REPUBLIC ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département des biotechnologies

ESSAI D'EFFICACITE DES HUILES MINERALES POUR LUTTER CONTRE LA DESSEMINATION DU VIRUS Y DE POMME DE TERRE

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master académique en science de la nature et de la vie

Option: Biologie des interactions plante-microorganisme

Par

LAMOURI Fadhila

Jury:

BEN CHAABANE. M Professeur, US.D. Blida Président

BELKAHLA. H Professeur, US.D.Blida Promotrice

DJAZOULI. Z MCA, US.D. Blida Examinateur

OUALHA. L Directeur SGP Alger Examinateur

Année universitaire 2012/2013

RESUME

La pomme de terre occupe une place très importante, et fait partie des aliments de base en Algérie. Les virus de cette culture sont transmis par pucerons et par contact peuvent réduire les rendements jusqu'au 40%. L'objectif de notre travail a consisté à vérifier l'efficacité de la lutte contre la dissémination du virus Y (PVY) dans les parcelles de multiplication de pomme de terre à base des huiles minérales paraffiniques et cela par la mise en place d'un essai expérimental et l'étude de l'évolution des captures des pucerons ailés au niveau des bacs jaunes ainsi que l'analyse sérologique par la DAS-ELISA sur les tubercules récoltées. Les premiers résultats ont montré que la période critique des vols des pucerons vecteurs se situe entre Avril et Novembre et les espèces trouvés étaient: Myzus persicae, Macrociphum euphorbiae, Aphis fabea, Aphis nasturtii et Aphis gossypii Les tests sérologiques sur les tubercules récoltés nous ont permis de constater que l'huile minérale peut réduire l'infection dans les parcelles d'environ 85% par rapport à celles non traités.

Mots clés: Pomme de terre, PVY, huiles minérales paraffiniques, pucerons vecteurs, DAS-ELISA.

فعالية اختبار الزيوت المعدنية لمكافحة انتشار فيروس البطاطس PVY

تحتل البطاطا مكانة مهمة جدا، و جزء من المواد الغذائية الأساسية في الجزائر فيروسات هذا المحصول تنتقل عن طريق المن والاتصال يمكن أن تقلل من الغلة الى 50 ٪ . كان الهدف من عملنا للتحقق من فعالية في مكافحة انتشار فيروس) Y Y) في مؤامرات الضرب البطاطا مقرها برافيني الزيوت المعدنية و أن إنشاء الاختبار التجريبي ودراسة تطور الصيد المن المجنح في صناديق الأصفر والاختبارات المصلية التي كتبها DAS-ELISA الدرنات المحصودة .وأظهرت النتائج الأولى أن الفترة الحرجة من ناقلات المن رحلات ما بين ابريل و نوفمبر و الأنواع الموجودة هي:

Myzus persicae, Macrociphum euphorbiae, Aphis fabea, Aphis nasturtii Aphis gossypii.

الاختبارات المصلية على الدرنات المحصودة وجدنا أن الزيوت المعدنية يمكن أن تقلل من العدوى في كتل من حوالي 85 ٪ مقارنة مع غير المعالجة .

الكلمات الرئيسية: البطاطا ، PVY ، الزيوت المعدنية البرافينية ،حشرات المن الناقلة ، PVY ، الزيوت المعدنية البرافينية

ABSTRACT

TEST EFFECTIVENESS OF MINERAL OILS TO COMBAT DESSEMINATION of POTATO VIRUS Y

Potato occupies a very important place, and is part of staple foods in Algeria. Viruses of this culture are transmitted by aphids and contact can reduce yields by 50 %. The objective of our work was to verify the effectiveness of the fight against the spread of virus Y (PVY) in multiplication plots potato based paraffinic mineral oils and that the establishment of a experimental testing and study of the evolution catch winged aphids in yellow bins and serological testing by DAS- ELISA harvested tubers. The first results showed that the critical period of aphid vectors flights is between April and November and species found were: Myzus persicae, Macrociphum euphorbiae, Aphis fabea, Aphis nasturtii et Aphis gossypii. Serological tests on harvested tubers we have found that mineral oil can reduce the infection in blocks of about 85 compared to untreated. **Keywords:** potato, PVY, paraffinic mineral oils, aphid vectors, DAS- ELISA.

Remerciement

Nous remercions dieu le tout puissant pour nous avoir prêté courage, assistance et patience afin de mener à bien l'élaboration de ce mémoire et de m'avoir orienté vers Mme BELKAHLA Hadjira dans le choix de mon sujet de mémoire de fin d'étude.

Je tiens d'abord à remercier Mme BELKAHLA, H. d'avoir accepté de diriger ce travail. Je la remercie également pour tous les conseils, les orientations, les discussions qui m'ont été très utiles.

Toute ma gratitude à Mr BEN CHAEBANE, M. qui m'a fait l'honneur en acceptant de présider le jury de ce modeste travail.

Mes remerciements et mon profond respect à Mr OUALHA, L. D'avoir accepter d'examiner ce travail.

Mes vifs et sincères remerciements à Mr DJAZOULI, Z d'avoir accepté d'examiner ce travail.

J'exprime ma gratitude et mes profonds remerciements à ma famille: ma mère, mon père, frères et sœurs, marie et toute la famille de mon marie pour toute l'aide précieux et inestimable, pour toute la patience et tout l'amour.

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements au PDG de la SAGRODEV et tous les travailleurs de cette société surtout Mr RAHILE, B et Mme SADOUNE, K, pour ses aides très précieuses. Je remercie également mes sœus KARIMA et Mme OUALHA pour ses aides.

A tous mes enseignants depuis le primaire jusqu'à maintenant. A mes amis et collègues, à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, trouvent ici l'expression de sincères remerciements

Dédicaces

A toute ma famille

A mes amies

A la promotion de Phytopathologie 2012 – 2013.

Je dédie ce modeste travail

FADHILA

TABLE DES MATIERES

RESUME.	
LISTE DES ILLUSTRATIONS.	
LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS.	
INTRODUCTION	13
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : Pomme de terre et problème de dégénérescence	16
1-1- Multiplication de la pomme de terre e dégénérescence	20 20
CAPITRE II : Le virus Y (PVY- Potato Virus Y) et les facteurs de l'infection	23
2-1- Description	23
2-2- Symptomatologique et gamme d'hôtes	24
2-3- Rôle des pucerons dans la dissémination du virus Y	26
2-3-1- Comportement alimentaire des pucerons et transmission du virus	26
2-3-2- Espèces de pucerons et efficacité pour la transmission	27
2-3-3- Biologie et écologie des principales espèces vectrices du virus Y	28
2-4- Les huiles minérales	30
PARTIE EXPERIMENTALE	
CHAPITRE I : Matériel et méthode	32
1- 1- Aire géographique englobée par l'étude	32
1-2- Données climatiques de la région	32
1-3- Protocole de l'essai	

1-3-2- Mise en place de l'essai34
1-3-3- Dispositif de traitements35
1-3-4- Traitements réalisés35
1-3-5- Notations en végétation38
1-3-6- Procédure de récolte et production réalisée38
1-4- Dynamique de l'activité des populations de pucerons
1-5- Dépistage des maladies virales sur tubercules récoltés par la technique sérologique
1-5-1- La méthode directe ELISA41
1-5-2- Echantillonnage des tubercules récoltés pour test de pré culture41
1-5-3- Les étapes de la DAS-ELISA43
CHAPITRE II : PARTIE RESULTATS ET DISCUSION
2-1- Notation en végétation48
2-2- Fréquence des captures des pucerons ailés au niveau des bacs jaunes49
2-3- Récolte et production des différents traitements50
2-4- Dosage Immuno-Enzymatique du PVY (résultats du test ELISA)54
CONCLUSION55
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES
ANNEXE

LISTE DES ILLUSTRATION ET GRAPHIQUE

Figure 01. Cycle de la pomme de terre	17
Figure 02 : Schéma de production de semence de pomme de terre	18
Figure 03 : Particule du virus Y	23
Figure 04 : Symptôme de bigarrure sur feuilles de pomme de terre	24
Figure 05 : Symptôme de frisolée sur feuilles de pomme de terre	25
Figure 06 : Nécroses annulaires superficielles (PVY)	25
Figure 07 : Transmission du PVY selon le mode non persistant	27
Figure 08 : Myzys persicae	28
Figure 09 : Aphis gossypii	28
Figure 10 : Macrosiphum euphorbiae	29
Figure 11: l'aire géographique de Guellal (Sétif)	32
Figure 12 : Dispositif expérimental en 4 blocs aléatoires complets (A, B, C et I	O) avec
4 répétitions	35
Figure 13 : Traitement manuelle des micro-parcelles	
Figure 15 : bac jaune Figure 16 : Identification des pucerons à l'aide d'une loupe binoculaire	
Figure 17 : Etapes de la méthode ELISA directe	41
Figure 18: Dispositif des traitements pour pré culture.	42

Figure 19: Kit de sérum (PVY) (SYDIAC)43
Figure 20 : broyage des échantillons de feuilles de pomme de terre44
Figure 21 : Dépôt des anticorps
Figure 23 : Lavage des plaques ELISA
Figure 24 : Dépôt des anticorps conjugués
Figure 25 : Incubation des plaques à 37°C46
Figure 26 : Dépôt du substrat47
Figure 27: Evolution des pucerons ailés au niveau des bacs jaunes49
Figure 28: rendements des différents traitements de la variété Spunta51
Figure 29: rendements des différents traitements de la variété Désirée51
Figure 30: Production des différents traitements pour la variété Spunta
et Désirée52
Figure 31 : Taux d'infection des différents traitements
Tableau 01 : Principaux virus de la pomme de terre et modes de transmission20
Tableau 02 : Caractéristiques épidémiologiques des virus de la pomme de terre
transmis selon le mode non-persistant ou persistant22
Tableau 03: Dispositif des traitements. 35 Tableau 04: Calendrier des traitements réalisés. 37
Tableau 05 : Protocole d'échantillonnage des tubercules pour pré culture42
Tableau 06 : Calcul des moyennes du rendement de la variété Spunta53
Tableau 07 : Analyse de variance du rendement de la variété Spunta53
Tableau 08 : Calcul des movennes du rendement de la variété Désirée53

Tableau 09 : Analyse de variance du rendement de la variété Désirée54
Tableau 10 : Calcul des moyennes du taux d'infection pour la variété Spunta 55
Tableau 11 : Analyse de la variance du taux d'infection pour la variété Spunta56
Tableau 12 : Calcul des moyennes du taux d'infection pour la variété Désirée56
Tableau 13 : Analyse de la variance du taux d'infection pour la variété Spunta56

