

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA
Faculté des Sciences Agronomiques et Vétérinaires
Département d'Agronomie

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Amélioration des Productions Végétales

IMPACT DU DEPERISSEMENT DES AGRUMES
DANS LA REGION DE LA MITIDJA :
ETUDE ETIOLOGIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE

Par

Salim LAMINE

Devant le jury composé de :

H.BELKAHLA	Professeur	U.S.D.Blida	Présidente
C.CHAOUIA	Maître de Conférences	U.S.D.Blida	Examinatrice
Z.E.DJAZOULI	Maître de Conférences	U.S.D.Blida	Examineur
M.BENCHABANE	Maître de Conférences	U.S.D.Blida	Promoteur

Blida, Avril 2011

RESUME

Suite aux graves dépérissements signalés dans les vergers agrumicoles situés dans la région de la Mitidja, nous avons tenté d'apporter une contribution pour l'identification des causes de cette affection. A cet effet notre travail consiste en la réalisation d'un diagnostic symptomatologique en traitant les aspects étiologiques et épidémiologiques de certains cas de dépérissement. Nous avons assuré le suivi de douze vergers agrumicoles situés en grande partie dans la wilaya de Blida (Oued El-Alleug, Chebli et Boufarik) et un verger situé dans la wilaya d'Alger (Eucalyptus) durant trois campagnes agricoles consécutives ; (2006/2007), (2007/2008) et (2008/2009). Le diagnostic symptomatologique mis en évidence l'existence de cinq classes symptomatologiques (0 à 4). Nous avons noté un taux de diffusion de 44,56% (3 463 arbres dépéris) : 18,34% de dépérissement de la classe « 1 », 10,69% de classe « 2 », 5,79% de la classe « 3 » et 9,75% de la classe « 4 ». Nous avons enregistré une valeur moyenne de la classe du dépérissement de 2,32 et une incidence moyenne de 25,27%. Les opérations d'isolements fongiques effectuées sur des échantillons de sol et de bois ont permis d'isoler les principaux genres fongiques suivants : *Fusarium* (50,55%), *Phytophthora* (4,83%), *Verticillium* (4,07%), *Geotrichum* (2,9%), *Cladosporium* (13,23%), *Alternaria* (4,68%), *Botrytis* (2,99%) et *Rhizoctonia* (3,28%). Nous avons noté une nette dominance de la flore fusarienne avec 50,55%, composée de 7,31% pour *Fusarium oxysporum*, 11,35% pour *Fusarium solani* et 31,89% pour *Fusarium* spp. Nos résultats épidémiologiques et étiologiques ont mis en évidence l'implication de causes biotiques représentées principalement par des agents fongiques d'origines telluriques.

Mots clés : Dépérissement, Agrumes, épidémiologie, étiologie, Agents fongiques telluriques, *Fusarium solani*, *Phytophthora* spp.

SUMMARY

Following the severe decline reported in citrus orchards located in the region of Mitidja, we attempted to offer a contribution in order to identify the causes of this affection. To this goal our work involves the realization of a symptomatic diagnosis by treating the etiological and epidemiological aspects of some cases of citrus decline. We monitored twelve citrus orchards, located largely in the Blida province (Oued El-Alleug, Chebli and Boufarik) and one orchard located in the Algiers province (Eucalyptus) during three consecutive agricultural seasons; (2006/2007), (2007/2008) and (2008/2009). The symptomatic diagnosis revealed the existence of five symptomatological levels (0 to 4). We noted a diffusion rate of 44.56% (3 463 declined trees): 18.34% for the decline of the level « 1 », 10.69% level « 2 », 5.79 % level « 3 » and 9.75% for the level « 4 ». We recorded an average level of the decline of 2.32 and an incidence average of 25.27%. The operations of fungal isolation performed on samples of soil and wood (branches and roots) have isolated the following main fungal genera: *Fusarium* (50.55%), *Phytophthora* (4.83%), *Verticillium* (4.07%), *Geotrichum* (2.9%), *Cladosporium* (13.23%), *Alternaria* (4.68%), *Botrytis* (2.99%) and *Rhizoctonia* (3.28%). We noted the dominance of *Fusarium* flora with 50.55%, consisting of 7.31% for *Fusarium oxysporum*, 11.35% for *Fusarium solani* and 31.89% for *Fusarium* spp. Our epidemiological and etiological findings revealed the involvement of biotic causes represented mainly by the soilborne fungal agents.

