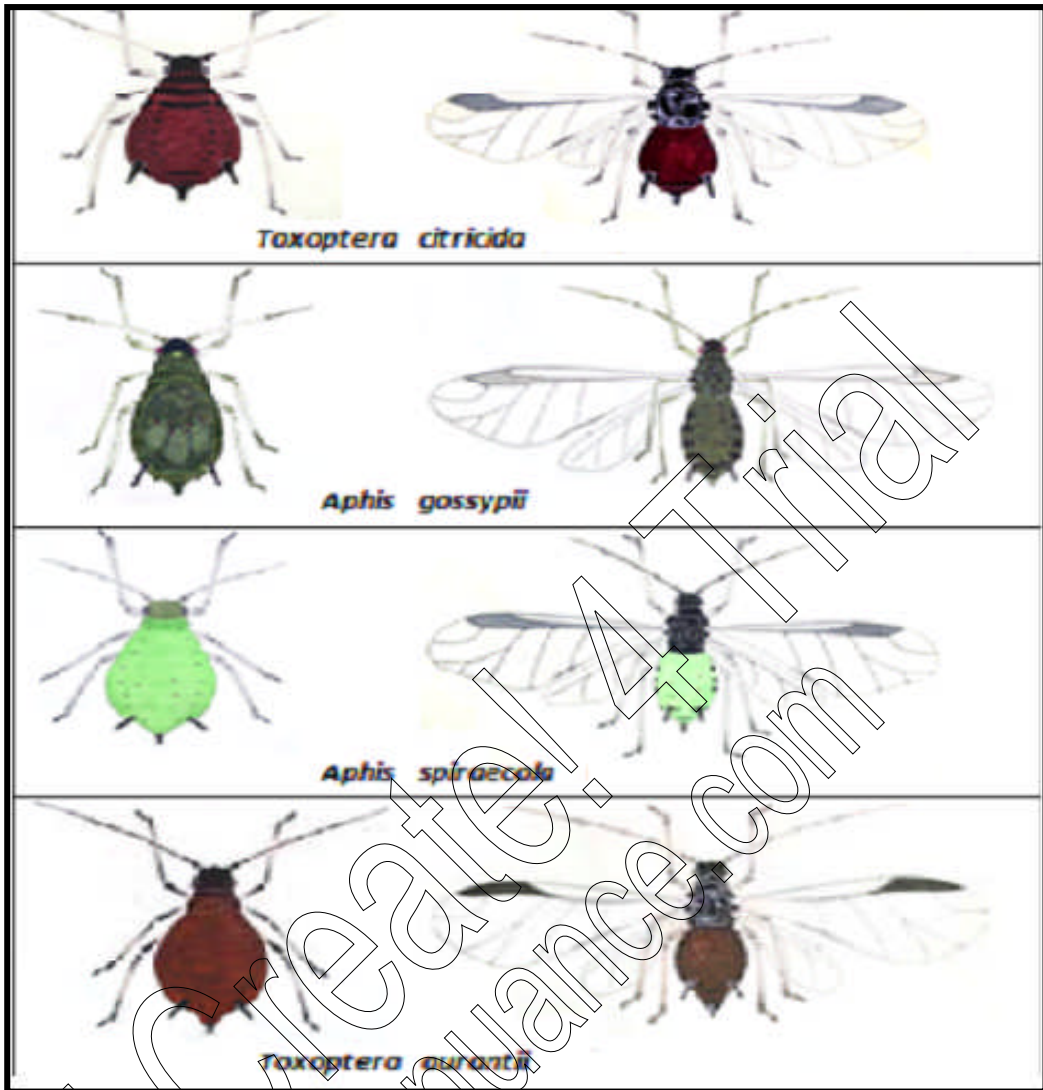


Figure 3.1 : les différents vecteurs du CTV [13].

3.1.1-Toxoptéra citricida

Dans le passé, *T. citricida* a souvent été confondu avec *T. aurantii* (Boyer de Fonscolombe), le puceron noir des agrumes, 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 (Figure 3.2) [95].



Figure 3.2 : *Toxoptera citricida* [13].

Synonymes:

- *Aphis tavaresi* Del Guercio.
- *Toxoptera citricida* [96].
- *Aphis citricidus* [96].
- *Aphis aeglis* Shinji.
- *Paratoxoptera argentiniensis* Blanchard.

Actuellement il est reconnu sous le nom de *Toxoptera citricida* (Pucerons oriental des citrus) ou le puceron marron des citrus ; *Brown citrus aphid* (BrCA), homoptère de la famille des *Aphididae* [95].

3.1.1.1-Répartition géographique

Le puceron *T. citricida* se rencontre principalement dans les régions tropicales humides et est sans doute originaire du sud-est asiatique; il s'est disséminé ensuite sur les agrumes dans d'autres régions tropicales [97,98] et également dans des régions à climat méditerranéen (Figure 3.3) [95].

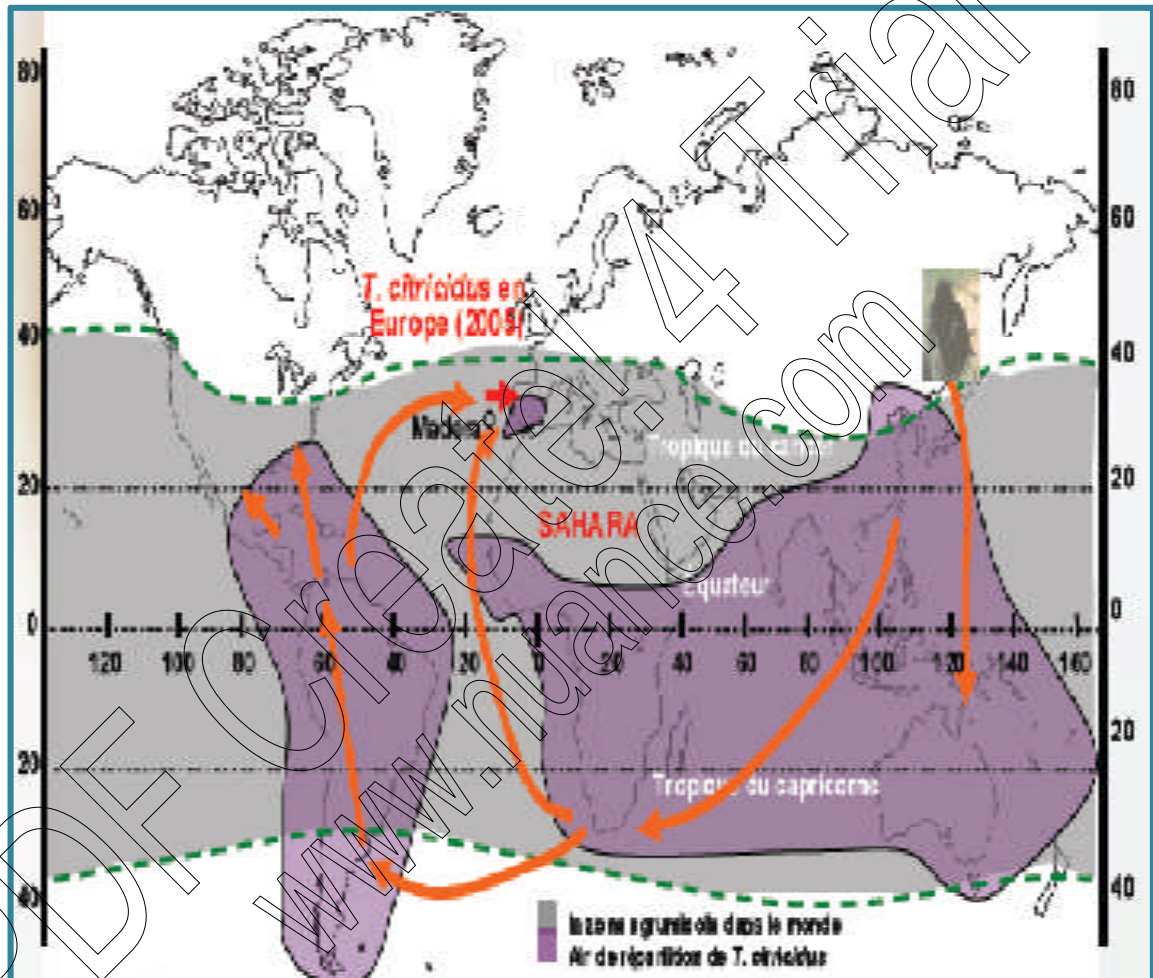


Figure 3.3: Aire de répartition et mouvement de *Toxoptera citricida* dans le monde [12].

3.1.1.2-Biologie

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. Au Zimbabwe, des générations de 8-21 jours (11,8 en moyenne) sont signalées. Ainsi, plus de 30 générations peuvent se développer en un an, suivant les températures. Les femelles ailées donnent naissance à des nouvelles infestations [95].

La fréquence de vol est en corrélation avec les précipitations, il y a généralement 2 maximums pour les vols journaliers, entre 0900 et 1100 heures et entre 1700 heures et le crépuscule (au Suriname). A Taiwan, on observe des pics de populations saisonnières, en avril et un plus petit en octobre. De fortes infestations s'observent à la suite de fortes pluies d'été, peut-être à cause de plus grandes quantités de pousses tendres à la disposition de ces pucerons pour l'hiver. Au Japon, on observe 3 pics de population, mai, juin et septembre. Les infestations sont plus fortes au printemps [95].

3.1.1.3-Morphologie

L'adulte est vigoureux, de taille moyenne, 1,5-2,4 mm de longueur, luisant, marron rougeâtre à noir. Les individus ailés peuvent être identifiés, avec une loupe, par leur 3ème segment antennaire totalement noir suivi d'un 4ème 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 (Figure 3.4), la partie caudale est arrondie en forme de bulbe à son extrémité. Les individus aptères doivent être examinés au microscope pour que les très longs poils fins et droits sur les pattes et sur les côtés du corps soient visibles. Les siphoncules sont similaires à ceux des individus ailés mais plus courts. La partie caudale est épaisse et brutalement arrondie à son extrémité [95].



Figure 3.4 : *Toxoptera citricida* (individuus ailés) [13]

Pour distinguer *T. citricida* de *T. aurantii*, il est utile de savoir qu'une colonie de ces derniers produit un grincement très distinct, perceptible jusqu'à 45 cm de la feuille, alors que les colonies de *T. citricida* ne le font pas. De plus, des spécimens de *T. citricida* plongés dans de l'alcool le teignent en rouge, alors que les autres espèces de *Toxoptera* ne le font pas (Figure 3.5) [95].



Figure 3.5 : *Toxoptera citricida* (puceron colonisateur des agrumes) [13]

3.1.1.4-Impact économique

Le puceron brun des agrumes, *T. citricida* (Kirkaldy), est l'un des ravageurs les plus dévastateurs des agrumes [46], causant des pertes considérables aux cultures dans le monde entier, en attaquant les pousses et les fleurs et parfois les jeunes fruits. Même un petit nombre de pucerons sur une jeune pousse peuvent arrêter le développement des bourgeons floraux et provoquer leur chute [99].

Après la chute des pétales, cependant, les pousses durcissent et il y a moins de dégâts, même avec des niveaux de population relativement élevés. Les branches peuvent se déformer et les feuilles se recroqueviller. De la fumagine s'accumule sur le miellat de ces pucerons, ce qui interfère avec les fonctions de la feuille et forme des dépôts sur les fruits, qui diminuent leur valeur commerciale.

Cependant, il pose une menace encore plus grande pour les agrumes en raison de sa transmission efficace du CTV [100, 67,46].

3.1.2-Puceron vert: *Aphis spiraecola* Patch

Cette espèce est très répandue en région méditerranéenne et très fréquente sur les agrumes. L'espèce est polyphage. En Amérique, d'où l'espèce est probablement originaire, les agrumes constituent un de leurs hôtes secondaires. Contrairement à d'autres pucerons agrumicoles, le puceron vert est actif depuis le printemps jusqu'en automne, sans interruption estivale. Il est présent ainsi à chaque période de végétation, au printemps et à l'automne. Il hivérne à l'état de femelles parthénogénétiques sur les pousses [97,101].

3.1.2.1-Description

Ceux sont des insectes 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 (Figure 3.6&3.7).



Figure 3.6 : Puceron vert [97].



Figure 3.7 : Dégât sur les feuilles [97].

3.1.2.2-Biologie

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 et sont observées particulièrement pendant les périodes plus chaudes de l'année et leurs pullulations sont moins importantes.