INTRODUCTION

(Solanum tuberosum) constitue La pomme de terre une des premières ressources alimentaire au monde. Cette espèce végétale dont l'origine se trouve dans la Cordillère des Andes s'est propagée à travers tous les continents sans exception. Elle est cultivée du Nord au Sud aussi bien dans les régions tempérées que dans les régions tropicales ou équatoriales, donc dans les conditions agro-écologiques les plus diverses. En 2012, la production totale était estimée par la FAO à plus de 368,4 millions de tonnes (FAOSTAT, 2012). Sa culture nécessite néanmoins l'application d'un techniques parfois ensemble de compliquées financièrement peu accessibles pour un grand nombre de producteurs dans les pays en développement. Ainsi, les rendements nettement inférieurs des pays en développement comparés à ceux obtenus dans les régions dites « développées » s'expliquent, notamment, par le manque d'accès aux semences de qualité, aux pesticides et aux techniques modernes stockage. Pourtant la pomme de terre est souvent considérée, dans ces régions, comme un produit rémunérateur pour le producteur; elle participe au développement rural grâce à l'emploi et aux ressources qu'elle génère. Dans les pays développés et notamment en Europe de l'Ouest, tout en demeurant une spéculation importante et une des bases de l'alimentation, cette production possède généralement une valeur économique faible au départ de l'exploitation : l'offre abondante pèse énormément sur les prix accordés au producteur. Si cette situation peut être expliquée en partie par l'augmentation des surfaces cultivés au cours de ces 20 dernières années, il faut surtout insister sur l'accroissement rapide des rendements moyens développement à l'application obtenus grâce au et des techniques

modernes de culture (Struik et al., 1997). Outre l'emploi de semences de qualité, ces techniques font appel aux produits de protection des cultures et aux engrais minéraux notamment azotés. Si l'utilisation de ces intrants permet effectivement d'accroître la production tant en quantité qu'en qualité, leur usage fréquemment abusif est économiquement préjudiciable pour le représente producteur mais aussi un risque pour la sécurité environnementale et alimentaire. Citons par exemple les phytosanitaires « de sécurité » employés à l'égard du mildiou (Phytophthora Mont. De Bary) ou contre d'hypothétiques dégâts de pucerons en culture de pomme de terre de consommation. Citons aussi les exigences de qualité de présentation ou de transformation toujours plus strictes imposées par la grande distribution ou les usines de transformation qui contribuent à accentuer dans une certains mesure la pression sur le producteur pour l'emploi d'intrants visant le respect de ces exigences: c'est le cas par exemple de l'application en quantité élevée d'azote minéral pour l'obtention d'une fraction suffisante de gros calibres (55+) dans la récolte destinée à l'industrie ou de l'emploi de fongicides pour limiter la présence de gale argentée (Helminthosporium solani Dur. Et Mont) sur la peau des tubercules destinés à la vente en frais dans les grandes surfaces (valeur de présentation des tubercules lavés). Les exigences de qualité systèmes de production de imposées dans les plants ou semences nécessitent aussi l'emploi de pesticides en quantité élevée : dans ce domaine, il s'agit principalement des insecticides et huiles minérales (lutte contre les maladies d'origine virale), les virus de la pomme de terre transmis par pucerons et par contact peuvent réduire les rendements de 5 à 40% pour les virus (PVX, PVM et PVS) et des pertes allant jusqu'à 90%, pour le virus de l'enroulement PLRV et les infections mixtes de virus PVX-PVY) (Salazar, 1987).

Dans le cadre de la lutte contre la transmission des virus non persistants, une alternative à l'emploi des insecticides consiste en l'utilisation des huiles minérales paraffiniques.

L'objectif de notre travail consiste à vérifier l'efficacité de lutte contre la dissémination du virus Y à base des huiles minérales paraffiniques dans les parcelles de multiplication de pomme de terre par :

- La mise en place de l'Essai.
- Les notations en végétation.
- L'évolution des captures des pucerons ailés au niveau des bacs jaunes
- L'analyse sérologique DAS-ELISA pour les tubercules récoltés.

CHAPITRE 1 POMME DE TERRE ET PROBLEME DE DEGENERESCENCE

1-1- Multiplication de la pomme de terre et dégénérescence

La pomme de terre est une culture à multiplication végétative dont l'organe de propagation est le tubercule, bouture de tige sur le plan anatomique. La multiplication végétative permet de fixer les génotypes intéressants et de produire ainsi de façon clonale un matériel de qualité les conditions de culture demeurent stables constant si (forme tubercules, couleur de la peau, aptitude culinaire, cycle végétatif......) Cette uniformité de la qualité de la production dans le temps est devenue un pré requis indispensable dans le monde industrialisé où les standards de qualité et d'utilisation sont strictement définis. Par contre, dans d'autres pays où cette uniformité de la production n'est pas encore une exigence primordiale, l'utilisation de graines (TPS, True Potato Seeds) comme matériel de départ pour la propagation est encore d'actualité et tend même parfois à se développer. Mis à part le défaut d'homogénéité de la récolte (ségrégation importante des caractères en F1, toutefois en partie contrôlée l'application de techniques spécifiques), l'emploi de graines comporte des avantages non négligeables dont le maintien du bon état sanitaire du matériel de propagation initial (les graines sont réputées être exempte de la plupart des pathogènes, principalement viraux, pouvant affecter la plante), la facilité de conservation, de transport......(Simmonds, 1997)

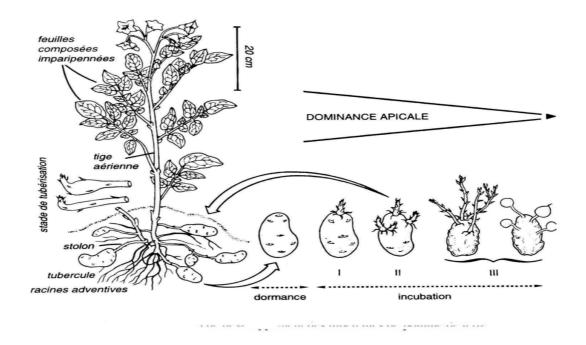


Figure 1. Cycle de la pomme de terre (Anonyme, 1996)

Dans le cas de la multiplication végétative, voie classique de propagation, la plus grosse difficulté réside dans la propriété des tubercules à accumuler et transmettre à la génération suivante des maladies virales, fongiques ou bactériennes, affaiblissant ainsi progressivement le potentiel de croissance de la plante et donc la production elle-même. Afin de lutter contre ce phénomène dit de « dégénérescence » progressive, la meilleure technique consiste en l'injection régulière de semences (plants) possédant un bon état la filière de production. L'obtention de ces sanitaire dans semences en œuvre d'un ensemble de pratiques nécessite la mise visant conservation d'un état sanitaire adéquat au fil de leur multiplication. La production de matériel semencier est donc organisée à travers systèmes strictement définis et contrôlé. Ils sont basés sur une multiplication et une sélection clonale et généalogique opérées au départ d'un ou de plusieurs tubercules sains. Grâce à leur puissance de multiplication et à la sécurité sanitaire qu'elles procurent, les techniques in vitro de production du matériel initial font aujourd'hui partie intégrante de la plupart des schémas de multiplication mis au point à travers le monde (Rolot, 2005). La figure 02 présente le schéma de production de semence de pomme de terre. A chaque niveau de production correspondent des normes ou tolérances

sanitaires (virus, bactéries, champignons), de pureté variétale, de vigueur de croissance, de calibre...

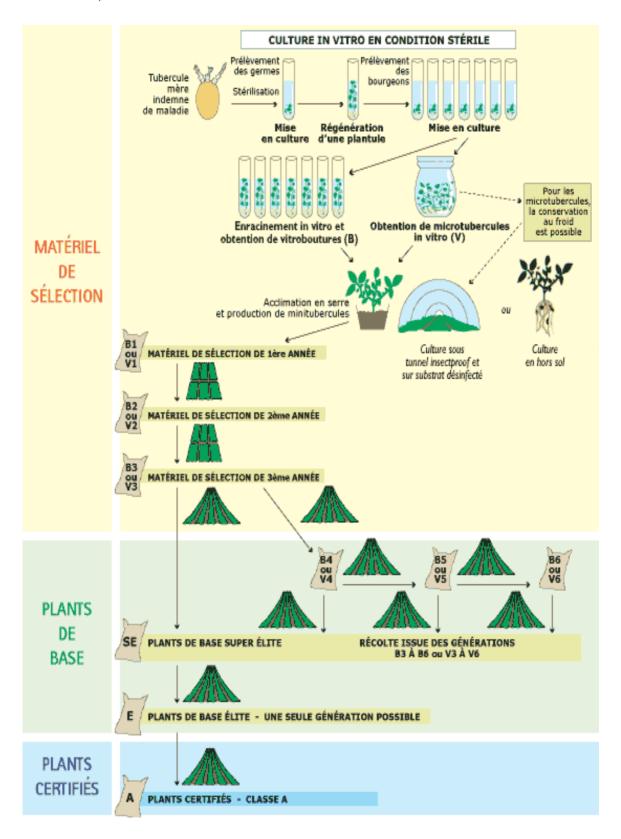


Figure 02 : Schéma de production de semence de pomme de terre (Anonyme 2013 a)

Parmi les agents pathogènes susceptibles de réinfecter le matériel initial une fois transféré en plein champ, les phytovirus sont fréquents et potentiellement très dommageables (Reestam, 1970 et Van der Zaag, 1987) ont montré que des réductions de rendement de l'ordre de 50% peuvent être provoquées par l'infection généralisée d'une parcelle par les virus en engendrant des désordres physiologiques grave comme la souche ordinaire du virus Y (PVY°, Potato Virus Y°) ou le virus de l'enroulement (PLRV, Potato Leaf Roll Virus). Ces réductions peuvent encore être plus importantes dans le cas d'infections combinées de différents virus.

1-2- Virus de la pomme de terre et dissémination

1-2-1- Modes de dissémination

Les principaux virus de la pomme de terre et les modes de transmission sont présentés dans le tableau 01 ci après.

Tableau 1 : Principaux virus de la pomme de terre et modes de transmission (Van der Vluget et Van der Heuvel, 2001)

Virus ou viroîde	Mode de transmission						
	Genre	Contact	Puceron	Champignon	Nématodes	Autres	Graine
PLRV (Potato Leaf Roll Virus)	Polerovirus	-	+	-	-	-	-
PVA (Potato Virus A)	Potyvirus	+	+	-	-	-	-
PVM (Potato Virus M)	Carlavirus	+	+	-	-	-	-
PVX (Potato Virus X)	Carlavirus	+	+/-	-	-	-	-
PVY (Potato Virus Y)	Potyvirus	+	+	+	-	-	-
PAMV (Potato Aucuha Mosaic Virus)	Potexvirus	+/-	+/-	-	-	-	-
PMTV (Potato Mop Top Virus)	Pomovirus	+	-	-	-	-	-
TNV (Tobacco Necrosic Virus)	Necrovirus	+	-	+	-	-	-
TRV (Tobacco Rattle Virus)	Tobravirus	+	-	+	+	-	-
TBRV (Tobacco Black Ring Virus)	Nepovirus	+	-	-	+	-	+
APLV (Andean Potato Latent Virus)	Tymovirus	+	-	-	-	-	-
TSWV (Tomato Spottled Wilt Virus)	Tospovirus	+	-	-	-	Coléoptère	+
PVT (Potato Virus T)	Trichovirus	+	-	-	-	Thrips	Incertain
PYDV (Potato Yellow Dwarf)	Rhabdovirus	+	-	-	-	Cicadelles	Incertain
PSTVD (Potato Spindle Tuber Viroid)	-	+	-	-	-	-	+

⁺ Transmission positive

_ Transmission négative

1-2-2- Principaux types de transmission par pucerons

Le phénomène de transmission du virus d'une plante à l'autre par un puceron peut être décomposé en quatre périodes distances, selon Rolot (2005):

- La période d'acquisition correspondant au temps nécessaire au puceron pour prélever le virus une plante malade.
- La période de latence correspondant au délai nécessaire pour qu'un puceron acquière un virus devienne capable de transmettre à une nouvelle plante.
- La période d'inoculation correspondant au temps nécessaire au puceron pour transmettre le virus à la plante.
- La période de rétention correspondant au temps durant lequel le puceron reste capable de transmettre un virus après l'avoir prélevé sur une plante saine.