Keywords: Citrus decline, epidemiology, etiology, soilborne fungal agents, *Fusarium solani*, *Phytophthora* spp.

ملخص

بعد حالات يبوس الأشجار المسجلة في بساتين الحمضيات الواقعة في منطقة متيجة ، أنجزنا هذه الدراسة بغية المساهمة في تحديد أسباب هذا المرض. لتحقيق هذا الهدف عملنا على تشخيص أعراض هذه الآفة و ذلك بمعالجة الجوانب المسببة والبائية لبعض حالات اليبوس. دراستنا شملت اثني عشر بساتلنا من الحمضيات, حيث العدد الكبير منها يقع في ولاية البليدة (واد العلايق، شبلي و بوفاريك) وبستان في ولاية الجزائر (الك اليتوس), وهذا لمدة ثلاث مواسم فلاحية متتالية؛ (2007/2006)، (2008/2007) و (2009/2008). كشف تشخيص الأعراض وجود خمسة درجات عرضية (0 الى 4). سجلنا معدل انتشار مقداره 44,56 % (3463 حالة إصابة) : 18,34% من الدرجة "1"، 10,69% من الدرجة "2"، 5,79% من الدرجة "3" و 9,75% من الدرجة "4". كما سجلنا متوسط درجة يبوس الأشجار الذي قدر بـ 2,32 من أربعة و نسبة 25,27% كمتوسط حدة المرض. عمليات عزل الفطريات التي أجريت على عينات من التربة وخشب الأشجار المصابة (الأغصان و الجذور) أظهرت وجود الأنواع الفطرية الرئيسية التالية : *Fusarium* (50,55%) ، *Phytophthora* (4,83%) ، *Verticillium* (4,07%) ، *Geotrichum* (2,9%) ، *Cladosporium* (13,23%) ، *Alternaria* (4,68%) ، *Botrytis* (2,99%) ، *Rhizoctonia* (3,28%) . لاحظنا هيمنة واضحة لفطر *Fusarium* بنسبة 50,55% ، تتألف من *Fusarium oxysporum* 7,31% ، *Fusarium solani* 31,89% و *Fusarium spp* 11,35%. النتائج التي توصلنا إليها في دراستنا لأسباب و طرق انتشار هذا المرض أثبتت تورط الأسباب الحيوية و المتمثلة أساسا في فطريات تعيش و تتكاثر في التربة.

الكلمات المفتاحية : يبوس الحمضيات، علم الأوبئة و أسباب الأمراض ، فطريات التربة،

Phytophthora spp ، *Fusarium solani*

REMERCIEMENTS

L'expression de mon entière gratitude et mes plus vifs remerciements vont d'abord à mon promoteur Monsieur le **D^r BENCHABANE. M**, Maître de conférences à l'université de Blida d'avoir accepté la direction de ce travail et de m'avoir dirigé et aidé pour ses précieux conseils qui m'ont jamais fait défaut. Ses encouragements, sa disponibilité et son appui scientifique ont beaucoup apporté à la réalisation de ce travail.

Mes remerciements les plus profonds vont à Madame **P^r BELKAHLA. H**, Professeur à l'université de Blida (U.S.D.B) pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury chargé d'examiner ce travail.

Je tiens aussi à exprimer mes vifs remerciements à Monsieur le **D^r DJAZOULI. Z.E**, Maître de conférences à l'université de Blida et à Madame **D^r CHAOUIA. C**, Maître de conférences à l'université de Blida ; pour la confiance qu'ils m'ont témoignée et l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger ce travail.

Mes sincères remerciements vont à **tous les enseignants** du département des sciences agronomiques (U.S.D.B) qui ont contribué à ma formation.

Ma grande gratitude ira également à Madame **FADIL Djamilia**, ingénieur du laboratoire de mycologie pour sa disponibilité et sa patience durant toute l'expérimentation.

Je tiens à remercier également mes collègues pendant l'ingénieurat **Guettache Toufik & Yahou Souad**, sans oublier **Melbous Khalida, Safsafi Souad, Hamdani Ali & Meslem Abdelatif** pour leurs contributions à cette étude.