3.1.3- Puceron noir : *Toxoptera aurantii*

C'est une espèce cosmopolite présente en région agrumicole. Dans les zones tropicales, l'espèce est polyphage. Sous climat méditerranéen, elle est quasi monophage, n'attaquant guère que les agrumes. Les dommages se manifestent par l'enroulement et le gaufrage des feuilles qui restent petites et déformées; un avortement des fleurs est également observé. Les pucerons sécrètent un abondant miellat qui attire de nombreuses fourmis et entraîne la formation de la *fumagine*. Les jeunes plantations surtout peuvent subir des dégâts considérables car ces attaques provoquent un ralentissement dans la croissance des jeunes rameaux et très souvent le dessèchement des jeunes brindilles (Figure 3.8) [92].



Figure 3.8 : Dégât sur feuille [92]

3.1.3.1-Description

Le puceron *T. aurantii* a un corps de couleur foncée ce qui le distingue des autres espèces de pucerons *citricoles*. 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 environ (Figure 3.9).

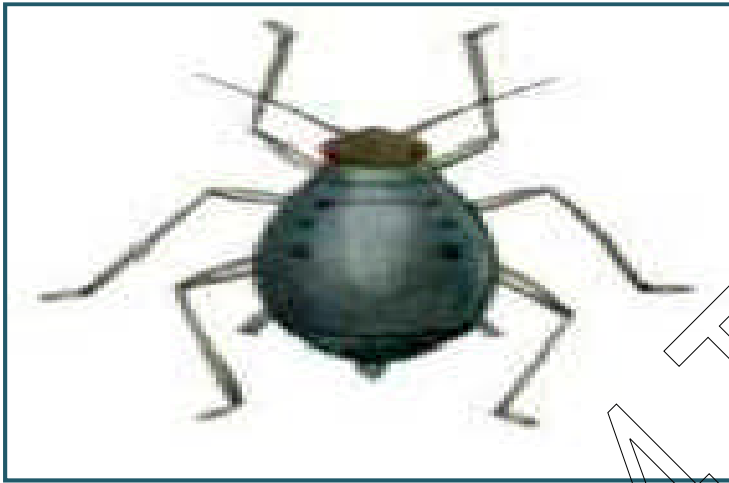


Figure 3.9 : Puceron noir [92]

3.1.3.2-Biologie

Toxoptera aurantii évolue en plusieurs générations qui se chevauchent au cours de l'année. Il 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

3.1.4-Puceron du citronnier : *Aphis gossypii* Glover

Le puceron commun du melon et du citronnier est le plus commun dans les zones où le *BrCA* n'est pas présent (Figure 3.10) [102 ,103].



Figure 3.10: Dégât sur les jeunes rameaux [103].

3.1.4.1-Description

La femelle aptère mesure entre 1,2 à 2,2 mm de long et l'ailée 1,8 à 2,7. Les antennes sont de couleur jaune pâle. Les cornicules sont très foncées et la cauda plus pâle.

3.1.4.2-BIOLOGIE

L'espèce est très polyphage, montrant une prédilection pour les Cucurbitacées et les Malvacées (Cotonnier, Mauve, Hibiscus). Ce puceron fréquente également les agrumes [104]. Sur cultures légumières, ses ravages s'exercent notamment sur la courgette, le Melon, le Concombre, l'Aubergine et le Fraisier [97, 105]. 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 [105].

3.1.5-Myzus persicae (sulzer)

Ce puceron est particulièrement dangereux comme vecteur de virus (jaunisse modérée de la Betterave (*BMVY*) 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'ailée 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 [106].

3.2 - Transmission semi-persistante

La transmission par vecteur comprend plusieurs phases. La phase d'acquisition correspond au laps de temps nécessaire à l'acquisition du virus par l'insecte à partir d'une plante infectée, la phase de rétention est le laps de temps pendant lequel le virus établit une interaction spécifique avec le vecteur et enfin la phase d'inoculation qui correspond au temps nécessaire au vecteur pour transmettre le virus à une plante saine. Il existe de véritables interactions entre le virus et le puceron, que ce soit au niveau de la fixation du virus sur les stylets que pendant le transit du virus dans le puceron. Lors de la fixation du virus sur les stylets du puceron, c'est la capsid du virus qui interagit avec la surface des stylets, grâce à des séquences d'acides aminés spécifiques [107].

Les virus semi-persistants ont une durée de rétention longue (quelques heures). Pour que le virus se propage, le repas d'acquisition et le repas d'inoculation doivent être longs (quelques heures).

Le virus de la Tristeza est transmis par plusieurs espèces de pucerons selon le mode semi-persistant. Les pucerons peuvent acquérir le virus après une tétée environ de 10 minutes sur des plantes infectées, mais un temps d'alimentation plus long (jusqu'à 24 heures) permet d'accroître l'efficacité de la transmission du CTV. Les pucerons ainsi virulifères sont capables de transmettre le virus du CTV pendant 24 heures après avoir quitté une plante infectée.

Le puceron marron des citrus (*BrCA*) ou le puceron tropical est le vecteur le plus efficace de la transmission de la maladie dans le monde entier [108] et surtout il transmet les souches virulentes et sévères du *CTV* [109,110] et est également un vecteur important, notamment en Californie et en Floride [101,111], en Afrique de sud [58], en Tunisie [98] et en Turquie [112]. Toutefois, le niveau de transmission du puceron est faible au Japon [113].

Des études effectuées ont montré que le *BrCA* était capable de transmettre le *CTV* 25 fois mieux qu'*A. gossypii*, *A. spiraeicola* et *T. aurantii* reconnus comme vecteurs du *CTV* mais moins efficaces que *T. citricida* [114].

3.3 - Gamme d'hôtes

Le virus du *CTV* infecte toutes les espèces «cultivars et hybrides» des agrumes. Il infecte aussi d'autres genres de la famille des Rutacées tels qu'*Aeglopsis chevalieri*, *Paniculata afaegle*, *Australis microcitrus*, *Missionis pamburus*, *Gilletiana citropsis*, *Fortunella*, *Australis microcitrus*, *Marmelos aegle* et quelques hybrides inter-génériques. Certaines espèces de *Passiflora* ont été infectées expérimentalement (mais pas de façon naturelle) et sont les seules plantes hôtes expérimentales n'appartenant pas aux *Rutaceae* [113, 114,115].

CHAPITRE 4

MATERIELS ET METHODES

4.1- Identification du CTV

4.1.1- Source d'inoculum

Le virus du CTV a été extrait à partir d'échantillons collectés sur vergers d'agrumes durant la campagne 2010-2011 dans des régions agrumicoles de la Mitidja.

4.1.2- Sites prospectés

Les prospections sur terrain ont été effectuées dans des 6 sites de la wilaya de Blida et un site dans la wilaya de Tipaza.

Les prospections ont été effectuées sur les agrumes durant la campagne agricole 2010-2011 où plusieurs prélèvements ont été réalisés.

4.1.2.1- Exploitation 1

La superficie du verger d'agrumes est de 0,25 ha comportant des arbres d'orangers variété Thomson (119 plants), plantés en ligne de manière alternée, greffés sur bigaradier âgés de 9 ans, l'irrigation est basée uniquement sur les eaux de pluie et aucun traitement n'est réalisé.

4.1.2.2- Exploitation 2

Le verger est localisé à la sortie de la Chiffa, et est constitué de 4 hectares d'orangers variété Thomson et Portugaise et 5 hectares de *Washington navel*. La majorité des arbres est âgée et est greffée sur bigaradier.

4.1.2.3- Exploitation 3

C'est une plantation présentant une diversité arboricole intéressante d'une superficie totale de 11 ha divisés en 5 ha d'abricotiers et 6 ha d'agrumes et 1200 plants d'oliviers utilisés comme brise vent.

Les plants d'agrumes sont composés de la variété Thomson et *Washington navel*. Ceux sont de jeunes arbres âgés de 7 ans et greffés sur bigaradier.

4.1.2.4- Exploitation 4

Le site est situé dans la région de Boufarik et est composé par les variétés suivantes : 3 ha de Pampléoussier, 5 ha de Tarocco, 1 ha de Satsuma, 3 ha de Salustiana et 7 ha *Washington navel*. Ces plantations datent de 1988.

4.1.2.5-Exploitation 5

Ce verger est d'une superficie de 5 ha et est composé de mandariniers avec quelques plants de citronniers et d'orangiers variété Thomson greffée sur bigaradier. Cette plantation date de la période coloniale.

4.1.2.6- Exploitation 6

Ce verger est d'une superficie de 7 ha composé uniquement de variétés de clémentinier greffée sur bigaradier. Cette plantation a été créée en période coloniale.

4.1.2.7- Exploitation 7

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 dont 5,45 ha clémentiniers (1500 plants), 5,45ha de citronniers (1500 plants), 1.80 ha de double fine (416 plants), 7 ha de Valencia late (2136 plants) et 2,3 ha *Washington navel* (634 plants).

4.1.3- Méthode d'identification

4.1.3.1- Le diagnostic visuel

Le prélèvement des échantillons (fleurs fermé et ou ouverte et feuilles) a été fait pendant la phase de la montée de la sève (mars, avril et mai 2011) car le CTV est un virus du phloème (*Closterovirus*).

Méthode d'échantillonnage : protocole de monitoring

Dans le plan d'échantillonnage hiérarchique adopté par Gottwald et Hughes, [118] 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 (Figure 4.1).

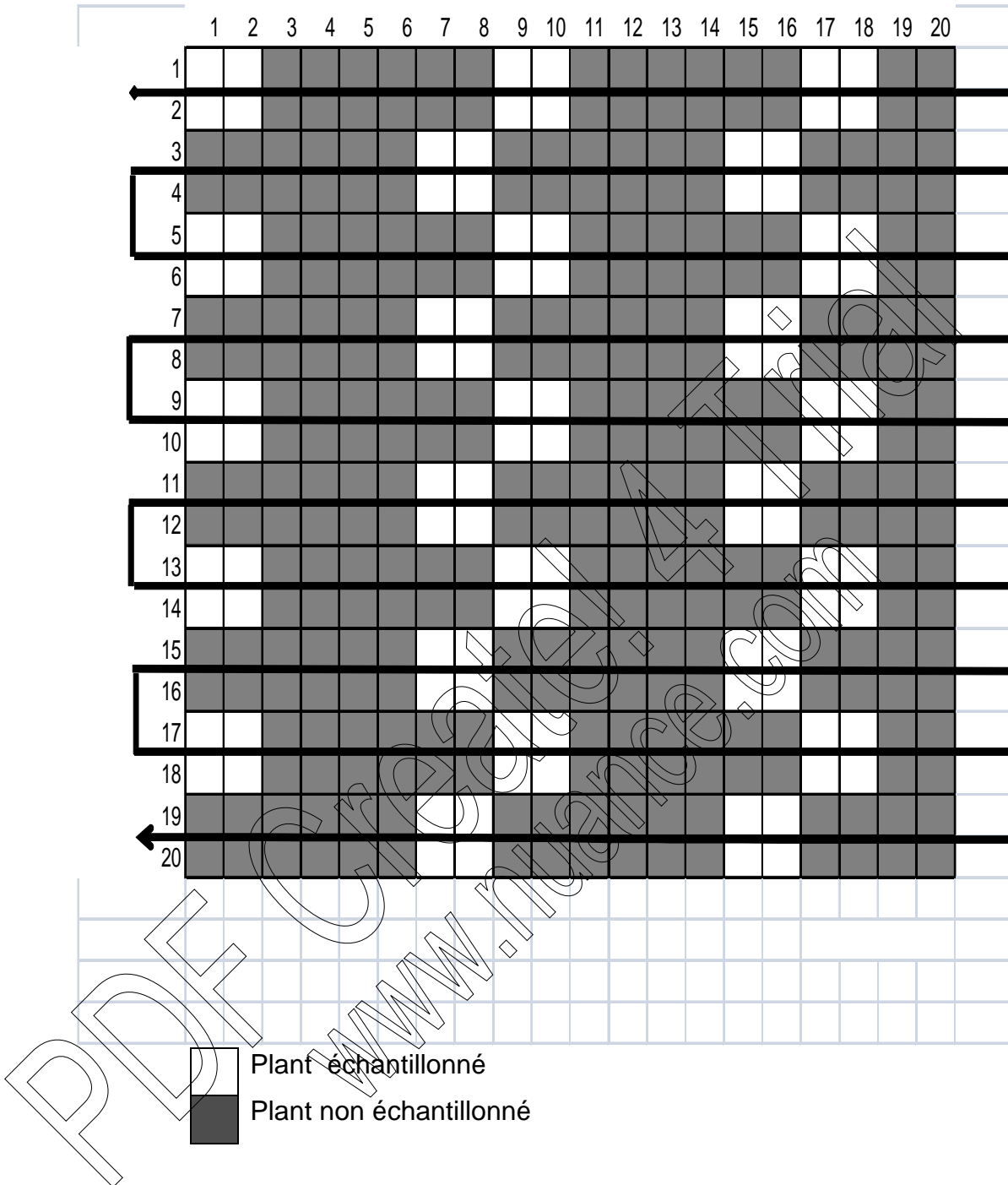


Figure 4.1 : Echantillonnage hiérarchique (monitoring) [118].