Sur base de ces différents paramètres, les virus transmis par les pucerons ont été classé en virus de type persistants, semi-persistants ou non persistants. Le tableau 2 renseigne les principales caractéristiques des deux grands groupes de virus de la pomme de terre transmis par les pucerons, les virus non persistants (*PVY*, *PVA*, *PVM*, certaines souches de *PVS*) et persistants (*PLRV*).

Tableau 2 : Caractéristiques épidémiologiques des virus de la pomme de terre transmis selon le mode non-persistant ou persistant (Struk et Wiersema, 1999 et Lecoq, 1996)

Caractéristiques	Virus persistants	Virus non persistants
Longueur de la période d'acquisition	Minutes à heures	Secondes à minutes
Partie de la plante où le virus est prélevé	Phloème	Parenchyme
Longueur de la période de latence	Heures à jours	Quelques secondes
Longueur de la période d'inoculation	Heures	Secondes
Longueur de la période de rétention	Toute la vie	Minutes à heures
Comportement du virus dans le puceron	Virus circulant (organes digestifs, hémolymphe, salive)	Virus affectant uniquement les stylets, perdus dés que le puceron procède à une nouvelle piqûre
Distance sur laquelle peut être transporté le virus	Longue	Courte
Délai pour qu'une plante nouvellement infectée devienne à son tour une source d'infection	1 à 3 semaines	1 à 3 semaines
Délai pour la translocation du virus du feuillage vers les tubercules	1 à 5 semaines	1 à 5 semaines

CHAPITRE 2 LE VIRUS Y DE LA POMME DE TERRE (*PVY- POTATO VIRUS Y*)

2-1- Description

Le virus Y appartient à la famille des *Potyviridae* dont les membres sont nombreux (**King et al., 2011**). Dans cette famille, les virus sont caractérisés par une forme en bâtonnets flexueux d'environ 11-12 nm de diamètre et 680-950 nm de longueur (**Stevens, 1983**), leur structure est constituée d'une capside protégeant l'acide nucléique viral sous forme d'ARN (Figure 3)



Figure 03: Particule du virus Y de la pomme de terre (Friedland et al., 2008).

2-2- Symptomatologique et gamme d'hôtes

Le virus peut se propager dans la plante entière et produite une infection généralisée dite aussi infection systémique, on parle alors de mouvement à longue distance (Astier et al., 2001). La généralisation du virus à l'ensemble de la plante provoque des perturbations métaboliques conduisant à l'expression des symptômes variés (Kummert et al., 2001). Les virus provoquent chez les plantes sensibles différentes modifications au niveau des feuilles et des fruits (Hollings et al., 1981, Astier ett al., 2001)

La symptomatologie est à l'origine de la description des maladies virales : par convention, le nom du virus a été choisi en fonction des symptômes qu'il provoque sur la plante chez laquelle le virus a été observé la première fois.

Le virus Y de la pomme de terre est l'un des virus les plus dangereux et répandus dans le monde. Le danger réside aussi dans la discrétion de certains de ces symptômes et donc de la difficulté d'épurer les cultures des plantes atteintes (**Kerlan, 1996**). Les symptômes les plus fréquents associés au virus Y sont des mosaïques foliaires, généralement accompagnées de frisolées, parfois de nécroses. En fait les réactions dépendent du type de souches virales, de la variété, du caractère primaire et dans ce cas de la précocité de l'attaque ou secondaire de l'infection, ainsi bien que des conditions d'environnement.

Les symptômes de l'infection primaire (symptôme de bigarrure) sont des nécroses brunes se développent le long des nervures sur les deux faces de la feuille (Figure 4). La maladie évolue en taches nécrotiques, qui gagnent les tissus internes vairés ainsi que les pétioles et la tige. Les feuilles se dessèchent et pendent le long de la tige.



Figure 04 : Symptôme de bigarrure sur feuilles de pomme de terre (Anonyme 2013 b).

Les symptômes de l'infection secondaire (symptôme de frisolée) sont nettement plus marqués : une mosaïque s'installe sur les feuilles, des déformations telles qu'ondulations, gaufrages ou des cloquages (Figure 5).



Figure 05 : Symptôme de frisolée sur feuilles de pomme de terre (Anonyme 2009).

La variation des symptômes dépend des facteurs du milieu et de la variété; le *PVY* est sensible aux variations de température et réagit entre 10 et 26°C. Dans les essais variétaux, le virus Y nécrotique provoque 20% des variétés de nécroses sur les tubercules (Figure 6) **(Staubli, 2004)**.



Figure 06 : Nécroses annulaires superficielles (PVY) (Staubli, 2004)

Le virus Y peut infecter de très nombreuses espèces dans 30 familles différentes (**Astier et al, 2001**). En condition naturelles, le virus est disséminé par les pucerons, soit à partir des cultures de pomme de terre (plants ou autres), soit à partir d'autres plants hôtes du virus Y.

2-3- Rôle des pucerons dans la dissémination du virus

<u>2-3-1-Comportement alimentaire des pucerons et transmission des virus</u>

Les pucerons, insectes homoptères phytophages, disposent pour nourrir d'un système buccal adapté au prélèvement de sève dans vaisseaux du phloème des plantes. Ce comportement de piqueur et de suceur est possible grâce à la présence de stylet. Le processus transmission des virus aux végétaux n'est certainement qu'un phénomène passif où le puceron agirait comme une sorte « d'aiguille volante » (Lecoq, 1996). Quelque heures après sa dernière mue et si les conditions lui sont favorables (température suffisante, pas de pluie, vent faible), le puceron s'envole attiré vers les courtes longueurs d'onde provenant de la luminosité du ciel. Il s'élève de quelques mètres jusqu'à ce que cette attirance soit contrebalancée par le spectre de lumière réfléchi par la végétation (longueur d'onde >500 nm). A ce moment, et si les conditions de vol le permettent (vitesse du vent faible), il entame un vol horizontal plus au moins long (vol migratoire horizontal dans les basses couches de l'atmosphère (Taylor 1965, 1974). Des mécanismes sensoriels, visuels ou olfactifs, guident le puceron vers sa «cible» (Klingauf 1987a-1987b, Niemeyer 1990, Loxdale 1993). Une fois posé sur la plante, le puceron exécute une série de tests de reconnaissance grâce à des récepteurs placés sur divers organes (article apical du rostre, extrémité des stylets, antennes, tarses,.....). C'est la piqure d'essai au cours de laquelle le virus peut être acquis ou transmis à la plante. Collar et al. (1997) ont montré que l'efficacité de l'acquisition du virus est d'autant plus grande que la durée de la piqûre d'essai est courte. Dans la plupart des cas, le puceron se déplacera vers d'autres plantes même si les premières visites constituent une espèce hôte. Il accomplit à ce moment un vol au niveau de la strate foliaire, dénommé vol trivial. Ce comportement est éminemment favorable à la dissémination des virus transmis selon le mode non persistant (Figure 7).



Figure 07: Transmission du PVY selon le mode non persistant (Anonyme 2011 a).

2-3-2-Espèces de pucerons et efficacité pour la transmission

Le type de transmission du virus détermine une part importante de sa dynamique de dissémination dans les cultures. Le PVY est transmis par le mode non persistant par *Myzus persicae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Aphis nasturtii*, *Aulacorthum solani*), *M. ascalonicus*, *Rhopalosiphoninus latysiphon* (**Robert et al., 2000 Rouzé-Jouan, 2000 et De Bokx, 1972**) Halbert et al., 2003, et Verbeek et al., 2010).

2-3-3-Biologie et écologie des principales espèces vectrices du virus

Les pucerons constituent un groupe d'insectes extrêmement répandu dans le monde. Plus de 4700 espèces ont été recensées (**Hullé et al.**, **1999**), parmi eux :

- Myzus persicae: le puceron vert du pêcher, est un petit puceron qui accomplit son cycle soit sous forme holocyclique dioecique (hôte primaire du genre *Prunus*, hôtes secondaires herbacés nombreux), soit de façon anholocyclique lorsque le climat lui permet de survivre à l'hiver par parthénogénèse. Dans le cas de l'holocyclie, les œufs éclosent généralement au début du printemps jusqu'à la fin avril : les premières générations sont produites sur l'hôte primaire et les premiers ailés quittent alors les *Prunus* entre la mi-avril et la fin juin pour aller coloniser des hôtes herbacés secondaires cultivés ou sauvages (Rolot, 2005) (Figure 8).



Figure 08 : Myzys persicae adulte ailé (Anonyme 2012)

Aphis gossypii: Il est anholocyclique hiverne donc sous forme d'individus parthénogénétiques. Il est extrêmement polyphage et il est réputé pour être capable de transmettre un grand nombre de virus pathogènes à de nombreuses espèces végétales. Dans les cultures de pommes de terre, il transmet le virus Y de manière relativement efficace (Gabriel, 1975, Ferreres et al., 1993, Raccah et al., 1985) et il est également apte à la transmission du virus de l'enroulement (PLRV) (Singh et al., 1988) (Figure 9).



Figure 09: Aphis gossypii (Anonyme 2011 b)

- *Macrosiphum euphorbiae* (Figure 10) ou puceron vert et rose de la pomme de terre est un puceron de grande taille. Il accomplit généralement un anholocycle, ce qui signifie qu'il se maintient par

parthénogénèse durant la mauvaise saison sur des plantes herbacées ou même arbustives. C'est une espèce extrêmement polyphagie mais solanacées, dont la pomme de terre, constituent des hôtes les préférentiels. Il migre donc sur la pomme de terre durant les mois de mai et juin et il peut y avoir un vol de dissémination au milieu de l'été. Le taux d'infestation de la pomme de terre dépend pour une grande part du taux de survie de l'espèce durant l'hiver : en effet, son anholocyclie le rend sensible aux conditions hivernales (Taylor et al., **1982**). Des colonies importantes sur le sommet des tiges de pommes de terre peuvent provoquer le phénomène du « top-roll » soit un enroulement des feuilles du sommet résultant des nombreuses piqûres d'alimentation. Il est le vecteur de plus de 50 virus selon le mode persistant ou non persistant. Dans les parcelles de pommes de terre, il est capable de transmettre le virus Y mais aussi celui de l'enroulement (Tamada et al., 1984, Harrington et al., 1986, Piron, 1986 et Derron et al., 1990).