Je tiens également à remercier Monsieur le **D^r AISSAT. A**, Maître de conférences à l'université de Blida, pour ses conseils et ses déplacements à notre site d'étude.

Mes sincères reconnaissances et remerciements vont à tous les propriétaires des vergers agrumicoles où j'ai effectué mes prospections, un merci particulier à la famille **HADJI** d'Oued El-Alleug (**Mohamed Rida, Mahyedine, Farouk et Kouider**).

Je tiens également à remercier tous les membres administratifs et les professeurs de l'institut agronomique méditerranéen de Bari (Italie), et surtout **P^r ROISTACHER C.N, P^r IPPOLITO. A, P^r JANSE J.D, P^r SAAD. A, P^r CRAVEDI. P, P^r TJAMOS. E** pour l'aide et les encouragements qu'ils m'ont apporté.

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.

En fin mes remerciements vont à tous mes amis : **M. Bani, B. Kirdi, D. Mahdjoubi, M. Djaghdjough, F. Zerounda, B. Hajkouider et H. Bergoug** pour leurs encouragements et leurs conseils, ainsi qu'à toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENT	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION.....	15
1. GENERALITES SUR LES AGRUMES.....	18
1.1 Origine et historique.....	18
1.2 Taxonomie	19
1.3 Importance de l'agrumiculture.....	21
1.3.1 Dans le monde.....	21
1.3.2 En Algérie.....	23
2. LES AGRUMES ET LE MILIEU.....	27
2.1. Exigences climatiques.....	27
2.2. Exigences édaphiques.....	28
2.3. Importance du porte-greffe	30
2.4. Principaux Porte-greffes utilisés.....	30
3. MALADIES DU DEPERISSEMENT DES AGRUMES.....	33
3.1. Les maladies à virus et à viroïdes.....	33
3.1.1. La Tristeza « <i>Citrus Tristeza Virus</i> ».....	33
3.1.2. Le complexe "Psorose"	38
3.1.3. La Cachexie.....	42
3.1.4. L'Exocortis.....	43
3.2. Les maladies bactériennes.....	45
3.2.1. Le Stubborn des agrumes.....	45
3.2.2. Le Huanglongbing (HLB) ou Greening des citrus.....	48
3.2.3. La Chlorose Variéguée des Agrumes «CVA».....	52
3.2.4. Le chancre bactérien des agrumes.....	54
3.3. Les maladies fongiques.....	58
3.3.1. Maladies causées par <i>Phytophthora</i> spp.....	58
3.3.1.1 Le «Damping-off» ou pourriture au stade semis	58
3.3.1.2. «Gommose Parasitaire» et «chancre du collet»	60

3.3.1.3. Pourriture fibreuse de racines « Fibrous root rot » ou «Phytophthora root rot ».....	62
3.3.1.4. Pourriture marron ou «Brown rot».....	63
3.3.2. Pourriture fusarienne ou Pourriture sèche de racines.....	64
3.3.3. Pourriture racinaire à <i>Armillaria</i> « Armillaria root rot ».....	65
3.3.4. Pourriture racinaire à <i>Rosellinia</i> « Rosellinia root rot ».....	67
3.3.5. Mal Secco.....	68
3.4. Citrus Blight	71
4. MATERIEL ET METHODES.....	74
4.1. Vergers agrumicoles étudiés.....	74
4.2. Situation Géographique.....	74
4.3. Caractéristiques des vergers.....	77
4.3.1. Vergers de la commune de « Oued El-Alleug ».....	77
4.3.2. Vergers de la commune de « Chebli ».....	77
4.3.3. Verger des « Eucalyptus ».....	78
4.3.4. Verger de Boufarik.....	78
4.4. Conduite culturale des vergers.....	80
4.4.1. Techniques Culturelles	80
4.4.2. Traitements phytosanitaires et fertilisation.....	81
4.5. Diagnostic symptomatologique.....	81
4.6. Etude épidémiologique du dépérissement.....	84
4.6.1. Diffusion de la maladie ou Taux d'infection.....	84
4.6.2. Gravité de la maladie.....	84
4.6.3. Intensité moyenne de la maladie « Indice de McKinney »	84
4.7. Méthodologie d'échantillonnage.....	85
4.7.1. Prélèvement des échantillons de bois.....	85
4.7.2. Prélèvement des échantillons de sol.....	85
4.8. Diagnostic au laboratoire	86
4.8.1. Milieux de culture.....	86
4.8.2. Techniques d'isolement	86
4.8.2.1. Technique d'isolement directe.....	87
4.8.2.2. Technique des suspensions dilutions	87