4.1.3.2- Conservation des échantillons

Sur terrain, les fleurs et les feuilles prélevées sont mises dans des sacs en plastique numérotés, les fleurs sont mises au froid à 4°C pour la conservation et les feuilles sont conservées au congélateur.

4.1.4- Identification par sérologie

4.1.4.1- Direct Tissue Blot ImmunoAssay (DTBIA)

Le format Immunoprinting est une méthode alternative de diagnostic et un protocole type pour l'échantillonnage (protocole de monitoring), elle est récemment introduite au laboratoire et est appliquée selon le protocole établi par Garnsey et *al.* [119]. Cette technique peut s'avérer utile dans le cadre de la certification, notamment en pépinière [120].

Le protocole de DTBIA utilisé est celui mis au point par D'Onghaia et *al.* [121], Djelouah et *al.*, [122] et Djelouah et *al.*, [120] pour la détection du CPsV et CTV; en revanche, pour la détection du CVV.

La présente technique, a été appliquée en utilisant un anticorps monoclonal produit par Agritest, Italie contre le CPsV et celui produit par Plant print en Espagne contre le CTV.

Mode opératoire

- 1- Les empreintes ont été réalisées en utilisant une coupe des ovaires des fleurs fraîches ou conservées sur les membranes de nitrocellulose, qui est laissée à sécher à température ambiante pendant quelques heures à quelques jours (Figure 4.2) [123]

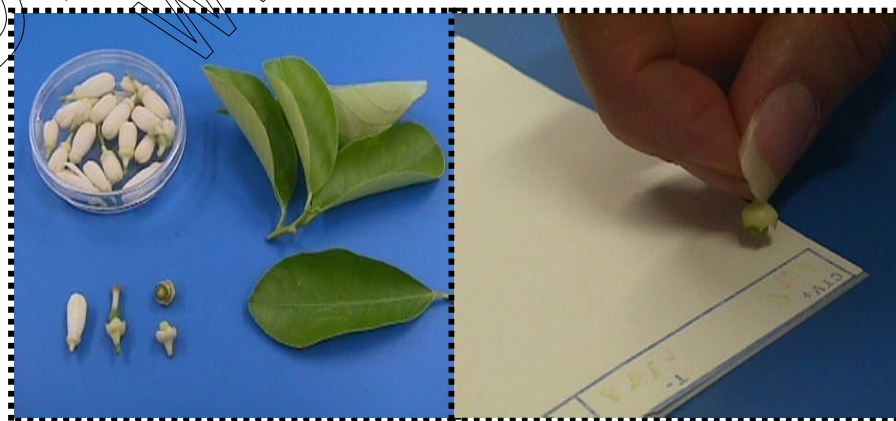


Figure 4.2: Empreintes d'une coupe des ovaires des fleurs sur les membranes de nitrocellulose.

- 2- 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 (Figure 4.3).

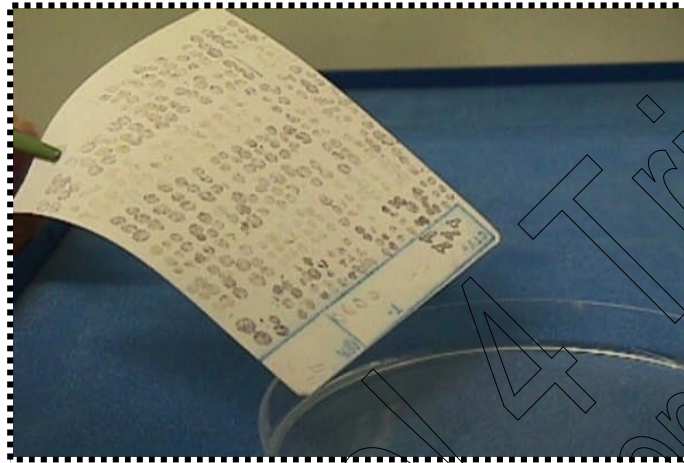


Figure 4.3 : Blocage de la membrane dans une solution de BSA.

- 3- 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 (Figure 4.4).



Figure 4.4 : Membrane avec le conjugué.

4- 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 p-toluidine salt- nitro-blue tetrazolium chloride) dans 10 ml d'eau distillée ; puis laissée à incubée (5 à 10 min), puis la réaction est bloquée en rinçant la membrane à l'eau du robinet (Figure 4.5)

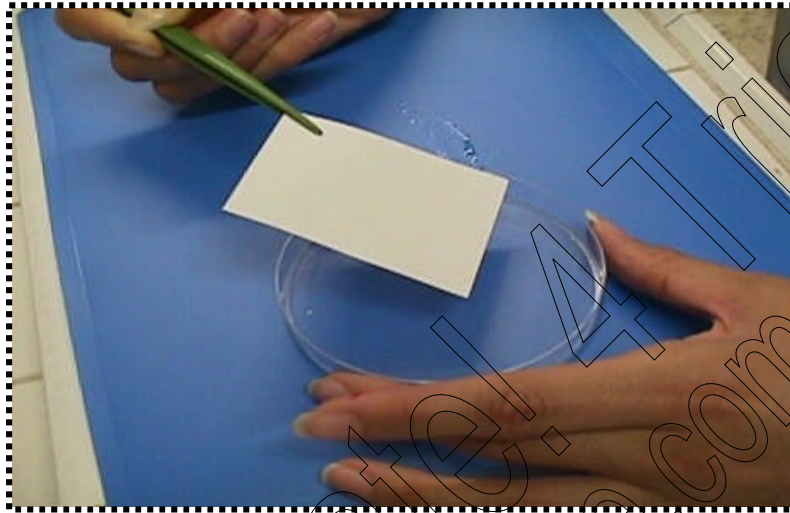


Figure 4.5: Révélation

5- 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 (Figure 4.6).



Figure 4.6: 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.

4.1.4.2- Test sérologique ELISA

4.1.4.2.1- Les solutions tampon

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

4.1.4.2.2- Préparation des échantillons

Les feuilles conservées sont broyées à l'aide de mortiers dans un tampon phosphate (PBS-T). 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.

4.1.4.2.3- 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) [93, 90,123]. 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 [61].

4.1.4.2.4- 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.

4.1.4.2.5- 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) (Figure 6.7)

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 (Figure 6.7).

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 (Figure 6.7).

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 (Figure 6.7).

4.1.4.2.6- 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 d'échantillon positif \geq (témoin négatif 1+témoin négatif 2+témoin négatif 3) /3) + (écart type1+ écart type2+écart type3).

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

PDF Create! 4
www.nuance.com

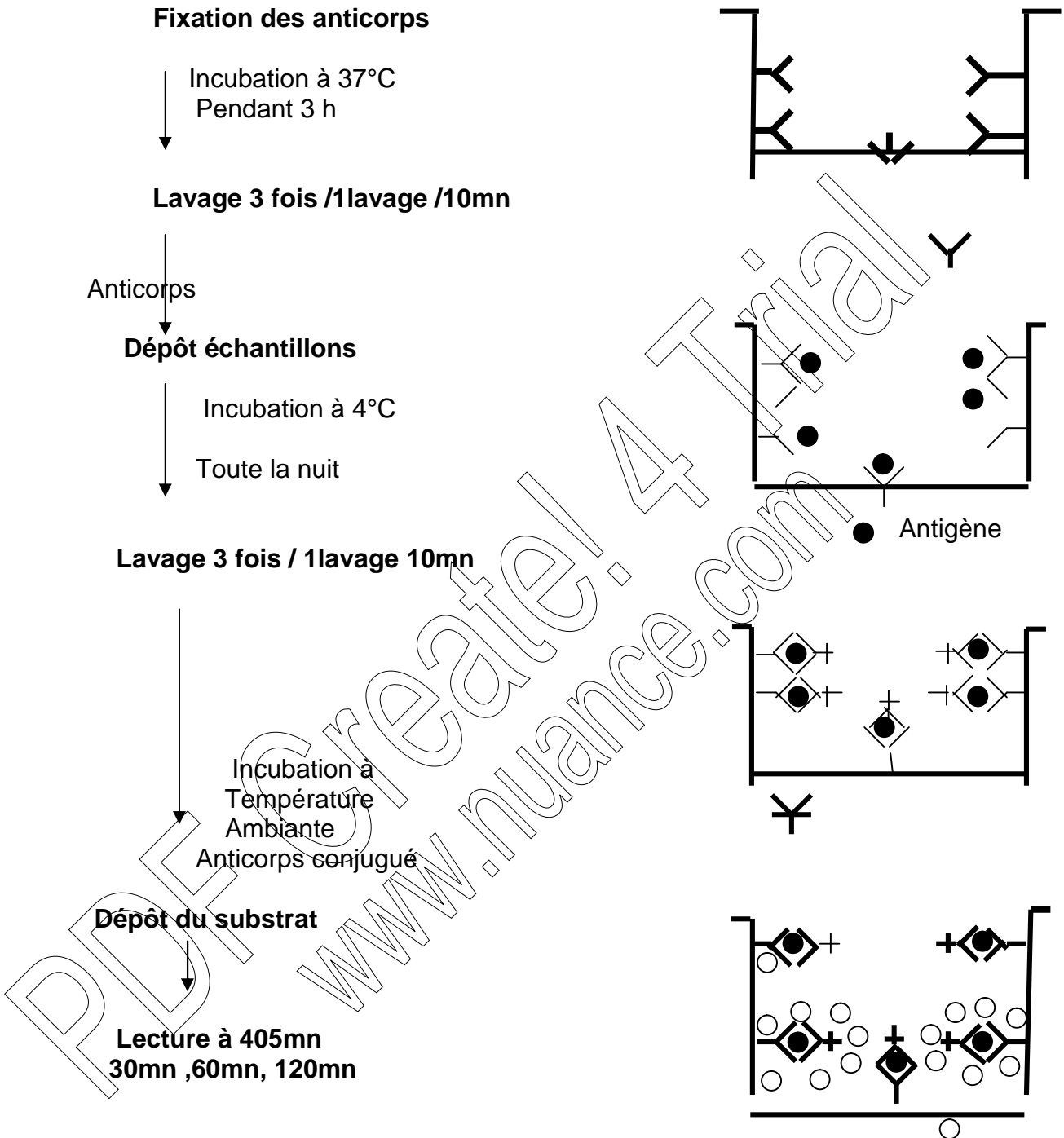


Figure 4.7 : Principe du test - ELISA [61 ,124].

4.1.4.2-7 : Taux d'infection

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

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

4.2- Détection biologique et efficacité de la transmission

4.2.1- Collecte les pucerons

A chaque station visitée, des pucerons aptères ont été prélevés et mis dans des boîtes de Pétri humectées puis disposés sur une plante herbacée saine (pois) pour une période d'inoculation.

4.2.2- Identification des pucerons

A chaque prélèvement les individus des pucerons sont mis dans des tubes à essai contenant 30% d'eau distillée et 70% d'éthanol. L'identification des pucerons a été faite au laboratoire de zoologie de l'Ecole nationale Supérieure d'agronomie El-Harrach.

4.2.3- Taux d'infestation

Le calcul du taux d'infestation ou le pourcentage de présence de chaque espèce des populations aphidienne, identifiées dans chaque exploitation, est fait selon la formule suivante:

$$\text{Taux d'infestation} = \frac{\text{Nombre d'une espèce de puceron par feuille}}{\text{Nombre des deux espèces de pucerons par feuille}} \times 100$$

4.2.4- Transmission par pucerons

4.2.4.1-Gamme d'hôtes

Les semences de pois ont été semées à raison de 3 graines par alvéole contenant de la tourbe. Pendant notre essai l'entretien des plantules a été fait par des arrosages réguliers et des traitements aphicides (Pirimor). Les plantules sont maintenues en serre à une température de 25°C

4.2.4.2 : Méthode d'inoculation

Les pucerons collectés sont mis au contact des plants de pois au stade 2 feuilles à l'aide d'un pinceau humide à raison de 6 individus de pucerons par plantule. Ainsi pour chaque espèce et station l'expérience a été répétée 10 fois, après 5 min d'inoculation, les pucerons sont été éliminés mécaniquement.