Figure 10: Puceron Macrosiphum euphorbiae (Anonyme 2001)

2-4- Les huiles minérales

Les huiles paraffiniques sont préférées pour le traitement des végétaux aux huiles naphténiques (phytotoxiques) ou aromatiques (toxiques, phytotoxiques et peu stables). La structure linéaire de la paraffine, sans doubles liaisons, est assez stable et peu phytotoxique. Le nombre d'atomes de carbones dans la chaine détermine la viscosité de l'huile. **De Wijs et al.** (1979) ont montré que la viscosité est un caractère important pour son efficacité : toutefois, si la chaîne devient trop longue (nombre de

carbones supérieurs à 25), des problèmes de phytotoxicité peuvent surgir (Walsh, 2000). Le degré de raffinage de l'huile paraffinique conditionne la phytotoxicité qu'elle pourrait développer sur les végétaux : le degré de non sulfonation de l'huile paraffinique, c'est à dire la proportion de l'huile paraffinique n'ayant pas réagi en présence d'acide sulfurique est un indicateur de cette qualité. Un indice USR (Unsulfonated Residue) d'au moins 92% est recommandé pour une application sur végétaux (Walsh, 2000). C'est en 1962 que Bradley et al. ont, pour la première fois, montré l'action des huiles sur la transmission du virus Y de la pomme de terre. Depuis, l'utilisation des huiles paraffiniques pour lutter contre la dissémination des virus non persistants, dont le virus Y dans les cultures de plants de pommes de terre, s'est développée de manière plus ou moins intensive dans le monde. Si elles constituent, depuis 15 ans, un moyen basique de lutte contre le virus Y dans les cultures de plants dans certains pays de l'Europe.

Parmi les raisons invoquées pour ne pas utiliser les huiles minérales, on peut citer : le risque de phytotoxicité, surtout lors d'applications par temps chaud et sec, la nécessité de répéter, à intervalles courts, les applications d'huiles étant donné leur faible rémanence et l'obligation de protéger les nouvelles feuilles formées, la non compatibilité des huiles avec certains fongicides, étant donné le gain obtenu au niveau de la protection, les techniques culturales ont été adaptées pour minimiser ces inconvénients (Rolot, 2005).

Le mécanisme impliqué dans le contrôle des processus de transmission des virus non persistants par les huiles n'est pas encore complètement connu. L'acquisition et l'inoculation semblent être affectées avec une action apparemment plus importante au niveau de l'acquisition (Simons et Zitter, 1980). L'huile a peu d'effet au niveau du comportement alimentaire des pucerons. Le nombre de piqûres d'essai sur des feuilles traitées aux huiles n'est pas différent de celui exécuté sur des feuilles non traitées. Le temps séparant l'arrivée du puceron sur une feuille traitée et la piqûre est néanmoins allongé : la présence d'huile à la surface de la feuille gêne vraisemblablement le puceron pour trouver de bonnes assises pour insérer ses stylets dans les cellules épidermiques ou empêche une exploration normale en polluant les organes sensoriels du puceron au niveau du labium, des antennes ou des tarses (Powell, 1992). Mais l'effet le plus important de l'huile pourrait se situer au niveau de l'accrochage des particules virales sur les parois des stylets : en utilisant

une technique de radiographie sur des particules virales marquées, **Wang et Pirone** (1996) ont mis en évidence une interférence entre l'huile minérale et la rétention du virus dans les stylets, ce qui pourrait empêcher l'acquisition du virus lors des piqûres d'essais.

CHAPITRE 1

MATERIELS ET METHODES

1-1- Aire géographique englobée par l'étude

L'essai a été mené au cours des années 2012-2013 dans la région agricole Guellal (SAGRODEV; société agro développement) de la Wilaya de Sétif (Société spécialisée dans la production de semence pré base de pomme de terre) (Figure 11).

La plantation a été réalisée à partir du 10 Aout 2012, les levées sont enregistrées 3 à 4 semaines après la plantation.



Figure 11: L'aire géographique de Guellal (Sétif) (Anonyme, 2013 c)

1-2- Données climatiques de la région

La région de Sétif se situe dans l'étage bioclimatique, semi-aride à hiver frais, elle est caractérisée par :

- Une période sèche qui s'étale du mois de Juin jusqu'au le mois d'Aout.
- Une période humide qui s'étale du mois de Septembre jusqu'au le mois de Mai.

A- Températures

La région de Guellal caractérisée par la présence de deux périodes :

 Une période chaude allant du mois de Mai à Septembre où les mois de juillet et Août sont les plus chauds avec des températures moyennes de 24,97 °C et 25,89 °C respectivement

 Une période froide qui s'étale du mois d'Octobre jusqu'à Avril où la température moyenne la plus basse est de 5,79 enregistrée durant le mois de Janvier.

B- la pluviométrie (P/ mm)

Les données pluviométriques ont montré que les mois d'Avril, Mai et Septembre sont les plus pluvieux de l'année, par contre le mois de Juillet étant le mois le plus sec.

C- l'humidité relative de l'air (HR%)

L'humidité de l'air la plus élevée est enregistrée durant le mois de Décembre et la moyenne la plus basse est enregistrée au cours du mois de Juillet.

D- le vent

Le vent est très fréquent pendant toute l'année et la vitesse maximale est enregistrée au mois d'Avril.

E- les gelées

Nous notons une moyenne de 50,96 jours de gelée par an, s'étendant d'Octobre à Mai.

1- 3- Protocole d'essai

1-3-1- Dispositif expérimental

• Type d'essai : En plein champ.

• Dispositif : Bloc aléatoire complet à 04 répétitions.

• Essai porte : 04 objets (traitements).

1-3-2- Mise en place de l'essai

- Surface micro parcelle : 15 m².
- Nombre de Billons : 5.
- Longueur des billions : 4 m.
- Espace entres billions: 0,75 m.
- Nombre de micro parcelles : 16.
- Surface totale de la parcelle : 240 m².
- Espace entre micro parcelles : 1 m.
- Espace entre les blocs : 2 m.
- Distance de plantation dans les billons : 25 cm environ ; 80 plants par unité expérimentale.
- Variétés utilisées : Spunta et Désirée
- Classe : G0 (Minitubercules)
- Nombre des mini tubercules par micro parcelle: 80 (total: 3840 Minitubercules).

Les micro-parcelles de l'essai sont plantés à l'aide des lots de minitubercules G0 des variétés Spunta et Désirée (taux de tolérance des viroses est de 0%).

Les unités expérimentales sont de dimensions de (5 lignes de 4m). Les lignes sont espacées de 0,75m et la distance de plantation dans les lignes est de 0,25 m : environ 16 touffes composent chacune des lignes dans les unités expérimentales.

Dans la mesure du possible les plantations se déroulent au même moment, et la protection débute lorsque 30% des plantes sont levées dans l'essai. La protection est appliquée au cours de la même journée.

Les cultures ne sont pas épurées de manière à promouvoir la dissémination de l'infection dans l'essai.

1-3-3- Dispositif de traitements

Le dispositif des traitements pour notre essai expérimental est présenté dans le tableau et la figure 12 ci-après.

Tableau 03: Dispositif des traitements

Bloc	Traitement			
BLOC A	TNT	VAZYL D1	VAZYL D2	REFERENCE
BLOC B	REFERENCE	TNT	VAZYL D1	VAZYL D2
BLOC C	VAZYL D2	REFERENCE	TNT	VAZYL D1
BLOC D	REFERENCE	VAZYL D2	VAZYL D1	TNT

Vazyl D1 : Dose normale

Vazyl D2 : Dose double

TNT: Témoin Non Traité

Référence : Produit de référence (insecticide).



Figure 12 : Dispositif expérimental en 4 blocs aléatoires complets (A, B, C et D) avec 4 répétitions

1-3-4- Traitements réalisés

Pour les traitements insecticides de référence nous avons alterné 04 matières actives (Cypermétrine, Thiaméthoxam + Lambdacyhalothrine, Imidachlopride et Deltaméthrine).

Pour l'huile minérale utilisé c'est le **Vazyl Y**: huile de vasline à 817 g/l, dose d'emploi 15 L/ha **(Anses, 2011)**.

Les traitements sont réalisés à l'aide d'un pulvérisateur porté (figure 13), en fin de la journée à partir du 18 h, ce temps est recommandé pour tous les traitements, pour une bonne efficacité du traitement, le calendrier des traitements réalisés est rapporté dans le tableau 04.



Figure 13 : Traitement manuelle des micro-parcelles

Tableau 04 : Calendrier des traitements réalisés

DATE	TRAITEMENTS REALISES	VOLUME D'EAU UTILISE	OBSERVATIONS	FONGICIDES REALISES
10.08.12	Plantation			
24.08.2012	T1	13 L	30% de levée	Le 16.09.12, Manèbe 01Kg/ha Le 20.09.12 traitement herbicide
27.08.2012	T2	13 L	70% de levée	Le 26.09.12, Monco M 2,5 kg/ha
01.09.2012	Т3	13 L	100% de levée	Le 07.10.12, Melody duo 01 Kg/ha
08.09.2012	T4	14 L		Le 17.10.12, Morfus 2 L/ha
15.09.2012	T5	16 L		Le 21.10.12, Consonto 02 L/ha
17.09.2012	1 ^{er} buttage			
22.09.2012	Т6	32 L		Le 31.10.12, Révus 02 L/ha.
29.09.2012	Т7	32 L		Le 06.11.12, Manèbe, 01 Kg/ha
30.09.2012	2 ^{ème} buttage			
06.10.2012	Т8	32 L		
13.10.2012	Т9	32 L	Pluie réalisé le 14.10.12	
20.10.2012	T10	32 L		
27.10.2012	T11	32 L		
03.11.2012	T12	32 L	Pluie réalisé le 04.10.12	
10.11.2012	T13	32 L	Dernier traitement (attaque sévère de la gelée)	

Nous signalons également que le nombre des traitements réalisés est de 13 et ce à cause de l'attaque sévère de la gelée induisant la destruction totale des plants (brulures et défanage) vers la fin du cycle de la culture.

La récolte était le 14 Novembre 2013.

1-3-5- Notations en végétation

Des notations ont été effectuées sur la végétation de cet essai dès la première semaine de la réalisation des traitements et durant tout le cycle de la culture, par diagnostic symptomatologique concernant :

- L'aspect général de la plante.
- La présence ou l'absence des pucerons sur le feuillage (figure 14).



Figure 14 : Diagnostic symptomatologique en végétation des micro-parcelles

1-3-6- Procédure de récolte et production réalisée

La récolte de l'essai a eu lieu le 14.11.2012 et elle a été réalisée manuellement, l'identification est faite par variété, blocs et sillons.

La production récoltée a été triée et pesé avant le stockage au niveau de l'entrepôt frigorifique Sagrodev (chambre I)

1-4- Dynamique de l'activité des populations de pucerons:

L'activité des populations de pucerons ailés au niveau des parcelles de multiplication constitue un des facteurs principaux de la diffusion des infections à virus dans les cultures de pomme de terre. La mesure de cette activité est donc nécessaire pour comprendre ou expliquer au moins une partie des phénomènes d'infection.