4.8.3. Purification des isolats fongiques.....	88
4.8.4. Caractérisation et identification des isolats fongiques.....	89
4.8.4.1. Caractères macromorphologiques.....	90
4.8.4.2. Caractères micromorphologiques.....	90
4.8.4.3. Caractères micromorphométriques.....	90
5. RESULTATS EPIDEMIOLOGIQUES.....	91
5.1. Descriptif symptomatologique.....	91
5.2. Modes de dépérissement.....	93
5.3. L'évolution spatiale des différentes classes de dépérissement.....	98
5.4. Estimation des paramètres épidémiologiques.....	112
5.4.1. Dans les six vergers de la commune de «Oued El- Alleug».....	112
5.4.2. Dans la totalité des vergers étudiés.....	115
5.5. Taux de dépérissement dans les douze vergers	118
5.6. Evolution du dépérissement dans les vergers de la commune de «Oued El-Alleug » entre 2007 et 2009.....	123
6. RESULTATS ETIOLOGIQUES.....	128
6.1. Caractérisation et identification des agents fongiques.....	128
6.1.1. Recensement quantitatif et qualitatif et fréquences des isolements fongiques.....	128
6.1. 2. Caractères microscopiques et macroscopiques des principaux champignons isolés.....	140
6.1. 2.1. <i>Fusarium</i> spp.....	140
6.1. 2.2. <i>Fusarium oxysporum</i>	141
6.1. 2.3. <i>Fusarium solani</i>	141
6.1. 2.4. <i>Phytophthora</i> sp.....	142
6.1. 2.5. <i>Verticillium</i> sp.....	143
6.1. 2.6. <i>Botrytis</i> sp.....	143
6.1. 2.7. <i>Rhizoctonia</i> sp.....	144
6.1. 2.8. <i>Geotrichum</i> sp.....	145
6.1. 2.9. <i>Cladosporium</i> sp.....	145
6.1. 2.10. <i>Alternaria</i> sp.....	146
6.1. 2.11. <i>Colletotrichum</i> sp.....	147
6.1. 2.12. <i>Ulocladium</i> sp.....	147
6.1. 2.13. <i>Helminthosporium</i> sp.....	148

7. DISCUSSION GENERALE.....	149
7.1. Possibilité d'origine virale	154
7.2. Possibilité de causes bactériennes.....	156
7.3. Possibilité de causes fongiques	158
7.4. Citrus Blight.....	161
CONCLUSION	163
APPENDICES.....	166
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	173

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1	Images montrant l'origine de la forme du Citron (digitiforme)	18
Figure 1.2	Affinité des relations parentales entre quelques espèces de citrus	19
Figure 1.3	Arbre phylogénétique des citrus	20
Figure 1.4	Proportions variétales de la production mondiale des agrumes	22
Figure 1.5	Les principaux pays producteurs d'agrumes dans le monde	22
Figure 1.6	Illustration de la production agrumicole en Algérie en 2007/2008	25
Figure 1.7	Taux d'accroissement de la production d'agrumes en Algérie	26
Figure 1.8	Principales espèces d'agrumes en Algérie	26
Figure 2.1	Extension géographique du développement des agrumes de 40° parallèle Nord au 40° parallèle Sud	27
Figure 2.2	System racinaire des agrumes montrant le pivot et les racines latérales	28
Figure 3.1	Symptômes causés par le CTV (Photos illustrées par Dr. M.Cambra, IVIA, Espagne): [A] Le déclin rapide sur un arbre d'Oranger (<i>Citrus sinensis</i>) [B] Le stem-pitting sur lime (<i>Citrus aurantifolia</i>) [C] Eclaircissement des nervures [D] striures sur la face intérieur de l'écorce "inverse-pitting"	36
Figure 3.2	Carte de la distribution géographique du CTV (<i>Citrus tristeza virus</i>) dans le monde	37
Figure 3.3	Symptômes induits par la psorose ; [A] Ecaillage de l'écorce typique de la Psorose-A sur oranger [B] coloration du bois, [C] Ecaillage de l'écorce sur pomélo [D] Effet létal de la psorose sur un arbre en Mexique	40
Figure 3.4	Carte géographique montrant que la psorose-A est distribuée dans le monde entier (<i>Citrus psorosis virus</i>)	41
Figure 3.5	Différent symptômes causés par CCaVd, [A] symptôme typique de la production de gomme sur le tronc de mandarine, [B] pitting sur tronc de mandarine, [C] la coloration marron-rougeâtre sur porte-greffe	42
Figure 3.6	Symptômes causés par <i>Citrus exocortis viroid</i> (CEVd): [A] symptômes classiques sur le porte-greffe trifoliolate, [B] jaunissement sur les tiges de Rangpur lime [C] l'exfoliation de l'écorce sur trifoliolate	43
Figure 3.7	Carte géographique montrant que la Cachexie (CCaVd) et l'Exocortis (CEVd) sont distribués dans le monde entier.	44