La lecture des résultats est réalisée après 15 jours d'inoculation lorsque les symptômes apparaissent.

CHAPITRE 5

RESULTATS ET DISCUSSION

5.1- Diagnostic symptomatologique du CTV

Les symptômes de type CTV ont été observés dans la totalité des stations visitées. En effet ces symptômes peuvent varier d'intensité, de type mais aussi dans la dispersion selon les sites. Les symptômes les plus fréquents observés sur tous les vergers prospectés étaient

- ✓ Enroulement des feuilles, typique d'attaque aphidienne (Figure 5.1)
- ✓ Jaunissement des feuilles (Figure 5.2)
- ✓ Forme en cuillère des feuilles (Figure 5.3)
- ✓ Dessèchement des branches (Figure 5.4)
- ✓ Dessèchement total de l'arbre (Figure 5.5)

**A****B**

Figure 5.1: Enroulement des jeunes pousses **A** : observé sur la double fine de l'exploitation 7 ; **B** : observé sur Thomson de l'exploitation 1.



Figure 5.2 : Jaunissement des feuilles sur Double fine observé à l'exploitation 7

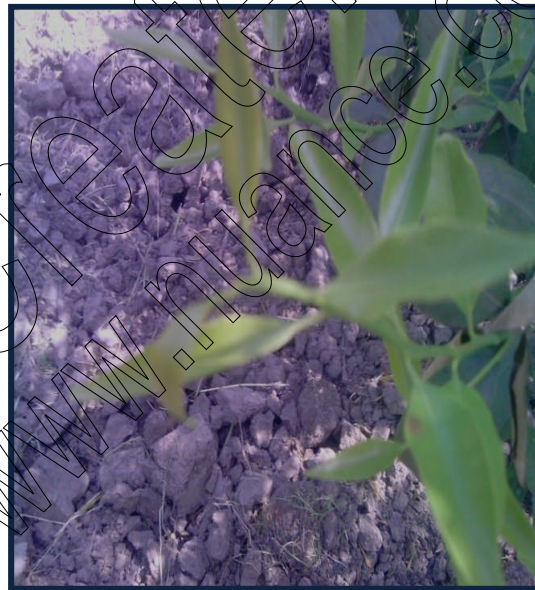
**A****B****C**

Figure 5.3 : Feuilles en cuillère **A** et **B** : observé sur la mandarine de l'exploitation 5 ; **C** : observé sur double fine de l'exploitation 7.



Figure 5.4 : Dessèchement des branches sur Mandarin observé à l'exploitation 5



Figure 5.5: Dessèchement total de Mandarin observé à l'exploitation 5

5.2-Discussion

Les résultats de diagnostic symptomatologique montre la présence des symptômes de forme en cuillère des feuilles et dépérissement total de l'arbre sur la variété Mandarine de l'exploitation 5 et sur la variété Satsuma de l'exploitation 4 et Thomson de l'exploitation 2.

La sévérité des symptômes observés peut varier selon deux facteurs : la densité de la population de pucerons présente et du climat. En effet plus le nombre d'individus potentiellement vecteurs du CTV, est élevé plus le virus se propage, causant ainsi d'important dommages liés à la fois à la présence du virus mais aussi aux ravages causés par les pucerons tel que l'enroulement. Le climat demeure un facteur majeur dans la dissémination de la Tristéza : les températures favorables et les précipitations irrégulières favorisent la pullulation des pucerons ainsi que la propagation du virus.

5.3-Inventaire des populations aphidiennes

Les pucerons vecteurs du CTV *T. aurantii* et *A. citricola* (*A. spiraecola*) ont été observés durant les prospections sur les différents vergers, mais avec un pourcentage de présence différent d'un verger à un autre (Figure 5.6).



Figure 5.6: Espèces aphidiennes rencontrées dans les sites prospectés
A : *Toxoptera aurantii* ; **B** : *Aphis citricola*

5.3.1- Exploitation 1

La situation de ce verger a été caractérisée par la prédominance de l'enroulement des feuilles résultat de la présence massive des populations aphidiennes. Sur 108 échantillons de feuilles collectés, durant la campagne 2010-2011 *A. citricola* (84%) est plus fréquent que *T. aurantii* (60%).

5.3.2- Exploitation 2

La présence d'*A. citricola* et *T. aurantii* est massive, les taux d'infestation obtenu respectivement des 2 espèces aphidiennes étaient 70% *A. citricola*, 42% *T. aurantii*

5.3.3- Exploitation 3

Cette exploitation s'est avérée peu intéressante car le seul symptôme observé est l'enroulement des feuilles, résultat de l'infestation par une seule espèce de puceron *A. citricola*.

5.3.4- Exploitation 4

Au niveau de cette station, les prospections effectuées ont permis de constater une forte pullulation des pucerons à savoir *A. citricola* (60%) suivie de *T. aurantii* (40%).

5.3.5- Exploitation 5

Les populations aphidiennes dominantes sont *A. citricola* (87%) suivie de *T. aurantii* (50%)

5.3.6- Exploitation 6

Durant nos prospections, les populations aphidiennes dominantes étaient *A. citricola* (82%) suivi de *T. aurantii* (70%)

5.3.7- Exploitation 7

Cette exploitation est bien entretenue à l'inverse des exploitations précédemment décrites, en effet le taux d'infestation des 2 espèces aphidiennes était 50% *A. citricola*, 42% *T. aurantii*.

5.4-Discussion

Les résultats de l'identification montrent l'existence de 2 espèces vectrices: *T. aurantii* et *A. citricola* et l'absence du vecteur principal *T. citricida*. Les observations effectuées, nous ont permis de constater une variabilité de la distribution des espèces vectrices du CTV. Le puceron *A. citricola* est plus fréquent que *T. aurantii*. Selon Lee et Bar-Joseph [94] le puceron vert peut être considéré comme un vecteur significatif du CTV quand sa population atteint des taux très élevés.

5.5- Résultats de la serodétection de la Tristeza

5.5.1- Résultats de DAS-ELISA

La totalité des échantillons collectés est de 1130 sur les 7 sites prospectés, sur 400 échantillons analysés par la technique DAS-ELISA Clark et Adams [77], seulement 97 échantillons se sont révélés positifs avec un taux d'infection de 24,25%.

5.5.1.1- Exploitation 1

Le test de DAS-ELISA a été réalisé sur 16 échantillons collectés, 1 seul échantillon s'est révélé positif, et le taux d'infection est de 6,25%.

5.5.1.2- Exploitation 2

Cette exploitation a présenté un taux d'infection de 46,66%, sur 15 échantillons testés, 7 ont répondu positif au test DAS-ELISA.

5.5.1.3- Exploitation 3

Cette exploitation a présenté un taux d'infection de 2,94%, sur 34 échantillons testés, 1 seul échantillon a répondu positivement au test DAS-ELISA.

5.5.1.4- Exploitation 4

Sur 128 échantillons testés par DAS-ELISA uniquement 46 d'entre eux se sont révélés positifs au CTV avec un taux d'infection de 35,93% (Figure 5.7).

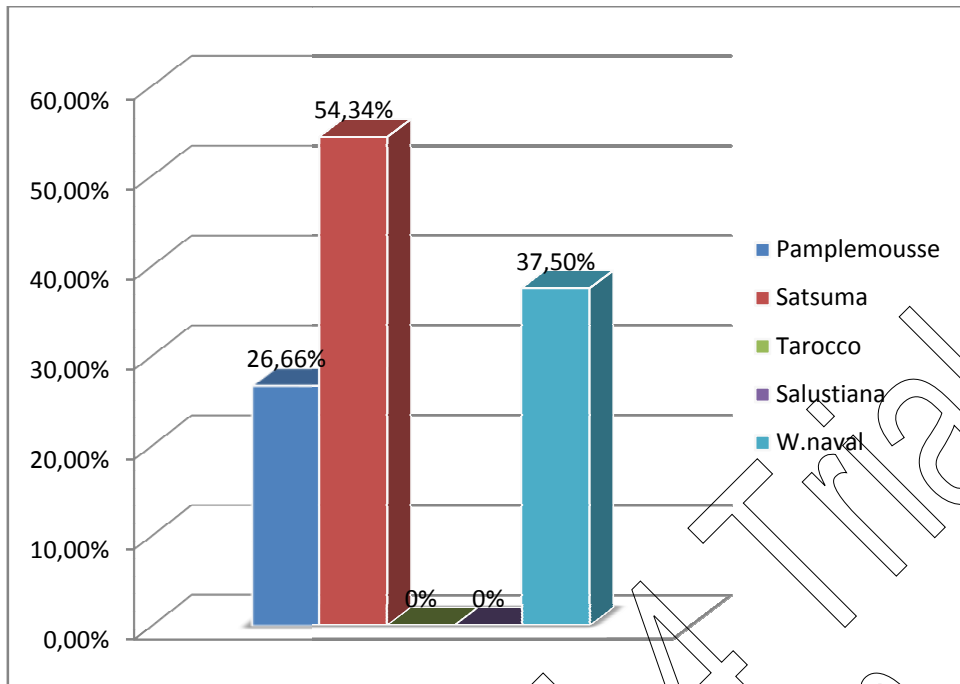


Figure 5.7: Taux d'infection de différentes espèces de parc à bois de l'exploitation 4

5.5.1.5- Exploitation 5

Dans cette exploitation le taux d'infection est de 70%, le nombre des plants positifs est de 28 sur 40 échantillons testés

5.5.1.6- Exploitation 6

Sur 54 échantillons collectés où seulement 27 ont été testés, 5 se sont révélés positifs avec un taux d'infection de 18,51%.

5.5.1.7- Exploitation 7

Cette exploitation présente un taux d'infection de 7,14%, sur les 140 échantillons testés 10 sont révélés positifs à la DAS-ELISA (Figure 5.8).

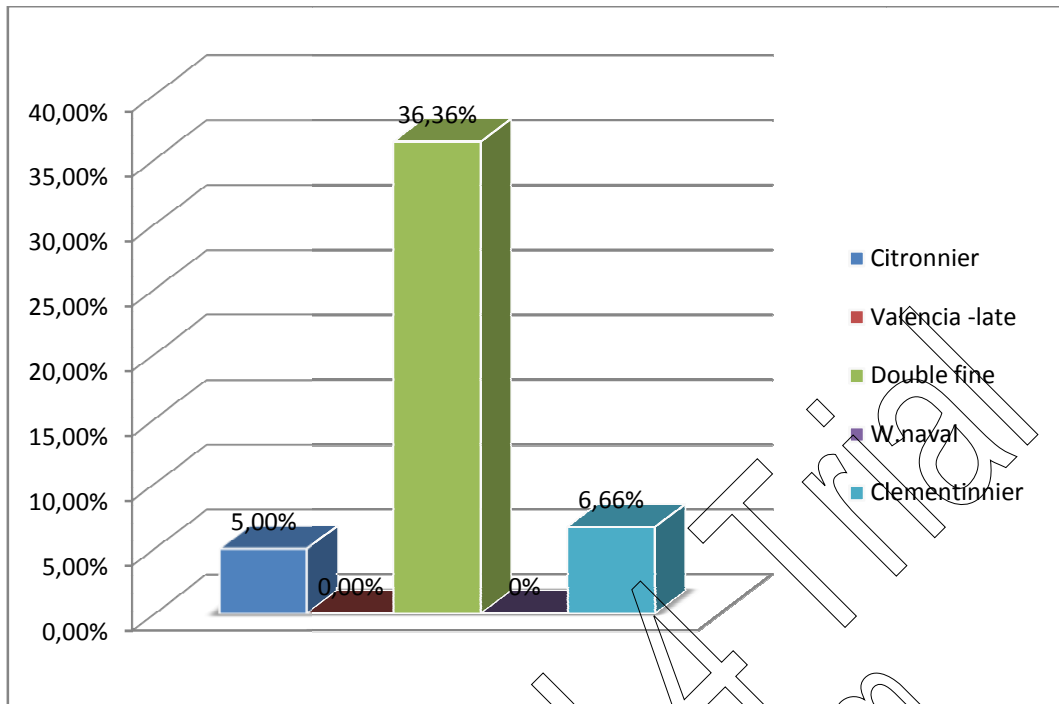


Figure 5.8: Taux d'infection de différentes espèces de l'exploitation 7

5.5.2- Discussion

Sur 400 échantillons analysés par le test sérologique DAS-ELISA, le CTV est détecté dans toutes les exploitations prospectées et échantillonnées, l'incidence du CTV oscille entre 2,94% à 70%. Les résultats du test DAS-ELISA ont montré que l'exploitation 5 est la plus affectée par le CTV. Ces résultats certifient de la réelle sensibilité du mandarinier suivie par le parc à bois de l'exploitation 4 où la variété Satsuma est la plus atteinte par le CTV par rapport aux autres variétés testées dans cette exploitation, elle peut être considérée comme la variété la plus sensible au CTV. L'oranger *Washington naval* de l'exploitation 2 se classe en troisième position, suivi par la variété Double fine de l'exploitation 7. Pour l'exploitation 1, 3,6 le CTV est présent mais faiblement représenté par rapport aux exploitations précédentes.