Dans le cas d'étude épidémiologiques des virus non persistant tel que le virus Y, c'est la fraction ailés de pucerons qui s'avère la plus intéressante.

Les techniques de mesures visent à donner une indication plus générale de l'abondance des pucerons au niveau de la parcelle.

Ces informations peuvent être obtenues par la capture d'échantillons des populations ailées de pucerons dans des systèmes de capture par bac jaune contenant de l'eau additionnée d'un mouillant (Moerick, 1950), disposé au niveau de la parcelle. Les pucerons attirés dévient leur vol pour y atterrir et rester piégés, incapable de reprendre leurs vols en raison du mouillant.

La méthode de travail est la même pour les deux saisons de culture. Le dispositif est mis en place en Aout 2012 pour la culture d'arrière saison avec deux pièges au niveau de l'essai expérimental et en Mars 2013 pour la culture de pomme de terre de multiplication de la SAGRODEV de saison 2013 avec 13 pièges (Bac jaune à une hauteur de 70 cm du sol) (Figure. 15).



Figure 15: Bac jaune

Les prélèvements sont effectués une fois par semaine, les pucerons récoltés à l'aide d'une pince sont placés directement dans des tubes à essai contenant de l'alcool à 70°.

Les échantillons prélevés sont ensuite étiquetés puis ramenés au laboratoire où ils sont grossièrement triés des autres insectes.

L'identification des pucerons récoltés a été réalisée au niveau du laboratoire de contrôle phytosanitaire de la SAGRODEV et le laboratoire de zoologie de l'Université de Blida, sous loupe binoculaire et des clés d'identifications (figure 16)



Figure 16 : Identification des pucerons à l'aide d'une loupe binoculaire

1-5-Dépistage des maladies virales sur tubercules récoltés par la technique sérologique :

L'Enzyme_Linked Immunosobent Assay (ELISA) décrite pour la détection des virus de plantes par Clark et Adams en 1977, a révolutionné le diagnostic en virologie végétale. Elle permet de s'affranchir des incertitudes liées à l'étude des symptômes et d'affirmer qu'une plante est effectivement infectée par un virus. Cette technique est très sensible et permet de détecter entre 1 à 10 ng de virus par ml de broyat (de feuille ou de fruits), selon le virus considéré (Astier et al, 2001).

Les techniques ELISA sont généralement les plus utilisées, elles sont polyvalentes, se prêtent généralement bien aux travaux de routine, elles sont automatisables et elles assurent une utilisation rationnelle et économique des anticorps et des antiséra. Il existe deux variantes du test ELISA : la méthode direct DAS ELISA et la méthode indirect TAS ELISA. Dans notre cas, nous avons utilisé la DAS ELISA.

1.5.1. La méthode directe ELISA

Elle consiste à immobilier les anticorps sur un support de polystyrène ou de polyvinyle, constitué généralement par des plaques de microtitration comportant 96 puits. On dépose ensuit l'extrait contenant les antigènes viraux (échantillons à tester) qui seront fixés aux anticorps homologues. Par la suite, on dépose les anticorps marqués avec un enzyme (généralement la phosphatase alcaline) qui se fixeront à leur tour sur les antigènes spécifiques.

La quantité d'enzyme retenue est estimée après addition d'un substrat formant un produit coloré par réaction d'hydrolyse, permet un contrôle visuel aisé de la présence ou de l'absence d'antigène dans l'échantillon. De plus, comme la quantité d'enzyme fixée est proportionnelle à la quantité d'anticorps immobilisés, la mesure quantitative de l'antigène est réalisable par l'analyse colorimétrique. (Figure 17)

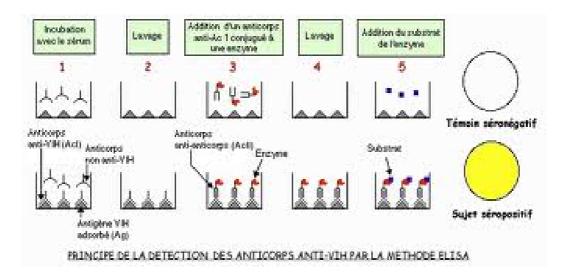


Figure 17 : Etapes de la méthode ELISA directe.

1.5.2. Echantillonnage des tubercules récoltés pour test de pré culture :

Un échantillonnage au hasard des tubercules de chaque bloc et traitement a été réalisé le 29.12.2012 pour l'essai de pré-culture. L'échantillonnage est touché principalement les tubercules du troisième sillon et complété par les tubercules du deuxième et quatrième sillons. (La production des sillons n°. 01 et 05 a été éliminée de l'essai de pré culture pour éviter l'effet des bordures).

Le nombre total d'échantillons de tubercules prélevés est de 400 tubercules pour chaque variété donc 5 échantillons à tester pour chaque traitement et chaque échantillon composé de 05 tubercules.

Le détail des échantillons prélevés est donné dans le tableau ci-après :

Tableau 05 : Protocole d'échantillonnage des tubercules pour pré culture.

Variété	Nbre bloc	Nbre traitement /bloc	Nbre échantillons à tester	Nbre échantillon/traitement	Nbre échantillon/bloc	Nbre tubercule/échantillon	Nbre total tubercules prélevés
Spunta	04	04	48	05	20	05	400
Désirée	04	04	48	05	20	05	400
Total	08	-	96	-	-	-	800

La plantation des tubercules échantillonnés après prégermination a été réalisée le : 20 Mai 2013 dans des pots en plastique (avec une densité de 05 tubercules par pot) au niveau d'une salle fermée et caractérisée par une lumière suffisante, le dispositif des traitements pour la plantation de la pré culture est donné dans la Figure 18.

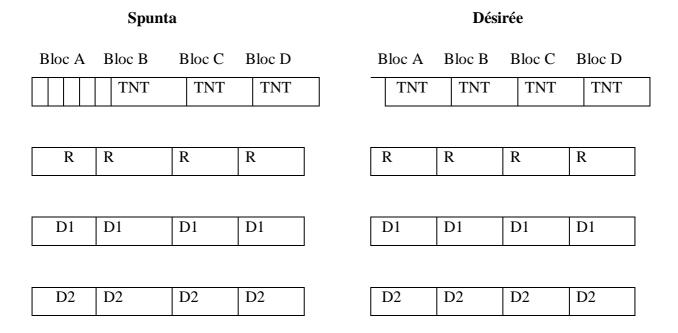


Figure 18: Dispositif des traitements pour la pré culture (TNT : Témoin Non Traité, D1 : Dose simple de l'huile minérale, R : Insecticide de référence et D2 : Dose double de l'huile minérale).

Un échantillonnage des feuilles pour l'analyse sérologique est réalisé le 10 Juin 2013.

1.5.3. Les étapes de la DAS-ELISA

Le nombre des échantillons à tester était selon la disponibilité du sérum, un kit de 500 tests pour le virus Y (figure 19), ce dernier est composé de :

- Caoting (anticorps)
- Tompo du caoting
- Congugate (anticorps couplé à l'enzyme)
- Tompo du congugate
- Substrat (sous forme des pastilles)
- Tompo du substrat
- Témoin positif
- · Témoin négatif
- Tompo de de broyage
- Tompo de lavage
- Plaques de microtitration.



Figure 19: Kit de sérum (PVY) (SYDIAC)

1- Préparation des échantillons

- Broyage des feuilles échantillonnées avec un broyeur de tissus on ajoutant le tampon de broyage de l'ordre de 1 ml du tampon pour 1 g des feuilles. (Figure 20)
- chaque échantillon est mis dans un tube étiqueté et identifie.



Figure 20 : broyage des échantillons de feuilles de pomme de terre.

2- Sensibilisation des microplaques avec un anticorps spécifique

- Dilution des anticorps au 1/100 dans le tampon de fixation juste avant l'utilisation.
- Dépôt des anticorps dilués à raison de 100 μl/puits. (Figure. 21)
- Incubation des plaques couvertes avec un film plastique adhésif à 37°C pendant 2 heures.
- 3 lavages avec du PBS-Tween



Figure 21 : Dépôt des anticorps

3- Dépôt des échantillons

- Dépôt des échantillons à raison de 100µl/puits (Figure 22)
- Couverture des plaques avec un film plastique adhésif
- Incubation une nuit à 4°C.
- 3 lavages avec du PBS- Tween (figure. 23).



Figure 22 : Dépôt des échantillons



Figure 23 : Lavage des plaques ELISA.

4- Dépôt des anticorps conjugués:

- Dilution des anticorps conjugués à l'enzyme phosphatase alcaline à 1/100 dans le tampon de conjugué juste avant l'utilisation.
- Dépôt des anticorps conjugués dilués à raison de 100 μl/puits (Figure24)
- Couverture des plaques avec un film plastique adhésif.
- Incubation 2 heurs à 37° C.
- 3 lavages avec du PBS-Tween.



Figure 24 : Dépôt des anticorps conjugués.



Figure 25: Incubation des plaques à 37°C.

5- Dépôt du substrat

- Dilution de la para-nitrophénylphosphate (PNPP) dans le tampon de substrat juste avant utilisation. La concentration finale de 1 mg/ml.
- Dépôt de cette solution de 100 μl / puits (Figure 26).
- Incubation à température ambiante.
- Lecture de l'absorbance à 405 nm.



Figure 26 : Dépôt du substrat.

6- Lecture des résultats

Après une heure d'incubation, plusieurs lectures sont faites pour suivre l'évolution de la réaction enzymatique approximativement plus une lecture par le lecteur ELISA qui montre les densités optiques (DO) de chaque échantillon.

Les échantillons qui présentent une DO supérieure à trois fois la DO du témoin négatif sont considéré positifs et les DO inférieur à deux fois la DO du témoin négatif sont considérés négatifs.

CHAPPITRE 2

RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Notation en végétation

Nous avons constaté:

- l'absence de phytotoxicité du produit vazyl y soit en dose normale et/ou en dose double.
- L'absence des pucerons aptères sur les feuilles des micro-parcelles traitées par le vazyl par contre les pucerons aptères ainsi que des symptômes de mosaïque ont été présent sur le feuillage des miro-parcelles non traitées.

Discussion:

La présence ou l'absence de la phytotoxicité développé sur les végétaux est conditionnée par le degré de raffinage de l'huile paraffinique : le degré de non sulfonation de l'huile paraffinique, c'est à dire la proportion de l'huile paraffinique n'ayant pas réagi en présence d'acide sulfurique est un indicateur de cette qualité. D'après Walsh en 2000 l'indice USR (Unsulfonated Residue) d'au moins 92% est recommandé pour une application sur végétaux (Walsh, 2000).

En plus la structure linéaire de la paraffine, sans doubles liaisons, est assez stable et peu phytotoxique.

L'absence des pucerons aptères sur le feuillage peut être expliqué par la présence du vazyl Y sur la surface de la feuille. Ce dernier gêne vraisemblablement le puceron pour trouver de bonnes assises pour insérer ses stylets dans les cellules épidermiques ou empêche une exploration normale en polluant les organes sensoriels du puceron au niveau du labium, des antennes ou des tarses.