Figure 3.8	Symptômes causés par <i>Spiroplasma citri</i> : [A] coloration inversée, [B] avortement des graines, [C] rabougrissement d'un arbre infecté par le stubborn à droite, [D] marbrure typique de stubborn, [E] symptôme de balais de sorcières, [F] jaunissement et réduction des pousses à droite.	46
Figure 3.9	Carte de distribution géographique du Stubborn des agrumes <i>Spiroplasma citri</i>	47
Figure 3.10	Arbre phylogénétique construit par MEGA version 2.1 en utilisant 16s rDNA	48
Figure 3.11	Symptômes du greening (HLB) ; [A] jaunissement asymétrique (marbrure) typique sur champ, [B] les deux psylles vecteur du HLB, <i>T. erytrae</i> en haut et <i>D. citri</i> en bas, avec ses différents stades nymphaux [C] avortement des graines, [D] fruit courbé, [E] jaunissement des jeunes pousses	50
Figure 3.12	Carte de distribution géographique de la forme Africaine du HLB « <i>Candidatus Liberibacter Africanum</i> »	51
Figure 3.13	La chlorose variéguée des agrumes, [A] la bactérie de la CVA sous microscope électronique à transmission (1-3.5µm x 0.3-0.5µm), [B] jaunissement accompagné avec de petites taches gommeuses, [C] chlorose internervaire sur oranger, [D] réduction de la taille des fruits	54
Figure 3.14	Symptômes induits par la bactérie <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>citri</i> ; [A] lésions spongieuses au niveau de la feuille, [B] chancre au niveau de la tige (M.Goto), [C] lésions en forme d'un volcan, [D] lésions marron au niveau de l'écorce	56
Figure 3.15	Carte de distribution géographique du chancre des agrumes causé par <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>Citri</i>	57
Figure 3.16	Symptômes causés par les agents de « Damping-off » ; [A] affections de <i>Phytophthora</i> spp dans la pépinière, [B, C] attaques de <i>Rhizoctonia solani</i> sur bigaradier	59
Figure 3.17	Symptômes induits par différentes espèces du genre <i>Phytophthora</i> ; [A] la gommose dans un stade avancé, [B] Exsudation de gomme, symptôme typique de la gommose, [C] Symptôme typique du chancre du collet (Foot rot)	61
Figure 3.18	Symptômes de la pourriture fibreuse de racines causée par <i>Phytophthora</i> spp ; [A] jaunissement des replantations, [B] symptôme typique sur les racines de nutrition, [C] dépérissement et développement de jaunes bourgeons	62
Figure 3.19	Cycle de vie général de <i>Phytophthora</i> spp	63
Figure 3.20	Symptômes de la pourriture marron ; [A] coloration marron en présence de faible taux d'humidité, [B] grande quantité de fruits est peut être perdu, [C] développement de mycélium blanc en présence de l'humidité	64