Ce taux très élevé de la présence du CTV dans la région de Mitidja est due probablement à l'âge avancé des arbres d'une part et à leur greffage sur bigaradier, porte greffe le plus sensible au CTV, d'autre part. Globalement, nos résultats confirment ceux obtenus par plusieurs auteurs, notamment, Bové et Vogel [63], Roistacher *et al.* [125]. Ils rapportent que l'épidémie de la Tristeza est observée surtout tous es arbres greffés sur bigaradier.

L'incidence réelle de la Tristeza dans la région de la Mitidja n'a jamais été définie avec précision, mais ce taux d'infection probablement laisse présagera une infection générale des arbres dans les prochaines années et une perte définitive des vergers, ce qui constitue une contrainte importante pour le développement de l'agrumiculture en Algérie.

5.5.3- Résultats du test DTBIA

Sur 687 échantillons analysés par le test DTBIA selon le protocole établi par Garnsey et *al.* [119] seulement 173 se sont révélés positifs au CTV avec un taux d'infection de 25,18%.

5.5.3-1- Exploitation 1

Le test de DTBIA à été effectué sur 33 échantillons collectés, 2 échantillons sont révélés positifs ce qui correspond à un taux d'infection de 6,06%.

5.5.3.2- Exploitation 2

Cette exploitation a présenté un taux d'infection de 46,66% calculé à la base de 15 échantillons testés où seulement 7 ont répondu positif.

5.5.3.3- Exploitation 3

Sur 68 échantillons collectés et testés, uniquement 6 ont répondu positivement au test DTBIA avec un taux d'infection de 8,82%.

5.5.3.4- Exploitation 4

Sur 171 échantillons testés par test DTBIA, 64 d'entres eux se sont révélés positifs au CTV avec un taux d'infection de 37,42% (Figure 5.9)

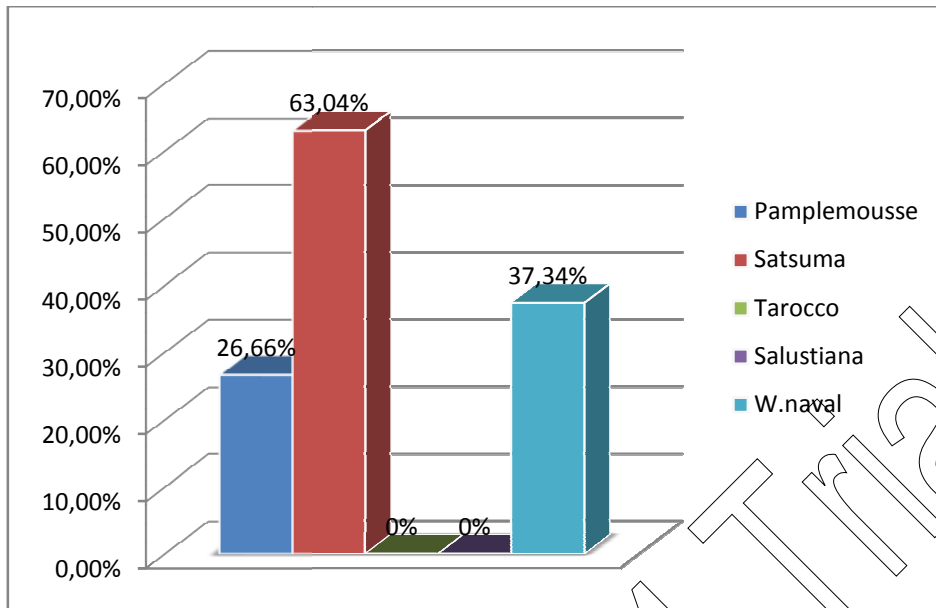


Figure 5.9 : Taux d'infection de différentes espèces de parc à bois de l'exploitation 4

5.5.3.5 - Exploitation 5

Sur 82 échantillons testés seulement 58 ont donné des résultats positifs au test DTBIA. Le taux d'infection est de 70,73%.

5.5.3.6- Exploitation 6

Uniquement 17 échantillons, sur 54 collectés et testés, se sont révélés positifs avec un taux d'infection de 31,48%.

5.5.3.7- Exploitation 7

Cette exploitation présente un taux d'infection de 6,59%, sur les 288 échantillons testés 19 sont révélés positifs par DTBIA (Figure 5.10).

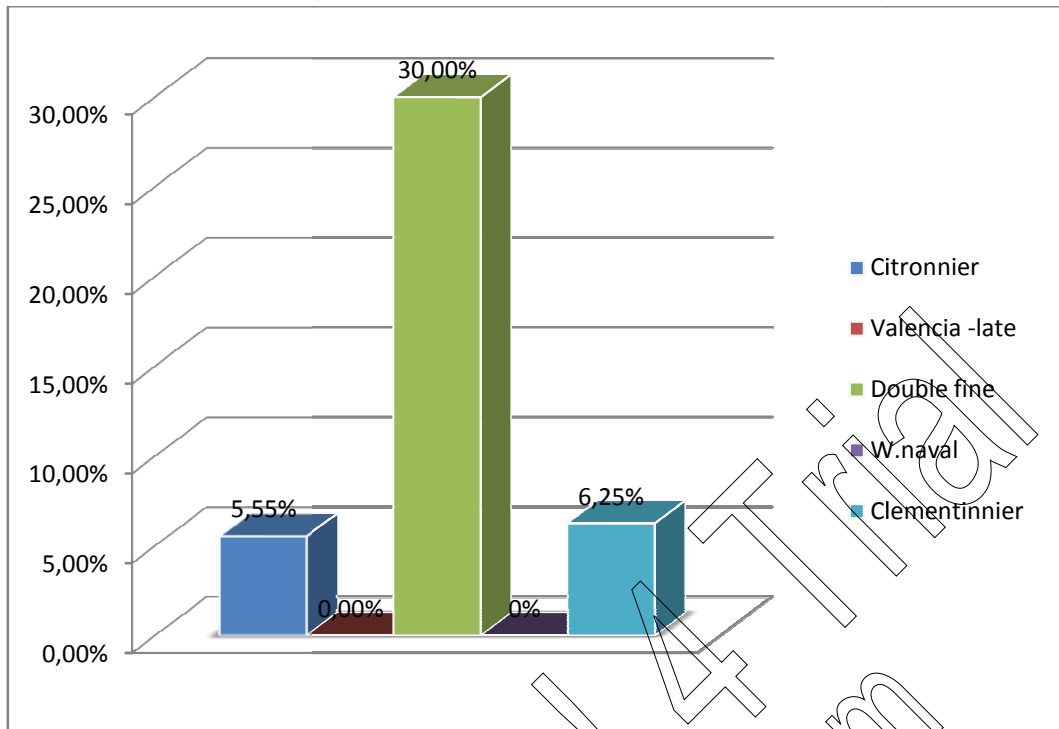


Figure 5.10 : Taux d'infection des différentes espèces de l'exploitation 7

5.5.4- Discussion

Le CTV est détecté dans la plus part des exploitations prospectées et échantillonnées. L'incidence du CTV varie entre 6,06% à 70,73%. Les résultats du test DTBIA ont montré que l'exploitation 5 est la plus atteinte par le CTV. Ces résultats certifient de la réelle sensibilité du mandarinier au virus de la tristezza, suivie par le parc à bois de l'exploitation 4 où la variété Satsuma est la plus atteinte par le CTV par rapport aux autres variétés testées dans cette exploitation. En effet cette variété est considérée comme la variété la plus sensible au CTV, il est à signaler que la plupart des mandariniers appartiennent à la variété satsuma qui comprend environ 200 cultivars. L'oranger *Washington naval* de l'exploitation 2 se classe en troisième position, suivi par la variété Clémentine de l'exploitation 6. Pour l'exploitation 1, 3,6 et 7 le CTV est présent mais faiblement représenté par rapport aux exploitations précédentes.

Par ailleurs certains échantillons ayant ont répondu négativement au test DAS-ELISA ont donné des résultats clairs et positives avec DTBIA (voir Appendice B). 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 résultats clairs avec le test DTBIA, puisque seulement un groupe de cellules infectées est nécessaire pour donner un signal clair [119].

Dans le test DTBIA il ya une liaison directe du virus des cellules infectées sur la surface de la coupe du tissu avec l'anticorps. Dans le test ELISA il ya 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'antigène spécifique au pathogène [119 ,122].

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 [119 ,122].

5.6-Identification biologique du virus du CTV

5.6.1- Transmission par pucerons

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 (Figure 7.11) La réponse au test DAS-ELISA est positive (Tableau 5.11)



A

B

Figure 5.11: Résultat de la transmission par pucerons virulifères : **A** : taches sur la face supérieure des feuilles ; **B**:déformation des feuilles en forme de cuillère.

Tableau 5.1 : Réponse des pois à l'inoculation par pucerons

Site	Variété	Vecteur	Réaction DAS-ELISA
Exploitation 1	<i>Thomson navel</i>	<i>A.citricola</i> <i>T.aurantii</i>	+
Exploitation 2	<i>Thomson navel</i>	<i>A.citricola</i> <i>T.aurantii</i>	+
Exploitation 3	<i>Washington navel</i>	<i>A. citricola</i>	+
Exploitation 4	Pamplemousse	<i>A.citricola</i> <i>T.aurantii</i>	+
	Salustiana	<i>A.citricola</i> <i>T.aurantii</i>	-
	Tarroco	<i>A.citricola</i> <i>T.aurantii</i>	-
	Satsuma	<i>A.citricola</i> <i>T.aurantii</i>	+
Exploitation 5	Mandarine	<i>A. citricola</i>	+
Exploitation 6	Clémentine	<i>A.citricola</i> <i>T.aurantii</i>	+
Exploitation 7	Clémentine	<i>A.citricola</i>	+
	Double fine	<i>T.aurantii</i>	+
	Citronnier		+
	<i>Washington navel</i>		-
	<i>Valencia late</i>		-

Légende :

+ : Réaction positive, - : Réaction négative

5.6.2-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. citricola* rencontrées sur les agrumes dans la région de Mitidja stations prospectées étaient virulifères à l'exception de quelques variétés de l'exploitation 4 (Tarocco et Salustiana) et l'exploitation 7 (*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 [126,127].

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'agrumiculture occupe une place importante dans l'économie du pays, mais cette culture a subi une diminution du point de vue qualité et quantité, du fait de la propagation de nombreuses maladies graves en plus du vieillissement et du dépérissement des arbres.

D'après l'étude menée sur plusieurs sites agrumicoles il ressort que le symptôme dominant dans nos vergers est le dépérissement. Cependant, parmi les agents biotiques responsables de ce dépérissement, la Tristeza, virus de quarantaine pourrait être l'une des causes.

L'identification, de cette maladie dans la région de la Mitidja, réalisée par les deux tests sérologiques à permis de montrer la présence du CTV dans différents vergers avec une incidence de 25,18% par DTBIA et 24,25% par ELISA et montre la sensibilité élevé du Mandarinier de l'exploitation 5. Egalement les tests biologiques ont vérifié que les pucerons (*A.citricola* et *T.aurantii*) prélevés étaient virulifères et donc par conséquent l'inoculation du CTV a été effectuée par l'intermédiaire de ces vecteurs potentiels.

A la lumière de nos résultats, il ressort que la Tristeza est toujours observée causant ainsi des effets dommageables et constitue donc une grave menace dans à nos vergers.

Tenant compte que cette maladie attaque spécifiquement les agrumes et sachant que ces derniers présentent une importance économique et commerciale majeure il serait donc important

- de mener des études sur la distribution de la maladie à travers nos vergers afin d'envisager des mesures de lutte préventives et curatives,
- d'arrêter la production de plants greffés sur bigaradier presque exclusivement, du fait de sa résistance au sol à taux élevé en calcaire, à sa tolérance à l'exocortis, malgré sa sensibilité à la Tristeza, sa

multiplication n'a pas été ralentie. En fait les portes greffe les mieux placés après le bigaradier, pour la majorité des terres des zones méditerranéennes seraient, les citranges qui sont des hybrides issus du croisement entre *P. trifoliata* et *C. sinensis* (oranger Washington navel) tolérants à la Tristeza.