2.2. Fréquence des captures des pucerons ailés au niveau des bacs jaunes

Le nombre moyen d'individus d'ailés capturés dans les pièges pour toutes les espèces sont récoltées dès l'installation de la pomme de terre en arrière saison jusqu'à la récolte et du mois d'Avril au mois de Juin en culture de saison.

Les espèces identifiés sont les cinq espèces les plus fréquentes et régulièrement rencontrées sur pomme de terre qui sont *Myzus persicae* (Puceron vert de pêcher), *Macrociphum euphorbiae* (Puceron vert et rose de la pomme de terre), *Aphis fabae* (Puceron noire de la fêve), *Aphis nasturtii* (Puceron de Nerprun) et *Aphis gossypii* (Puceron du melon et du coton), l'espèce dominante était *M. persicae*.

Il en ressort que le nombre moyen d'individus par piège pour toutes les espèces confondues était de 130 ailés (Figure. 27).

L'analyse des résultats nous montre que l'activité du vol des pucerons est plus ou moins variable dans le temps, il ressort que les pucerons ailés sont présents dès le mois d'Avril jusqu'à la fin Novembre. Approximativement les pics de vol des populations sont enregistrés durant les mois d'Aout et Septembre (plus de 500 pucerons/bac) pendant la culture d'arrière saison et à la fin du mois de Juin pendant la culture de la saison

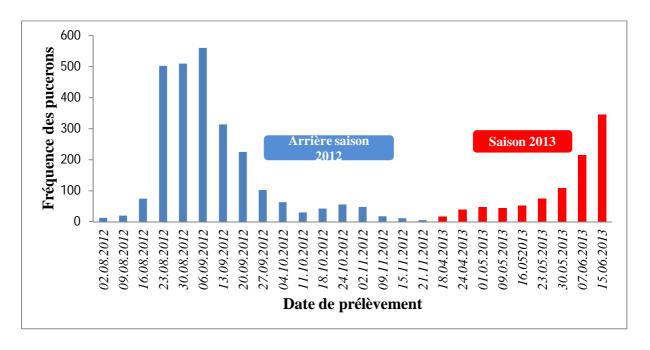


Figure. 27: Fréquence des pucerons ailés au niveau des bacs jaunes.

Discussion:

Ces fluctuations des vols peuvent être expliqués par l'indice des facteurs climatiques, les vols sont très fréquents aux températures comprises entre 20 et 30°C et sont rares lorsque l'humidité relative de l'air est supérieure à 75% et la température est inférieure à 13°C.

La fécondité des pucerons aussi dépend de la température : ainsi *M. persicae* pond plus de larves à 15 et 20°C (77 et 70 respectivement) qu'à 10 ou 25°C (35 et 20 respectivement).

La longévité des pucerons décroit aussi avec la température : ainsi *M. persicae* vie en moyenne 42 jours à 10°C, mais seulement 8 jours à 25°C.

Les pluies de fortes intensités peuvent détruire une grande proportion des populations des aptères ou ailés (Robert et al, 1978).

Les ailés ne s'envolent fréquemment que lorsque la vitesse du vent atteint 9 à 11 Km/heure.

La lumière stimule l'envol des aphides verticalement et s'ils ne sont pas attirés par la lumière. Ainsi ils commencent à voler horizontalement au dessus de la végétation (Van harten, 1974).

Le stade végétatif de la plante joue un rôle très important sur le nombre des ailés capturés, pour la culture d'arrière saison le nombre des pucerons était minime au début du mois d'Aout (13 pucerons /bac) et à la fin du mois de Novembre (5 pucerons par bac) à cause de l'absence de la végétation pour ces périodes (0% de levée pour la première semaine d'Aout et un défanage naturelle des plants à cause des gelés enregistrées dans la zone expérimentale pour la fin du mois de Novembre).

2.3. Récolte et production des différents traitements

Les rendements des micro-parcelles récoltés de chaque variété sont donnés dans les figures 28 et 29.

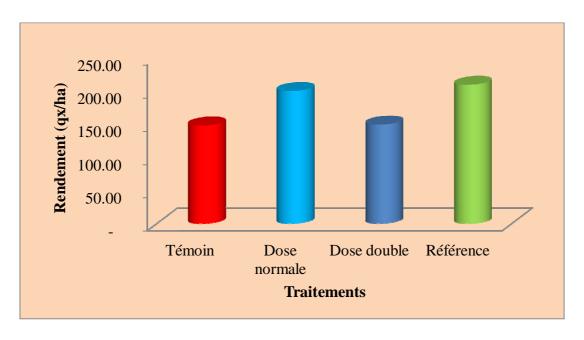


Figure. 28: Rendements des différents traitements de la variété Spunta

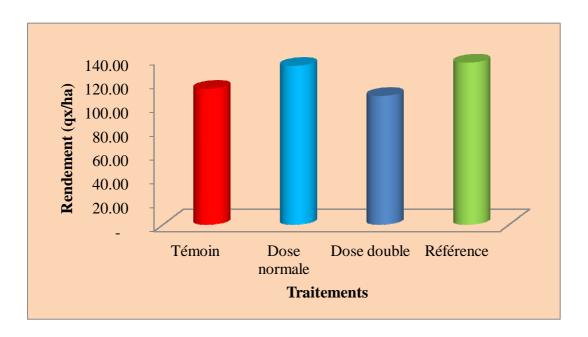


Figure. 29: Rendements des différents traitements de la variété Désirée.

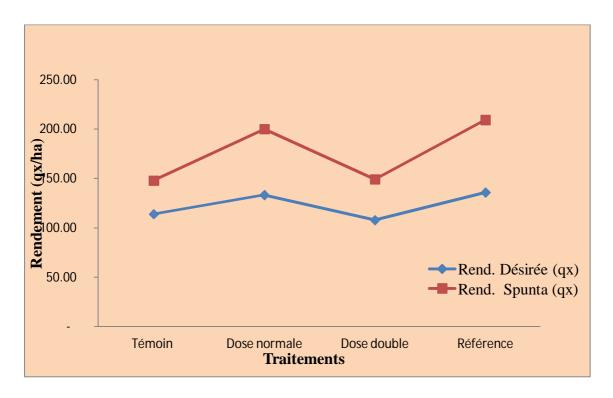


Figure. 30: Rendements des différents traitements pour la variété Spunta et Désirée.

A partir des résultats enregistrés, nous constatons que le rendement des microparcelles traitées par l'huile minérale avec une dose normale est presque le même avec le rendement des micro-parcelles traitées par l'insecticide, par contre le rendement des micro-parcelles non traitées ainsi que celles traitées par l'huile minérale à double dose ont donné des rendements minimes.

Les rendements de la variété Spunta est plus importante par rapport à celle de la variété Désirée.

Les résultats de l'analyse statistique sont consignés dans les tableaux 06, 07, 08 et 09.

Tableau 06 : Calcul des moyennes du rendement de la variété Spunta

	I	II	III	IV	Moy	TOTAL
Dose Normale	216 ,22	220,01	216,95	210,83	216,00	864,01
Dose double	168,32	167,12	180,32	164,22	170,00	679,98
Référence	255,05	268,47	266,33	258,16	262,00	1048,01
Témoin	200,01	235,05	209,1	227,84	218,00	872
Moy	209,9	222,6625	218,175	215,2625	216,5	
Total	839,6	890,65	872,7	861,05		3464

Tableau 07 : Analyse de la variance du rendement de la variété Spunta

Origine de la variance	DDL	SCE	Variance	Calculé	Théorique
Blocs	3	291,94	97,31	1,07	3,86
Traitement	3	344402,01	114800,67	1264,81	3,86
Residuelle	9	816,89	90,77		
Total	15	345510,83	114988,75		
PPDS	15,24				

Le F calculé est supérieur au F théorique donc il ya une différence significative entre les traitements.

Le PPDS (Plus Petit Différence Significatif) est supérieur a 10 donc il ya une différence entre les traitements.

Tableau 08 : Calcul des moyennes du rendement de la variété Désirée

	I	II	III	IV	Moy	TOTAL
Dose Normale	145,7	141,69	156,73	147,86	148,00	591,98
Dose double	119,55	123,67	114,85	113,91	118,00	471,98
Référence	166,25	166,63	170,12	169	168,00	672
Témoin	149,49	158,74	166,98	164,8	160,00	640,01
Moy	145,25	147,68	152,17	148,89	148,50	
Total	580,99	590,73	608,68	595,57		2375,97

Tableau 09 : Analyse de variance du rendement de la variété Désirée

origine de la variance	DDL	SCE	VARIANCE	calculé	Théorique
Blocs	3	40,57	13,52	0,36	3,86
Traitement	3	159686,79	53228,93	1424,87	3.86
Residuelle	9	336,21	37,36		
Total	15	160063,57	53279,81		
PPDS	9,78				

Le F calculé est supérieur au F théorique donc il ya une différence significative entre les traitements.

Le PPDS (Plus Petit Différence Significatif) est proche a 10 donc il ya une différence légère entre les traitements.

Discussion:

Les rendements des micro-parcelles traitées par l'huile minérale avec une dose normale et les micro-parcelles traitées par l'insecticide sont importants par rapport à celles non traitées, cette situation peut être expliqué par l'efficacité des traitements contre la dissémination du virus Y et par conséquent l'augmentation des productions.

Les faibles rendements enregistrés pour les micro-parcelles traitées avec l'huile minérale double dose peuvent être justifié par la dose importante appliquée sur le feuillage (30 L/ha). Les résultats de trois essais d'efficacité valides réalisés en France par l'ANITTA, ont montré qu'à la dose revendiquée de 15 L/ha, avec 5 à 8 applications successives à une semaine d'intervalle (Anses, 2011).

2.4. Dosage Immuno Enzymatique du PVY (résultats du test ELISA)

Les résultats de DAS-ELISA ont confirmé la présence de *PVY* pour toutes les micro-parcelles non traitées.

La comparaison des taux d'infections observées indique une différence significative entre le témoin non traité (95% à 80%), l'insecticide (25% à 4%) et l'huile (15% à 10% pour la dose normale et de 0 à 5% pour la dose double) (Figure 31).

Nous avons montré aussi que l'usage des huiles réduit l'infection dans les parcelles d'environ 85%.

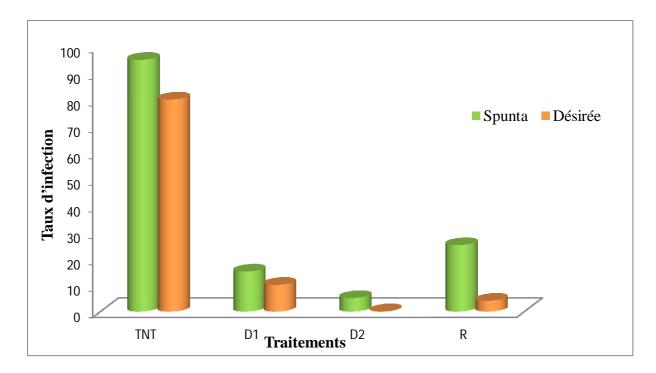


Figure 31 : Taux d'infection des différents traitements.