Figure 3.21	Symptômes de la pourriture Sèche, [A] flétrissement puis le dépérissement brutal, [B] brunissement de la partie basale du tronc, [C] la coloration marron du bois affecté par cette pourriture	65
Figure 3.22	Symptômes de la pourriture armillaire, [A] les plaques mycéliennes entre l'écorce et le bois, [B] Rhizomorphes d' <i>Armillaria mellea</i> , [C] la forme macroscopique entre l'automne et l'hiver (carpophore)	66
Figure 3.23	Symptômes de la pourriture à <i>Rosellinia</i> , plaques blanchâtres sur racines ressemblants les doigts d'un ventilateur	67
Figure 3.24	Symptômes du Mal secco ; [A] décoloration orange-rougeâtre sur branche d'un mandarinier, [B] le rougissement typique du bois, [C] défoliation des brindilles apicales, [D] le dessèchement typique, [E] coupe tangentielle montrant les pycnides de <i>Phoma tracheiphila</i>	69
Figure 3.25	Répartition géographique de <i>Deuterophoma tracheiphila</i> , l'agent causal du Mal secco	70
Figure 3.26	Symptômes et caractéristiques du Citrus blight, [A] déficience du zinc dans les feuilles, [B] test d'absorption, [C] blocage du xylème, [D] déclin général	72
Figure 3.27	Répartition géographique du Citrus blight	73
Figure 4.1	Localisation géographique sur carte d'Etat major de différentes zones d'étude à Mitidja	76
Figure 5.1	Symptômes sur la partie aérienne ; [A] Hyperplasie et hypoplasie, [B] Enroulement et orientation des feuilles vers le haut, [C] Dépérissement unilatéral, [D] Chute des fruits avant maturité, [E] Dépérissement foudroyant, [F] Dépérissement progressif	94
Figure 5.2	Symptômes sur le tronc et branches charpentières ; [A] Craquelure de l'écorce, [B] Pourriture du tronc suite à un chancre, [C] Écaillage et rougissement du tronc, [D] Brunissement et durcissement central, [E, F] suintements gommeux, symptômes typiques de la gommose	95
Figure 5.3	Symptômes sur la partie souterraine, [A] Pourriture sèche de racines et destruction totale du pivot, [B] la mort unilatérale de racines, [C] Arbre arraché à cause du dépérissement, [D] Brunissement et durcissement de racines, [E] racines pourries, [F] déshydratation et durcissement de racines principales	96
Figure 5.4	Les champignons macroscopiques sur tronc et rameaux [A] <i>Fomitiporia mediterranea</i> à «Oued El-Alleug», [B] <i>F. mediterranea</i> dans les vergers de «Chebli», [C] <i>Ganoderma</i> sp sur tronc avec le chancre du collet induit par <i>Phytophthora</i> spp, [D] <i>Ganoderma</i> sp sur un arbre d'oranger, [E] le V03 en voie d'arrachage volontaire	97

Figure 5.5	Répartition géographique de différentes symptomatologiques dans le Verger N°01 en 2009	classes	100
Figure 5.6	Répartition géographique de différentes symptomatologiques dans le Verger N°02 en 2009	classes	101
Figure 5.7	Répartition géographique de différentes symptomatologiques dans le Verger N°03 en 2009	classes	102
Figure 5.8	Répartition géographique de différentes symptomatologiques dans le Verger N°04 en 2009	classes	103
Figure 5.9	Répartition géographique de différentes symptomatologiques dans le Verger N°05 en 2008	classes	104
Figure 5.10	Répartition géographique de différentes symptomatologiques dans le Verger N°06 en 2008	classes	105
Figure 5.11	Répartition géographique de différentes symptomatologiques dans le Verger N°07 en 2008	classes	106
Figure 5.12	Répartition géographique de différentes symptomatologiques dans le Verger N°08 en 2008	classes	107
Figure 5.13	Répartition géographique de différentes symptomatologiques dans le Verger N°09 en 2008	classes	108
Figure 5.14	Répartition géographique de différentes symptomatologiques dans le Verger N°10 en 2008	classes	109
Figure 5.15	Répartition géographique de différentes symptomatologiques dans le Verger N°11 en 2008	classes	110
Figure 5.16	Répartition géographique de différentes symptomatologiques dans le Verger N°12 en 2008	classes	111
Figure 5.17	Illustration du taux d'infection et de l'incidence dans les six vergers agrumicoles de la commune de « Oued El-Alleug »		114
Figure 5.18	Illustration globale du taux d'infection et de l'incidence dans les douze vergers agrumicoles prospectés		117
Figure.5.19	situation générale des douze vergers agrumicoles selon les différentes classes du dépérissement		118
Figure.5.20	situation détaillée des symptômes du dépérissement dans les six vergers de la commune de « Oued El-Alleug »		120
Figure 5.21	situation détaillée des symptômes du dépérissement dans les quatre vergers de la commune de « Chebli », le verger des «Eucalyptus » et le verger de « Boufarik »		121
Figure 5.22	Illustration globale du taux de dépérissement dans les douze vergers agrumicoles selon les différentes classes symptomatologiques		122
Figure 5.23	Illustration globale de l'évolution du dépérissement au niveau de la commune de « Oued El-Alleug » pendant trois années		125