Par ailleurs, l'Algérie tend à reconsidérer ce problème dans son ensemble, en adaptant une nouvelle orientation ayant pour objectif principal la vérification de l'état sanitaire des parcs à bois vis-à-vis des maladies virales afin d'éviter leur multiplication à travers un matériel végétal malade aussi la création d'un parc à bois, sous haute surveillance, dans une zone sans agrumes ou en cages insect-proof est une opération urgente.

Il n'est pas indispensable de tenter à tout prix de disposer d'un verger complètement indemne de tout ravageur; par contre il faut rechercher à tendre en permanence vers un équilibre de la faune se trouvant dans nos vergers.

En perspective on recommande la mise en place d'une stratégie de lutte et de prévention. En absence de traitement contre les viroses des plantes, la lutte contre la maladie de la Tristeza se fait notamment par des mesures prophylactiques à savoir

- Désinfection des outils de travail afin d'éviter la propagation de la maladie.
- Minimiser les réservoirs d'inoculum en arrachant les arbres malades et en les remplaçant par des associations porte-greffe/greffon tolérantes, Les arbres arrachés doivent être traités avec un aphicide et rester dans la parcelle pour s'assurer de l'élimination des pucerons vecteurs de la maladie et ne permettre le transport du bois infecté en dehors du verger qu'après desséchement.
- Limiter l'extension de la maladie en choisissant des plants certifiés. Certains hybrides, tels que citrange troyer ou citromelo swingle, prometteurs en tant que porte-greffes résistants.

- Utilisation de nombreux ennemis naturels de vecteur potentiels du CTV. Généralement, les coccinelles (Coléoptères) sont prédatrices de pucerons ; les bactéries telles que le *Bacillus thuringiensis* [128], et les champignons entomopathogènes [129]. Certains sont pris en considération dans des programmes de lutte intégrée, par ex. *Cycloneda sanguinea* et *Chrysopa* sp. au Brésil [130].
- Lutte chimique contre tous les pucerons vecteurs afin de prévenir les dégâts sur les fruits et sur les jeunes pousses, et en particulier empêcher la formation d'individus ailés, qui disséminent les virus. Si le foyer est identifié, des poudrages sont recommandés. Dans le cas du puceron *T. citricida* 4 traitements préventifs, d'insecticides systémiques sont utilisés sur jeunes arbres : pyrimicarbe 37,5 g/hl ; ethiophencarbe ; 50 g/hl ou des produits peu dangereux pour les auxiliaires (phosalone 60 g/hl) [99].
- La production d'arbres exempts du CTV. La technique de la thermothérapie consiste à exposer le végétal à une forte température .Elle est capable de détruire les virus à l'image d'une fièvre chez les humains. Pour cela on procède à des bains chauds ou on place dans une ambiance chauffée les végétaux à « traiter ». Cette solution n'est envisagée que pour des petites cultures [131]. Il est possible de garder le champ libre en permanence du CTV, la plantation d'arbres exempts de virus est pratique. Dans les zones où il est difficile de trouver un champ exempt de virus [131].
- Micro-greffage de méristèmes pour l'obtention de plants "virus free". Cette technique a permis depuis les années 1980 d'obtenir aisément du matériel végétal sain exempt de virus par greffage d'apex, même à partir d'arbres malades. Actuellement la technique de microgreffage d'apex *in-vitro* est l'une des plus importantes thérapies dirigées contre l'agent pathogène des agrumes transmissible par greffage [6].

- Utilisation des variétés et de porte-greffes résistants. Dans notre cas en Algérie, il faut remplacer immédiatement le bigaradier par un autre porte-greffe comme le *citrange carrizo*.
- Mise en place d'un programme de certification : ce dernier nécessite la contribution de toutes les instances impliquées directement ou indirectement dans le secteur des agrumes tant étatique que privé vu les investissements que demande un tel programme. Parallèlement, il y a lieu d'encourager l'utilisation des plants certifiés par les producteurs à travers des subventions, réduisant ainsi le coût très élevé des plants certifiés sur le marché par rapport aux plants communs qui se vendent à un prix très bas.

Appendices

Appendice A

LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNc : ADN complémentaire

ADN_{DB} : Acide désoxyribonucléique double brin

ARN : Acide ribonucléique

ARN_{SB} : Acide ribonucléique seul brin

BrCA : Brown citrus aphide

CPsV : Citrus psorosis virus

CTV : Citrus tristeza virus

CVV : Citrus infection variegation virus

DAS-ELISA : Double antibody sandwich – enzyme linked immuno sorbent assay

DTBIA : Direct Tissue Blot Immuno Assay

DO : Densité optique

ELISA : Enzyme linked immuno sorbent assay

FAO : Food and Agriculture Organization

G : Gramme

Ha : Hectare

Kg : Kilogramme

M : Mètre

ML : Millilitre

Mt : Millions de tonnes

Nm : Nanomètre

OEPP : L'organisation européenne et méditerranéenne de la protection de la plante

RT-PCR: Real time-polymerase chain reaction

SAU : Surface agricole utile

T : Tonne

UL : Microlitre

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

Appendice B

Compositions des tampons

1-Tampons de broyage

Composé	Quantité en g/l
NaCl	8
Na ₂ HPO ₄	2.9
KCL	0.2
KH ₂ PO ₄	0.2
Tween 20	0.5 ml
NAN3	0.2
Polyvinylpyrrolidone (PVP- PM :40.000)	10
Eau distillée	1000 ml
ph=20	6.4
pH=1	7.4

2-Tampon de lavage=20

Composé	Quantité en g/l
NaCl	8
Na ₂ HPO ₄	2.9
KCL	0.2
KH ₂ PO ₄	0.2
Tween 20	0.5 ml
NAN3	0.2
Eau distillée	1000 ml
ph=20	6.4
pH=1	7.4

3-Solution tampon phosphate 0,1M, pH=7.4

composé	Quantité
Phosphate dissodique (Na ₂ PO ₄)	3.75
Eau distillée	1000ml

4-Solution B : 0,05M (g /l)

composé	Quantité
Phosphate monopotasique(Na ₂ PO ₄)	1.425
Eau distillée	1000ml

5-Solution finale

composé	Quantité
Solution A	143 ml
Solution B	57 ml
Eau distillée	800ml

Résultats de test DAS- ELISA

Site	Variété	Nombre des plants testés	Nombre des plants positif
Exploitation 1	<i>Thomson navel</i>	16	1
Exploitation 2	<i>Thomson navel</i>	15	7
Exploitation 3	<i>Washington navel</i>	34	1
Exploitation 4	Pamplemousse	15	4
	Salustiana	5	0
	Tarroco	22	0
	Satsuma	46	20
	<i>Washington navel</i>	40	15
Exploitation 5	Mandarine	40	28
Exploitation 6	Clémentine	27	5
Exploitation 7	Clémentine	60	4
	Double fine	11	4
	Citronnier	40	2
	<i>Washington navel</i>	7	0
	<i>Valencia late</i>	22	0

Résultats de test DTBIA

Site	Variété	Nombre des plants testés	Nombre des plants positif
Exploitation 1	<i>Thomson navel</i>	33	2
Exploitation 2	<i>Thomson navel</i>	15	7
Exploitation 3	<i>Washington navel</i>	67	6
Exploitation 4	Pamplemousse	15	4
	Salustiana	5	0
	Tarroco	22	0
	Satsuma	46	20
	<i>Washington navel</i>	82	31
Exploitation 5	Mandarine	82	59
Exploitation 6	Clémentine	41	11
Exploitation 7	Clémentine	144	9
	Double fine	18	4
	Citronnier	70	4
	<i>Washington navel</i>	7	0
	<i>Valencia late</i>	45	0

Références bibliographiques

- 1- Aubert, B. et Vullin, G., "Pépinières et plantations d'agrumes". Montpellier : CIRAD, (1997) ,184 p.
- 2- Loeillet, D., "Agrumes et jus d'orange", *Economica*, (2008), 350-354.
- 3- Iftikhar, Y., Aslam Khan, M., Rashid, A., Mughal, S.M., Iqbal, Z., Batool, A., Abbas, M., Khan, M.M., Muhammad, S. and Jaskani, M. J., "Occurrence and distribution of *Citrus tristeza closterovirus* in the punjab and nwfp, pakistan", *Pak. J. Bot.*, (2009), 41(1): 373-380.
- 4- Hadj Sahraoui, K., "Mesures de développement des agrumes", *Rev. Agriculture et développement rural durable N°4, ITAFV* (2007) ,19-24.
- 5- Bellabas, A., "Rapport de mission Etude de base sur les Agrumes en Algérie", GTFS/REM/070/ITA. Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient, (2010),45p.
- 6- 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", *International Journal of Agricultural Biology.*, (2007), 9(1):27-30.
- 7- Djoudi, A. et Bahia Yahiaoui, G., "Les ravageurs d'agrumes", *Le point sur les agrumes de méditerranéen*, (2006) ,67p.
- 8- Guiraud, P., "Les mots étrangers", Paris, P.U.F., coll. "Que sais-je?", N° 1166, (1965), 127 p.
- 9- Swingle, W.T. and weber,H.J., "The principale disease of citrous in florida",*Bulletin N°8,US departement of agriculture of division of*

vegetables physiology and pathology ,gouvernement printing office,Washington DC ,(1896),.

- 10-Lehrner, J., Eckersberger, C., Walla, P., Pötsch, G. et Deecke, L., "Ambient odor of orange in a dental office reduces anxiety and improves mood in female patients". *Physiol Behav*, (2000), 71(1-2) :83-86.
- 11-Liu, X., "Le passé, le présent et le futur du secteur chinois des agrumes", Symposium sur les agrumes Chine/FAO, (2001), 5p.
- 12-Imbert .E ., "Les agrumes de Méditerranée", *Fruitrop* , Le point sur les agrumes de méditerranéen 122,(2005), 6p
- 13-Zemzami, M ., "La Tristeza:un fléau qui menace l'agrumiculture méditerranéenne les Domaines Agricole. Colloque International", Gestion des risques phytosanitaires Marrakech, (2009), 125p.
- 14-Griffon, M., et Loeillet, D., "Production et consommation d'agrumes dans le monde. Evolutions et éléments de prospective. Comptes rendus de l'académie d'agriculture de France, (2000), 86 (8) :255-275.
- 15-Bénédicte,A .et Bachès, M., "La culture des agrumes" , *Homme et plantes (revue de conversation des collection végétales spécialisés)* N°37, (2001) ,30-34.
- 16-Kamal,G.M.,Anwar,F.,Hussain,A.I.,Sarri,N and Ashraf,M.Y ., "Yield and chemical composition of citrus essential oils as affected by drying pretreatment of peels ", *Intern. Food Res. Journ.*, (2011), 18(4):1275-1282.
- 17-Anonyme FAO., "Food and Agriculture Organization of the United Unions", (2004), Agrumes, statistiques: agrumes frais et transformer.

- 18-Abdelguerfi, M., "Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture", Tome IX, Rapport de Synthèse sur « La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie » MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31, (2003), 122p.
- 19-Musset, R., "La production des agrumes dans le monde", Annales de Géographie, T. 50, N°281, (1941) 69-72.
- 20-Baci, L., "Les contraintes au développement du secteur des fruits et légumes en Algérie: faiblesse des rendements et opacité des marchés", Options Méditerranéennes, Sér. B / n°14, (2000) ,266-277p
- 21-Swingle, W. T. et Reece, P. C., "The botany of *Citrus* and its wild relatives". In W. Reuther L.D. Batchelor & H. J. Webber: The *Citrus* Industry, V. I, University of California Berkeley, (1967), 130-190.
- 22-Tanaka, T., "Citrologia: semi centennial commemoration papers on citrus studies", Citrologia supporting foundation, Osaka. Japan, (1961), 114 p.
- 23-Mutin, G., "L'Algérie et ses agrumes", Revue de géographie de Lyon, (1969) ,44(1) : 5-36.
- 24-Loussert, R., "Les agrumes. Techniques agricoles méditerranéennes", Ed. Lavoisier, Paris, (1985).
- 25-Imbert, E., "Maladies et ravageurs des agrumes", Fruitrop 161, (2008), 32-33.
- 26-Bénaouf, G., "Produire des agrumes en agriculture biologique", ITAB 149, (2005), 4p.
- 27-Rochdi,A., Lemsellek,J., Bousarhal,A. et Rachidai.A., "Evaluation sous serre de la tolérance à la salinité de quelques porte-greffes d'agrumes :

Citrus aurantium et deux hybrides de *Poncirus trifoliata* (*Poncirus* x *Citrus sinensis* et *Poncirus* x Mandarinier *sunki*)”, Biotechnol. Agron. Soc. Environ. (2005), 9 (1):65-73.