Les résultats de l'analyse statistique sont consignés dans les tableaux 10, 11, 12 et 13.

Tableau 10 : Calcul des moyennes du taux d'infection pour la variété Spunta

Spunta	1	II	III	IV	Total	Моу
D1	40	0	0	20	60	15
D2	20	0	0	0	20	5
R	40	40	20	40	140	35
TNT	100	100	100	80	380	95
Total	200	140	120	140	600	
Моу	50	35	30	35		37,5

Tableau 11 : Analyse de la variance du taux d'infection pour la variété Spunta

Origine de la variance	DDL	SCE	Variance	Calculé	Théorique
Blocs	3	275,00	91,67	0,48	4,76
Traitement	3	23775,00	7925,00	41,35	4,76
Residuelle	9	1725,00	191,67		
Total	15	25775,00	8208,33		
PPDS	22,14				

Le F calculé est supérieur à F théorique donc il ya une différence significatif entre les traitements

Le PPDS (Plus Petit Différence Significatif) est supérieur à 10 donc il ya une différence entre les traitements

Tableau 12 : Calcule des Moyennes du taux d'infection pour la variété Désirée

Désiré	I	II	III	IV	Total	Моу
D1	20	0	0	20	40	10
D2	20	0	0	0	20	5
R	20	20	20	40	100	25
TNT	80	80	80	80	320	80
TOTAL	140	100	100	140	480	
Моу	35	25	25	35		30

Tableau 13 : Analyse de la variance du taux d'infection pour la variété Désirée

Origine de la variance	DDL	SCE	Variance	Calculé	Théorique
Blocs	3	100,00	33,33	0,33	4,76
traitement	3	16500,00	5500,00	55,00	4,76
Residuelle	9	900,00	100,00		
Total	15	17500,00	5633,33		
PPDS	15,99				

Le F calculé est supérieur à F théorique donc il ya une différence significatif entre les traitements.

Le PPDS (Plus Petit Différence Significatif) est supérieur à 10 donc il ya une différence entre les traitements.

La comparaison des moyennes d'infections observées indique non seulement une différence significative entre le témoin, l'insecticide et l'huile mais aussi, une différence entre les deux doses de l'huile minérale. Bien que possédant un effet significatif contre la dissémination du virus Y dans la parcelle.

Discussion:

Cette situation résulte principalement du mode de transmission « non persistant » qui facilite énormément la dissémination du virus dans les cultures et rend la lutte difficile: acquisition et inoculation très rapides par des piqûres d'essai, pas de latence, peu de spécificité quant au vecteur

Le mécanisme impliqué dans le contrôle des processus de transmission des virus non persistants par les huiles n'est pas encore complètement connu. L'acquisition et l'inoculation semblent être affectées avec une action apparemment plus importante au niveau de l'acquisition (Simons et Zitter, 1980).

L'huile a peu d'effet au niveau du comportement alimentaire des pucerons car le nombre de piqûres d'essai sur des feuilles traitées aux huiles n'est pas différent de celui exécuté sur des feuilles non traitées en plus le temps séparant l'arrivée du puceron sur une feuille traitée et la piqûre est néanmoins allongé. Mais l'effet le plus important de l'huile pourrait se situer au niveau de l'accrochage des particules virales sur les parois des stylets (Rolot, 2005).

Des essais similaires réalisés en Belgique par Rolot en 2005 ont réduit l'infection de 60 à 70%.

CONCLUSION

Le PVY est le représentant non seulement le plus répandu, mais potentiellement un des plus dommageables pour la production de pommes de terre.

Dans nos essais nous avons montré que l'infection dans les micro-parcelles non protégées peut atteindre jusqu'au 95%. Dire que la production de pomme de terre serait pratiquement impossible sans l'application de mesures de protection. Pourtant, dans le domaine de la production de plants, on assiste encore trop souvent, dans notre pays, à une ébauche d'efforts parfois inutiles, économiquement non justifiés, voire négatifs sur le plan environnemental. Il s'agit de l'emploi intensif des produits de protection, surtout des insecticides. Ce comportement est en outre souvent exacerbé parce que des règles essentielles comme l'isolement des cultures, la qualité sanitaire parfaite des lots de plants entrant dans le processus de multiplication ne sont pas toujours respectées. Si l'on ajoute, à ce constat, l'utilisation fréquente de variétés sensibles au virus Y, on peut conclure qu'il existe encore, dans ce domaine, une marge de manœuvre significative pour améliorer le système de production.

La mise sur pied d'actions efficaces au niveau de notre région requiert, avant toute chose, une bonne connaissance du comportement des populations d'insectes responsables de la dissémination du virus Y. La première partie du travail consistant à caractériser l'activité des populations de pucerons ailés obtenues par l'intermédiaire des pièges jaunes durant la saison de culture. Les espèces des pucerons considérés comme les vecteurs les plus efficaces du virus Y trouvés dans la zone géographique étudiée sont : *Myzus persicae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Aphis nasturtii, Aphis fabae* et *Aphis gossypii*. La période située entre Avril et Novembre peut être considérée comme une période critique pour les cultures des plants du point de vue

risque d'infection car à ce moment que les vols sont généralement les plus abondants. Ces derniers ont un impact sur la qualité des tubercules produits dans la parcelle échantillonnée car cette pomme de terre a été exposée à une infection précoce surtout que la vitesse de translocation du virus vers les tubercules-fils est liée à l'âge de la plante.

Les résultats sérologiques sur les tubercules récoltés nous ont permis de constater que l'usage de l'huile minérale peut réduire l'infection dans les parcelles d'environ 85% si on la compare à celle constatée dans des parcelles sans protection.

Cette étude a démontré que la protection des semences de pomme de terre par l'utilisation des huiles minérales parafiniques, peut être considérer comme un élément positif dans le processus de production.

PERSPECTIVES

L'avantage de l'utilisation de l'huile minérale devra être complété par d'autres mesures aussi importantes et rentrant dans la stratégie technique. Il s'agit de :

- La production des différentes classes de semences en poches, c'est-à-dire chaque région devra produire localement sa propre chaine de multiplication à partir du matériel végétal de départ sain. Cette façon permet de réduire considérablement les infections dues à l'introduction d'autres semences infectées et par conséquent des risques supplémentaires.
- La réduction de la chaine de multiplication en injectant plus de matériel végétal de départ (minitubercules).
- Le développement et l'introduction des espèces résistantes au virus Y.
- La recherche des zones de moindre pression aphidiennes au niveau des hauts plateaux et des régions du sud, permettant au moins la production des semences pré bases et de la classes SE.
- L'introduction des serres insect-proof pour la production des premières générations.

En raison de la problématique complexe de production de semences de pomme de terre dans notre pays qui malheureusement n'est qu'à ses débuts, divers chantiers et axes de recherches restent encore à explorer.

LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATION

°C: Degré Celsius. **μΙ:** Microlitre. **APLV:** Andean Potato Latent Virus. B: Bloc. D: Dose. **D1**: Dose normale D2: Dose double. **DAS-ELISA:** Double Antibody Sandwich. DO: Densité Optique. ELISA: Enzym Linked Immuno Sorbent Assay. **g**: Gramme. G0: Génération 0. **Ha**: Hectare. **HR**: Humidité Relative. **Kg**: Kilogramme. L: Litre. m: Mètre. m²: Mètre au carré. ml: Mililitre. mm: Milimètre. nm: Nano mètre. nm: Nanomètre. P: Pluviométrie.

PAMV: Potato Aucuha Mosaic Virus.

PLRV: Potato Leaf Rool Virus.

PMTV: Potato Mop Top Virus.

PPDS: Plus Petit Difference Significatif.

PSTVD: Potato Spindle Tuber Viroid.

PVA: Potato Virus A.

PVM: Potato Virus M.

PVS: Potato Virus S.

PVT: Potato Virus T.

PVX: Potato Virus X.

PVY: Potato Virus Y.

PYDV: Potato Yellow Dwarf.

qx: Quintaux

R: Référence.

S: Second.

T: Traitement.

TAS-ELISA: Triple Antibody Sandwich ELISA.

TBRV: Tobacco Black Ring Virus.

TM: Température maximale mensuelle moyenne.

Tm: Température minimale mensuelle moyenne.

Tmoy: Température moyenne mensuelle

TNT: Témoin Non Traité.

TNV: Tobacco Necrosic Virus.

TRV: Tobacco Rattle Virus

TSWV: Tomato Spottled Wilt Virus.

ANNEXE 01 : Résultats des analyses sérologiques de la variété Spunta

Variété	Bloc	Traitement	N° échantillon	Résultat DAS ELISA PVY	Variété	Bloc	Traitement	N° échantillon	Résultat DAS ELISA PVY
			1	+				41	+
			2	+				42	+
		Témoin	3	+			Témoin	43	+
			4	+	1			44	+
			5	+	1			45	+
			6	+				46	-
			7	+				47	-
		Dose normale	8	-			Dose normale	48	-
		Homaic	9	-			Homaic	49	-
	Α		10	-				50	-
	A		11	-	1	С		51	-
			12	-				52	-
		Dose double	13	+			Dose double	53	-
			14	-	-			54	-
			15	-				55	-
			16	+				56	-
			17	+				57	-
		Référence	18	-			Référence	58	-
			19	-				59	-
0			20	-	Spunta			60	+
Spunta		Témoin	21	+				61	+
			22	+			Témoin	62	+
			23	+				63	+
			24	+				64	+
			25	+				65	-
			26	-	1			66	-
			27	-	1			67	-
		Dose normale	28	-	1		Dose normale	68	+
		Homaic	29	-			Homaic	69	-
	В		30	-	1	_		70	-
	Ь		31	-		D		71	-
			32	-				72	-
		Dose double	33	-			Dose double	73	-
			34	-				74	-
			35	-				75	-
			36	-	1			76	-
			37	-				77	-
		Référence	38	-			Référence	78	-
			39	+	1			79	+
			40	+	1			80	+

Légende + : Présence du virus Y

- : Absence du virus Y

ANNEXE 02 : Résultats des analyses sérologiques de la variété Désirée

Variété	Bloc	Traitement	N° échantillon	Résultat DAS ELISA PVY	Variété	Bloc	Traitement	N° échantillon	Résultat DAS ELISA PVY
			1	+				41	+
			2	+	1			42	-
		Témoin	3	+	1		Témoin	43	+
			4	-	1			44	+
			5	+	1			45	+
			6	+	1			46	-
			7	-				47	-
		Dose normale	8	-			Dose normale	48	-
		Homaic	9	-	1		Homale	49	-
			10	-	1	С		50	-
	Α		11	-	1	C	Dose double	51	-
			12	-	1			52	-
		Dose double	13	-				53	-
			14	+	-			54	-
			15	-				55	-
			16	-	1			56	+
			17	-				57	-
		Référence	18	+	1		Référence	58	-
			19	-				59	-
D (= := (=			20	-	Désiróo			60	-
Désirée		Témoin	21	+	- Désirée - -			61	+
			22	+				62	-
			23	+			Témoin	63	+
			24	+	1			64	+
			25	-	1			65	+
			26	-	1			66	-
		_	27	-	1		_	67	-
		Dose normale	28	-	1		Dose normale	68	+
		Homaic	29	-	1		Homale	69	-
	<u></u>		30	-	1			70	-
	В		31	-	1	D		71	-
			32	-	1			72	-
		Dose double	33	-	1		Dose double	73	-
			34	-	1			74	-
			35	-	1			75	-
			36	+	1			76	+
			37	-	1			77	+
		Référence	38	-	1		Référence	78	-
			39	-	1			79	-
			40	-	1			80	-