28-Ollitrault, P., Dambier, D., Froelicher, Y., Bakry, F. et Aubert, B., “Sélection de porte-greffes d'agrumes pour la production méditerranéenne : potentialités de l'hybridation somatique = Rootstock breeding strategies for the mediterranean citrus industry: the somatic hybridization potential= Selección de porta injertos de agríos para la producción mediterranea : potencialidades de la hibridación somática”, Fruits, (1998), 53 (5) :335-344.

29-Pultrini, A. M., Galindo, LA. et Costa, M., “Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in experimental anxiety models in mice”, Life Sci., (2005) ,6:1720-1725.

30- Hellal,Z., “Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certains huiles essentielles extraites de citrus , application sur la sardine (*Sardine pilchordus*) ”, Mem. Mag. ,Université Mouloud Mammeri Tizi-ouzou, Algérie ,(2011), 78p.

31-El-Otmani, M., “ Les agrumes, le maraichage et le froid hivernal ”, Transfert de technologie en agriculture, PNTTA.127, (2005) ,4p.

32-El Yacoubi, H., Ayolié, K. and Rochdi, A., “In vitro cellular salt tolerance of Troyer citrange: changes in growth solutes accumulation in callus tissue”, International Journal of Agricultural Biology., (2010), 12 :187–193

33-El Yacoubi , H., Rochdi ,A., Ayolie ,K. et Rachidai, A., “Sélection et évaluation de lignées de cals stables et tolérantes vis-à-vis du stress salin chez le citrange 'Troyer' [*Citrus sinensis* (L.) x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]”, EDP Sciences, Les Ulis, France, (2004), 59 (5) : 325-337.

- 34-Rey, J.Y., "L'agrumiculture de la production agrumicole d'Afrique de l'ouest et du centre", Proceedings of the VISCN congress, Montpellier, France, (1997).
- 35-Bani Hashemian, S.M., Murcia, N., Trenor, I. and Duran-Vila, N., "Low performance of citrus trees grafted on carrizo citrange is associated with viroid infection", *Journal of Plant Pathology*, (2010), 92 (2) :511-517.
- 36-Savage, E.M. and F.E. Gardner., "The origin and history of Troyer and Carrizo citranges", *California Citrograph*, (1965), 40(255): 276–278.
- 37-William, S. and Castle, A., "Career Perspective on Citrus Rootstocks, Their Development, and Commercialization", *Horticulture Science*, (2010), 45(1): 11-15.
- 38-Praloran, J.C., "Les Agrumes", Ed. Maisonneuve et Larose, France (1971), 565p.
- 39-Miller, J.H., E.B. Chambliss, N.J. Loewenstein., "A Field Guide for the Identification of Invasive Plants in Southern Forests", General Technical Report SRS-119, Asheville, NC. United States Department of Agriculture, Forest Service, (2010), 126 p.
- 40-Miyakawa, T. and Matsui, C., "A Bud-Union Abnormality of Satsuma Mandarin on *Poncirus Trifoliata* Rootstock in Japan", Seventh IOCV Conference, (1975), 125-131.
- 41-Bitters, W.P., and Batchelor, D., "Citrus Rootstock Problems", *California agriculture*, (1952), 8-12p .
- 42-Jamoussi, B ., "Les maladies de dépérissement des Agrumes laboratoire de mycologie du muséum national d'histoires naturelles", Paris (Tome XX), N° 1 ,(1955), 48p

- 43-VanRegenmortel,M .H.,Fauquet,C.M.,Bishop,D.H.L.,Carstents ,E.B.,Estes ,M.K.,Maniloff,J.,Mayo,M.A.,McGeoch,D.J.,Pringle,C.R.and Wickner,R.B.,“The classification and nomenclature of viruses”, The seventh report of the international committee on taxonomy of viruses (book).Academic press, Sandiego, (2000),1167p.
- 44-VanRegenmortel,M .H.,Fauquet,C.M.,Bishop,D.H.L.,Carstents ,E.B.,Estes ,M.K.,Maniloff,J.,Mayo,M.A.,McGeoch,D.J.,Pringle,C.R.and Wickner,R.B.,“The classification and nomenclature of viruses .Primary based on the 7th ICTV report plus subsequent taxonomic decision” ,Academic press,Sandiego wien New York,(2001),1024p.
- 45-Giovani,P. , et Martelli,G.P., “Cours de virologie végétale” ,Virus taxa :properties and epidemiological characteristics, (1997) , 36p.
- 46-Nieto Nafria, J. M., Alonso-Zarazaga, M.A., Pérez Hidalgo, N., “*Toxoptera citricida* or *Toxoptera citricidus*? The validity of a specific name (Hemiptera, Aphididae, Aphidini)”, Graellsia, V.61, No1, (2005), 141-142.
- 47-Bar Joseph, M., Marcus, R. and Lee, R. F., “The continuous challenge of citrus tristeza virus control”, Annual Review of Phytopathology, (1989), 27:291-316.
- 48-Brown, L. G., Denmark, H. A. and Yokomi, R. K., “ *Citrus tristeza virus* and its vectors in florida”, Plant Pathology Circular N^o 311, (1988).
- 49-Atta, S ., Liu, Y ., Cao, M., Yang, F ., Zhou, Y. and Zhou,C., “Molecular characterization of *Citrus tristeza virus* isolates from Pakistan based on CPG/Hinf I restriction fragment length polymorphism (RFLP) groups analysis”, African Journal of Biotechnology V.10 ,N^o44,(2011), 8689-8694 .

- 50-Fawcett, H.S. et Wallace, J.M., "Evidence of virus nature of citrus quick decline", *California Citrograph*, (1946), 32:88-89.
- 51-Fraser, L., "Seedling yellows, an unreported virus disease of citrus", *Agricultural Gazette of New South Wales* 63, (1952), 125-131.
- 52-Oberholzer, P.C.J., Mattews, I. et Stiemie, S.F., "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* N°297, (1949).
- 53-Hughes, W.A. et Lister, C.A., "Lime disease in the Gold Coast", *Nature* 164, (1949), 880p.
- 54-McClean, A.P.D., "Tristeza virus of citrus; Evidence for absence of seed transmission", *Plant Disease Reporter* 41, (1957), 821p.
- 55-Lovisol, A., "Agro-ecology and centres of origin of graft-transmissible diseases of citrus", *Proceedings of the 12th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV)*, Riverside, (1993), 406-411.
- 56-Bové, J.M. et Vogel, R., "Stem pitting sur bigaradier et sur oranger tarocco En corse. Une maladie à virus", *Fruits*, (1964), 19 :269-140.
- 57-Ayres, A. J., "Le contrôle des maladies des agrumes au Brésil", *Symposium sur les agrumes Chine/FAO*, (2001), 109-117.
- 58-McClean, A.P.D., "Stem pitting disease (Tristeza virus) on limes in field plantings in South Africa", *Phytophylactica*, (1975), 7:75-80.
- 59-Fang, D. Q., Fderici, C. T. and Roose, M. L., "A High-Resolution Linkage Map of the *Citrus Tristeza Virus* Resistance Gene Region in *Poncirus trifoliata* (L.) Raf", *Genetics*, (1998), 150:883–890.

- 60-Webber, H. J., "The "Tristeza" disease of sour-orange rootstock", Proc. Am. Soc. Hort. Science, (1943), 43:360-364.
- 61-Clark, M.F. et Adams, A.N., "Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant virus", Journal of General Virology, (1977), 34:475-483.
- 62-Frezal, P., "Sur la présence en Algérie de la Tristeza et de la xyloporose des citrus" ; Acad.d'agr.de France, (1957),4p.
- 63-Bové, J.M. et Vogel, R., "Description and illustration of virus and virus-like diseases of citrus", Setco-IRFA, Paris, France, (1981).
- 64-Stewart,K.A., "Strain differentiation of *citrus tristeza virus* isolats from south african by PCR and microarray " , Thèse de magistère de microbiologie ,Université de Pretoria, Sud-Africain (2006),222p.
- 65-Satyanarayana, T., Bar-Joseph, M., Mawassi, M., Albiach-Martoa, M. R., Ayloân, M. A., Gowda, S., Hilf, M. E., Moreno, P., Garnsey, S. M. and Da, W. O., " Amplification of *Citrus Tristeza Virus* from a cDNA Clone and Infection of *Citrus* Trees", Virology, (2001) , 280:87-96.
- 66-Bar-Joseph, M., Roistacher,C.N., et Garnsey,S.M., "The epidemiology and control of Citrus tristeza disease", In:Plant virus epidemiology (Ed.by Plomb,R.T.,Thresh,J.M.),Blackwell Scientific publications,Oxford,Royaume-Unipp,(1983),61-72.
- 67-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., Lewandowski, D. J. et Dawson, W. O., "Complete sequence of the *Citrus tristeza virus* RNA genome", Virology, (1995), 208: 511-520.

- 68-Price, M., Schell, J., Grosser, S.S., Pappu, H.R., Pappu, V., Manjunath, K.L., Niblett, C.L., Derrick, K.S. et Lee, R.F., "Replication of *Citrus tristeza clostrovirus* in citrus protoplasts", *Phytopathology*, (1996), 86(8):830-833.
- 69-Wetzel, T., Candresse, T., Macquaire, G., Ravelonandro, M., Dunez, J., "A highly sensitive immunocapture polymerase chain reaction method for plum pox potyvirus detection", *Journal of Virological Methods*, (1992), 39 : 27-37.
- 70-Nolasco, G., de Blas, C., Torres, V. and Ponz, F., "A method combining immunocapture and PCR amplification in a microtiter plate for the routine diagnosis of plant viruses and subviral pathogens", *Journal of Virological Methods*, (1993), 45: 201-218.
- 71-Rosner, A., Shilboleth, Y., Spiegel, S., Krisbai, L., Kölber, M., "Evaluating the use of immunocapture and sap-dilution PCR for the detection of *Prunus necrotic ringspot virus*", *Acta Horticulturae*, (1998), 472:227-233.
- 72-Gargo Zachert, S., Costa, N., Semorile, L., et Grau, O., "Sequence variability in p27 gene of *Citrus tristeza virus* (CTV) revealed by SSCP analysis", *Plant pathology*, (2007), 12(1):1-8.
- 73-Saponari, M., Keremane Manjunath, A., Raymond, B. et Yokomi, K., "Quantitative detection of *Citrus tristeza virus* in citrus and aphids by real-time reverse transcription-PCR", *Journal of Virological Methods*, (2008), 147:43-53.
- 74- Agranovsky, A.A., Lesemann, D.E., Maiss, E., Hull, R., and Atabekov, J.G., "Rattlesnake' structure of a filamentous plant RNA virus built of two capsid proteins", *Proceedings of the National Academy of Sciences-USA*, (1995), 92: 2470-2473.

- 75-Bar-Joseph, M., Gumpf, D. J., Dodds, J. A., Rosner, A. and Ginzburg, I., "A simple purification method for *Citrus tristeza virus* and estimation of its genome size", *Phytopathology*, (1985),75: 195-198.
- 76-Zhu, H.Y., Ling, K.S., Goszczynski, D. E., McFerson, J. R. and Gonsalves, D., "Nucleotide sequence and genome organization of grapevine leafroll-associated virus-2 are similar to beet yellows virus, the *closterovirus* type member", *Journal of General Virology*, (1998) ,79:1289-1298.
- 77-Karasev ,A .V .,Hilf,M.E., Garnsey,S.M. et Dowson,W.O., "Transcriptional strategy of *closterovirus* :Mapping the 5'termini of the *Citrus tristeza virus* subgenomic RNAs", *Journal of phytopathology* , (1997) ,71(8):6233-6236.
- 78-Yang, Z.N., Mathews, D.M., Dodds, J.A. et Mirkov, T.E., "Molecular characterization of an isolate of *Citrus tristeza virus* that causes severe symptoms in sweet orange", *Virus Genes*, (1999) ,19(2):131-42.
- 79-Lbida, B., Fonseca, F., Santos, C., Zemzami, M., Bennani, A. and Nolasco, G., "Genomic variability of *Citrus tristeza virus* (CTV) isolates introduced into Morocco", *Phytopathol. Mediterr*, (2004), 43 :205-210.
- 80-Garnsey, S. M., Barrett, H. C. and Hutchison, D. J., "Identification of *Citrus tristeza virus* resistance in citrus relatives and potential applications", *Phytophylactica*, (1987), 19: 187-191.
- 81- Rocha-Pena, M. A., Lee, R. F., Lastra, R., Niblett, C. L., Ochoa-Corona, F. M., Garnsey, S. M., and Yokomi, R. K., "*Citrus tristeza virus* and its aphid vector *Toxoptera citricida*: threats to citrus production in the Caribbean and Central and North America", *Plant Disease*, (1995),79(5):437-445.

- 82-Schneider, H., "The anatomy of Tristeza virus-infected citrus. In *Citrus Virus Diseases*", J.M. Wallace, ed (Berkeley: University of California), (1959), 73-84.
- 83-Brlansky, R.H., "Inclusion bodies produced in citrus by *Citrus tristeza virus*", *Phytophylactica*, (1987), 19:211-213.
- 84-Brlansky, R.H., Lee, R.F., and Garnsey, S.M., "In situ immunofluorescence for the detection of citrus tristeza inclusion bodies", *Plant Disease*, (1988), 72: 1039-1041.
- 85-D'onghia, A.M. et Lacirignola, C., "Major virus and virus like disease of citrus in the Mediterranean. Proceedings of the Mediterranean Network on certification of citrus 1995-1997", Serie B: studies and research, 21, option Méditerranéennes CIHEAM /D.G.I., (1998), 152p.
- 86-Lee, R.F., "Plant Viruses online, *Citrus tristeza closterovirus*", *Calif citrange* 35, (1989), 69p.
- 87-Huang, Z., Rundell, P. A., Guan, X., and Powell, C. A., "Detection and isolate differentiation of *Citrus tristeza virus* in infected field trees based on reverse transcription-polymerase chain reaction", *Plant Disease*, (2004), 88: 625-629.
- 88-Bar-Joseph, M., Che, X., Mawassi, M., Gowda, S., Satyanarayana, T., Ayllón, M. A., Albiach-Martí, M. R., Garnsey, S. M. and Dawson, W. O., "*Citrus tristeza virus* .The Continuous Challenge of *Citrus tristeza virus* Molecular Research", Fifteenth IOCV Conference, (2002), 7p.
- 89-Permar, T. A., Garnsey, S. M., Gumpf, D. J. and Lee, R. F., "A monoclonal antibody which discriminates strains of *Citrus tristeza virus*", *Phytopathology*, (1990), 80: 224-228.

- 90-Roberts, P.D., McGovern, R.J., Lee, R.F., et Nibelett, C.L., "Tristeza", Plant Pathology Fact Sheet.SP-155, (2001), 5p.
- 91-Lee, R.F., Baker, P.S., and Rocha-Peña, M.A., "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 organisation (FAO), United Kingdom, (1994), 197p.
- 92-Denmark, H. A., "A field key to the citrus aphids in Florida", Fla. Dept. of Agric. & Consumer Serv., Div. of Plant Ind., Ent. Circ. N°18, (1963), 2 p.
- 93-Bar-Joseph, M., Garnsey, S.M., Gonsalves, D., Moscovitz, M., Purcifull, D.E., Clark, M.F. and Loebenstein, G., "The use of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Citrus tristeza virus*", Phytopathology, (1979), 69 :190-194.
- 94-Lee, R.F., et Bar-Joseph, M., "Tristeza. In: Timmer, L.W., Garnsey, S.M., Graham, J.H. (Eds.)", Compendium of Citrus Diseases. APS Press, St. Paul, MN, (2000) , 61-63.
- 95-Stoetzel M.B., "Aphides (Homoptera : Aphididae) of potentiel importance on citrus in the united states with illustrated keys espèces", Proc.Entomol.Soc.Wash, 1994), 96(1):74-90.
- 96-Kirkaldy, G. W., "On some peregrine Aphidae in Oahu", Proceedings of the Hawaiian, Entomological Society 1, (1907), 99-102.
- 97-Fauque, C., et Thouvene, J.C., "Transmission par insectes des maladies virales de plantes en Afrique tropicale", Bulletin de la Société entomologique de France, (1984) ,89 :71-76.

- 98-Michaud. J. P., "A review of the literature on *Toxoptera citricida* (kirkaldy) (homoptera: aphididae)", Florida Entomologist 81(1), (1998).
- 99-Kranz, J., Schmutterer, H. and Koch, W., "Diseases, pests and weeds in tropical crops", Paul Parey, Berlin, Allemagne, (1977), 342-343.
- 100- Hunter, W.B., Dang, P.M., Bausher, M.G., Chaparro, J. X., McKendree, W., Shatters, R.G., McKenzie, C.L. et Sinisterra, X.H., "Biologie des pucerons: les gènes exprimés à partir aillées *Toxoptera citricida*, les agrumes brun pucerons", Journal of Insect Science, (2003),3(23) :1-7p.
- 101- Whiteside, J.O., Garnsey, S.M. and Timmer, L.W., "Compendium of citrus diseases", APS Press, USA , (1988) , 80p.
- 102- Yokomi, R. K., Lastra, R., Stoetzel, M. B., Damsteegt, V. D., Lee, R. F.,Garnsey, S. M., Gottwald, T. R., Rocha-Penã, M. A., and Niblett, C. L., "Establishment of the brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae) in Central America and the Caribbean Basin and transmission of *Citrus tristeza virus*", J. Econ. Entomol. (1994) , 87 :1078-1085.
- 103- Yokomi, R. K. and Garnsey, S. M., "Transmission of *Citrus tristeza virus* by *Aphis gossypii* and *Aphis citricola* in Florida", Phytophylactica, (1987), 19: 169-172.
- 104- Roistacher, C. N., Nauer, E. M., Kishaba, A. and Calavan, E. C., "Transmission of *Citrus Tristeza Virus* by *Aphis gossypii* Reflecting Changes in Virus Transmissibility in California", Tristeza and Related Disease, (1980) ,76-82.
- 105- Schirmer, S., Sengonca, C. and Blaeser, P., "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. (2008), 105 :121-129.

106- Hullé, M., Turpeau-ait Ighil, E., Robert, Y. et Monnet, Y., - "Les pucerons des plantes maraîchères: cycles biologiques et activités de vol", Paris, Ed. INRA. (1999) ,128 p.

107- Lecoq, H., "Les pucerons: de redoutables vecteurs de virus des plantes", PHM Revue horticole, (1996), 369 :25-28.

108- Batista, L., Porrás, D. N., Gutiérrez, A., Pena, I., Rodríguez, J., Fernández del Amo, O., Pérez, R., Morera, J. L., Lee, R. F. and Niblett, C. L., "Tristeza and *Toxoptera citricida* in Cuba: Incidence and Control Strategies", Thirteenth IOCV Conference ,Riverside, (1996),104-111.

109- Nolasco ,D .,Daigger ,G., Steohenson , J., Stafford, D . and Kaupp ,D .,"Maximizing the use of exiting facilities for BNR using the step Bio -P process proceeding water enviroment federation 68th annuel conference et exposition ",Wastewater treatment research and minicipal wastewater treatment,(1995),547-558.

110- Lee, R.F., "Citrus tristeza : Biology, Potentiel Impact, and control stratégies", Arab J .PL.Orot, (2000), 18 :143-148.

111- Sieburth, P.G.et Nolan, K.G., "Survey of stem pitting *Citrus tristeza virus* in commercial citrus graves in florida", Proc.Fla.State Hort.Soc. (2005), 118:40-42.

112- Yumruktepe, R. and Vygan, N.,"Determination of aphid (homopera : aphididae) and their naturel enemires in citrus orchards in the Eastern Miditerraeen region ",Turkiye III.Biolojik Mucadele Knogresi Bildirileeri , 25-28 Ocak 1994,Ege. Unniversitesi ziraat;Fakultezi ,bikti Bolumu ,Izmir,(in turk .,Eng.Sum), (1994) 1-12 p

- 113- Komazaki, S., "Ecology of Citrus Aphids and Their Importance to Virus Transmission", JARQ, (1994), 28:177-184.
- 114- Yokomi ,R.K.et Damstreegt, V.C.,"Comparaison of *Citrus triseza virus* transmmision efficacy by *Taxoptera citricidus* and *Aphis gossypii* ;In: Peters , D;C.,J.A. Webster,and Choubler, C.S.[eds.] ",Proceedings, Aphid-Plant Interaction : Population to molecules .Stillwater, Oklahoma , (1991), 75:161-172.
- 115- Roistacher, C.N., "Graft-transmissible Diseases of Citrus Handbook for detection and diagnosis", International organisation of citrus virologists & Food and Agriculture Organisation of United Nations. Eds.Rome, (1991).286p.
- 116- Bayram, Ç., "Characterization of the rna-dependent rna polymerase gene of *Citrus tristeza closterovirus*", Thèse de Doctorat. Université de Florida, (2001) ,138p.
- 117- Amandeep, S. K., "Molecular characterization of the population diversity of selected isolates and subisolates of *Citrus tristeza virus (CTV)* from florida", Mem. Master. Université de Florida, (2005) ,85p.
- 118- Gottwald, T.R., Hughes, G., "A new survey method for *Citrus tristeza virus* disease assessment", Fourteenth IOCV Conference,(2000),77-87.
- 119- Garnsey, S.M., Permar, T.A., Cambra, M., and Henderson, C.T., "Direct tissue blot Immunoassay (DTBIA) for detection of *Citrus tristeza virus (CTV)*", Proceedings of the 12th Conference of the International Organization of Citrus Virologists IOCV, Riverside, (1993), 39-50.
- 120- Djelouah, K., Valentini, F., D'Onghia, A.M., "Technical procedures for the monitoring of *Citrus tristeza virus (CTV)*", Options Méditerranéennes B 65, (2009), 211-217.

- 121- D'Onghia A.M., Djelouah K., Frasher D. and Potere O., "Detection of *Citrus psorosis virus* by direct tissue blot immunoassay", *Journal of Plant Pathology*, (2001), 83:139-142.
- 122- Djelouah, K., Frasher, D., and D'Onghia, A. M., "Serological Diagnosis of *Citrus psorosis virus* and *Citrus tristeza virus* Using Flower Parts", Fifteenth IOCV Conference, (2002), 363-365.
- 123- Eggert, P.R., Stubbings, G et Arriago, J.T., "*Citrus tristeza closterovirus*", NAPPO diagnostic protocol 1, (2009), 20p.
- 124- Esterlin, S., "Influence des rayonnements gamma sur la fixation des anticorps sur le polystyrène. Application au test immunoenzymatique ELISA", Th. Doc. Université de bordeaux II, France, (1986), 75p.
- 125- Roistacher, C.N., Blue, R.L., Nauer, E.M., and Calavan, E.C., "Suppression of *Tristeza virus* symptoms in Mexican Lime seedlings grown at warm temperatures," *Plant Disease Reporter*, (1974), 58: 757-760.
- 126- Hermoso de Mendoza, A., Ballester-Olmos, J. F. and Pina, J. A., "Transmission of *Citrus tristeza virus* by aphids (Homoptera, Aphididae) in Spain", *Proceedings of the 9th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV)*, Riverside (1984), 23-27.
- 127- Cambra, M., Gorris, M.T., Marroquin, M.P., Olmos, A., Martinez, M.C., de Mendosa, H.A., Lopez, A., and Navarro, L., "Incidence and epidemiology of *Citrus tristeza virus* in the Vlencia community of Spain". *Virus Res*, (2000), 71:85-95.

- 128- Saxena, D. and Stotzky, G., "Insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* is released from roots of transgenic Bt corn in vitro and in situ", *FEMS Microbiology Ecology*, (2000), 33:35-39 .
- 129- Fraval, A., "Les pucerons - 2e partie", *Insectes* 142, (2006) ,27-32.
- 130- Trevizoli, D. et Gravena, S., "Efficacité et sélectivité des insecticides en lutte intégrée contre *Toxoptera citricidus*", *Cientifica*, (1979), 7 :115-120.
- 131- Muhammad, A., Muhammad, I., Attique, A. and sher, H., "Elimination of *Citrus tristeza closterovirus* from citrus bud-wood through thermotherapy", *Pak. J. Bot.*, (2005), 37(2):423-430.
- 132- Rocha-Pefia, M., Lee, R. F., Permar, T. A., Yokomi, R. K. and Garnsey. S. M., "Use of enzyme-linked immunosorbent and dot-immunobinding assays to evaluate two mild strains cross protection experiments after challenge with a severe *Citrus tristeza virus* isolate", *Proceedings of the 11th Conference of the International Organization of Citrus Virologists (IOCV)*, Riverside, (1991), 93-102.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com