Légende + : Présence du virus Y

- : Absence du virus

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anonyme 2001: http/ipmworld.umn.edu-aphidalert alert 2001.
- Anonyme 2009: www.agroatlas/ diseases solani-potato virus Y.
- **Anonyme 2011 a**:http/mmrgontham.blogspot.com-brinjalinsect pests.pictures.
- **Anonyme 2011 b**:http/mmrgontham.blogspot.com-brinjalinsect pests.pictures.
- **Anonyme 2012**: http://theaphidroom.wordpren.cop-Myzus persicae.
- Anonyme 2013 a: www.Gopex Distribution S.A.
- Anonyme 2013 b: www.potavirus.com
- **Anonyme 2013 c**: www.google earth-Guellal- Sétif -Algérie.
- **Anses, 2011** (Agence Nationale de sécurité sanitaire d'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la demande d'extension mineur de la préparation phytopharmaceutique VAZYL Y.
- Astier, S., Albouy, J., Maury, Y. et Lecoq, H. (2001) Principe de virology végétale: génome, pouvoir pathogène, écologie des virus, INRA ED, Versailles, 444p.
- **Beemster, A.B.R. (1972)** Virus translocation in potato plants and mature-plant resistance. In: J.A De Bokx (Ed), *Viruses of*

- potatoes and seed-potato production, p. 144-151. Pudoc, Wageningen.
- Claude Godin, M.Sc. et Guy Boivin, Ph.D. (2002) Guide d'identification des pucerons dans les cultures maraîchères au Québec, Agriculture et Agroalimentaire, canada, 31p.
- Collar, JL., Avilla, C., Fereres, A. (1997) New correlation between aphid stylet paths and non persistent virus transmission. *Environmental Entomology*, vol 26, n°3: 537-544.
- Derron, J.O., Goy, G. (1990) Importance relative des pucerons ailés les plus fréquemment rencontrés sur la pomme de terre comm vecteurs du virus Y (PVYn), compte tenu de leur mobilité. *Revue suisse de l'Agriculture* 22 (5): 277-281
- Fereres, A., Perez, P., Gemeno, C. et Ponz, F. (1993) Transmission of Spanish pepper-and potato PVY isolates by aphid (Homoptera: Aphididae), vectors epidemiological implications, Environmental Entomology, V. 22,pp. 1260-1265.
- Gabriel, W., Kostiw, M., Wislocka, M. (1975) Comparaison de plusieurs méthodes d'estimation de la quantité de pucerons vecteurs de virus, pour la prévision d'infection par virus des tubercules de pommes de terre. *Potato Research* 18: 3 15.
- **Halbert S. E , Corsini M.A (2003)** *Potato virus* Y transmission efficiency for some common aphids in Idaho Am. J. Potato Res., 80 (2003), pp. 87–91
- Harrington, R., Katis, N., Gibson, R.W. (1986) Field assessment of the relative importance of different aphid species in the transmission of potato virus Y. *Potato Research* 29: 67-76.
- **Hollings, A. etBrunt, A.A. (1981)** Potyvirus group, CMI/aab, Description of Plant Viruses, n° 245, 7p.
- Hullé, M., Turpeau-Ait Ighil, E., Robert, Y., Monnet, Y. (1999) Les pucerons des plantes maraîchères: cycles biologiques et activités de vol. ACTA- INRA editions. Paris.

- **Kerlan, C. (1996)** Maladies à virus In la pomme de terre, amélioration, ennemies et maladies utilisations. Rousselle, P., Robert, Y. et Crosnier, J.C. ? éd. Chap 6, INRA, Paris, pp. 231-251.
- King, A., Adams, M.J., Lefkowitz, E., Carstens, E.B. (2011) Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses Elsevier.
- **Klingauf, F.A. (1987a)** Host plant finding and acceptance. *In*: Minks, A.K, and Harewijn (eds), Aphids: Their biology, natural ennemies and control, 2A, World Crop Pests. Elsevier, Amsterdam, pp 209-224.
- **Klingauf, F.A. (1987b)** Feeding, adaptation and excretion. *In*: Minks, A.K, and Harewijn (eds), Aphids: Their biology, natural ennemies and control, 2A, World Crop Pests. Elsevier, Amsterdam, pp225-253.
- **Kummert, J. et Semal, J. (1989)** Les virus et viroïdes phytopathogènes in traité de pathologie végétale Semal, J. ed . Chap. 3, Ed. Presse Agronomique de Gembloux Belgique, pp. 85-142.
- Lecoq, H., (1996) Les pucerons, de redoutables vecteurs de virus des plantes. *PHM Revue Horticole* 369, avril 1996: 26-28.
- Loxdale, H., Hardie, J., Halbert, S., Foottit, R., Kidd, N., Carter, C. (1993) The relative importance of short and long-range movement of flying aphids. *Biol. Rev.* (1993), 68, pp 291-311.
- **Macgillivray, M. E. (1979)** Les pucerons nuisibles de la pomme de terre au canadacycle vital et clef d'identification, service d'info. Agriculture, Canada, 23p.
- **Niemeyer, H.M. (1990)** The role of secondary plant compounds in aphid-host interactions. In *Aphid-Plant Genotype Interactions* (ed. R.K Campbell and R.D Eikenbary), pp 187 205. Elsevier, Amsterdam.
- **Pirone, I.P. et Blanc, S. (1996)** Helper dependent vector transmission of plant viruses, Ann. Rev. Phytoath V .34, pp. 227-247.

- Powell, G., Harrington, R., Spiller, N.J. (1992) Stylet activities and potato virus Y vector efficiencies by the aphids Brachycaudus helichrysi and Drepanosiphum platanoidis. *Entomologia experimentalis et applicata*, vol 62, n°3: 293-300.
- Raccah, B., Gallon, A., Eastop, V.F. (1985) The role of flying aphid vectors in the transmission of cucumber mosaic virus and potato virus Y to peppers in Israël. *Ann. Appl. Biol.* 106: 451-460.
- Remaudiere, G. et Sccofrernandez, V. (1990) Clef pour aider à la reconnaissance des ailés de pucerons piégés en région méditerranéen, V.I, Ed. Inst. Pasteur. Parais. Université de Léon. Espana, 205p.
- Robert, Y. (1978) Rôle épidémiologique probable d'espèces de pucerons autres que celles de la pomme de terre dans la dissémination intempestive du virus Y depuis 4 ans dans l'Ouest de la France. In: *Proceedings of the 7 th Triennal Conference of the EAPR (Warsaw, 1978),* pp 242-243.
- Robert, Y., Woodford, J.A.T., Griblot Ducray-Bourdin, D. (2000) Some epidemiological approaches to the control of aphid-borne virus diseases in seed potato crops in Northern Europe. *Virus Research* 71 (2000): 33-47.
- Rouzé-Jouan, J., Giblot Ducray-Bourdin, D. (2000) Virus de l'enroulement de la pomme de terre : le point sur les recherches. La Pomme de terre française, n°521 : 38-41.
- **Salazar, L.F. (1996)** Potato viruses and their control. *International Potato Center*, Lima.
- **Salazer, L. F (1987)** La détection des virus dans la production de plants de pomme de terre, Bull. Info, Tech, pp. 123-129.
- **Simmonds, N.W. (1997)** A review of potato propagation by means of seeds, as distinct from clonal propagation by tubers. *Potato Research* 40: 191-214.
- **Simons, J.N., Zitter, T.A. (1980)** Use of oils to control aphid-borne viruses. *Plant Disease*, vol 64, n°6: 542-546.

- Singh, M.N., Khurana, S.M., Nagaich, B.B., Agrawal, H.O. (1988) Environmental factors influencing aphid transmission of potato virus Y and potato leafroll virus. *Potato Research* 31: 501-509.
- **Staubli, A. (2004)** Sensibilité des varieties de pomme de terre au virus Y nécrogènes, fait marquant à la RAC changins, 13p.
- Struik, P.C., Askew M.F, Sonnino A., Mackerron D.K.L, Bang U, Ritter E, Statham 0.J.H, Kirkman M.A, Umaerus V (1997) Forty years of potato research: highlights, achievements and prospects. *Potato Research* 40 (1997): 5-18
- **Struik, P.C., Wiersema, S.G. (1999)** Seed Potato Technology, *Wageningen Pers*.
- Tamada, T., Harrison, B.D., Roberts, I.M. (1984) Variation among the British isolates of potato leaf roll virus. *Ann. Appl. Biol.* 104: 107-116.
- **Taylor, L.R. (1965)** Flight behavior and aphid migration. Proc Centr Branch Entomol Soc Am 20: 9-19.
- **Taylor, L.R. (1974)** Insect migration, flight periodicity and the boundary layer. J.Anim. Ecology 43: 225-238.
- Taylor, L.R., Woiwod, I.P., Tatchell, G.M., Dupuch, M.J., Nicklen, J. (1981) Synoptic monitoring for migrant insect pests in Great Britain and Western Europe III The seasonal distribution of pest aphids and the annual aphid aerofauna over Great Britain 1975-1980. *Rothamsted Report for 1981*, part 2: 23-121.
- **Valkonen, J.P.T. (2000)** Resistance to viruses: an important task for European potato breeding. *Plant Breeding and Seed Science* Vol 44, n°2: 37-47.
- **Van der zaag, D.F. (1987)** Yield reduction in relation to virus infection In De Bokx, J.A. et Vander Want, J.P.H. Eds, pp. 146-150.
- **Van Harten, (1983)** The relation between aphid flights and the spread of potato virus Yn (PVYn) in the Netherlands. *Potato research* 26: 1-15.

- Verbeek, M., Piron P.G.M., A.M. Dullemans, C. Cuperus, R.A.A. van der Vlugt (2010) Determination of aphid transmission efficiencies for N, NTN and Wilga strains of *Potato virus Y* Ann. Appl. Biol., 156 (2010), pp. 39–49
- **Walsh, D. (2000)** Horticultural Spray Oils: useful year-round tactic for IPM systems. *Agrichemicals & Environmental News*, n°165: 5-7.
- Wang, R.Y., Ammuar, E.D., Thornbury, D.W, Lopez-Moya, J.J, Pirone, T.P (1996) Loss of potyvirus transmissibility and helper-component activity correlate with non-retention of virions in aphid stylets. *J. Gen. Virol.* May 77 (Pt5): 861-867.