Figure 5.24	situation détaillée de l'évolution du dépérissement dans les six vergers agrumicoles de la commune de « Oued El- Alleug »	127
Figure 6.1	Fréquence des isollements fongiques à partir du bois en 2007	131
Figure 6.2	Fréquence d'isollements des champignons d'origine tellurique en 2007	131
Figure 6.3	Fréquence des isollements fongiques à partir de racines et de sol en 2008	134
Figure 6.4	Fréquence d'isollements des espèces de <i>Fusarium</i> à partir de racines et de sol en 2008	134
Figure 6.5	Fréquence des isollements fongiques à partir de racines et de sol en 2009	137
Figure 6.6	Fréquence d'isollements des espèces de <i>Fusarium</i> à partir de racines et de sol en 2009	137
Figure 6.7	Illustration globale de la fréquence d'isolement des principaux genres fongiques selon les différentes classes symptomatologiques durant les trois années 2007, 2008 et 2009	139
Figure 6.8	Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de <i>Fusarium</i> spp	140
Figure 6.9	Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de <i>Fusarium oxysporum</i>	141
Figure 6.10	Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de <i>Fusarium solani</i>	142
Figure 6.11	Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de <i>Phytophthora</i> sp	142
Figure 6.12	Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de <i>Verticillium</i> sp	143
Figure 6.13	Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de <i>Botrytis</i> sp	144
Figure 6.14	Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de <i>Rhizoctonia</i> sp	144
Figure 6.15	Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de <i>Geotrichum</i> sp	145
Figure 6.16	Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de <i>Cladosporium</i> sp	146
Figure 6.17	Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) d' <i>Alternaria</i> sp	146
Figure 6.18	Forme microscopique (10X40) de <i>Colletotrichum</i> sp	147

Figure 6.19	Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de « <i>Ulocladium</i> sp »	148
Figure 6.20	Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de <i>Helminthosporium</i> sp	148
Tableau 1.1	Bilan de la production agrumicole 2007/2008	24
Tableau 2.1	Caractéristiques et comportement des principaux porte-greffes utilisés dans le monde vis-à-vis certains facteurs biotiques et abiotiques	31
Tableau 4.1	Porte-greffes utilisés dans les différents vergers agrumicoles	78
Tableau 4.2	Superficie, nombre d'arbres et variétés de différents vergers	79
Tableau 4.3	Echelle d'évaluation des symptômes du dépérissement	83
Tableau 5.1	Taux d'infection, Gravité et incidence dans les six vergers agrumicoles de la commune de « Oued El-Alleug »	113
Tableau 5.2	Taux d'infection, Gravité et incidence dans les douze vergers	116
Tableau 5.3	Taux de dépérissement dans les douze vergers agrumicoles	119
Tableau 5.4	Comparaison des taux (%) de dépérissement entre 2007 et 2009	124
Tableau 5.5	Détails de l'évolution du dépérissement pendant trois ans (2007, 2008 et 2009)	126
Tableau 6.1	Recensement quantitatif-qualitatif et Fréquence des isolements fongiques à partir du bois en 2007 selon les différentes classes du dépérissement	129
Tableau 6.2	Recensement quantitatif-qualitatif, et Fréquence d'isolements des champignons d'origine tellurique en 2007 selon les différentes classes du dépérissement	130
Tableau 6.3	Recensement quantitatif-qualitatif et Fréquence des isolements fongiques à partir de racines et du sol en 2008 selon les différentes classes du dépérissement	132
Tableau 6.4	Fréquence d'isolement de chaque espèce de <i>Fusarium</i> , par région et par classe de dépérissement par rapport au pourcentage globale en 2008	133
Tableau 6.5	Recensement quantitatif-qualitatif et Fréquence des isolements fongiques à partir de racines et du sol en 2009 selon les différentes classes du dépérissement	135
Tableau 6.6	Fréquence d'isolement de chaque espèce de <i>Fusarium</i> , dans la région de « Oued El-Alleug », par classe de dépérissement par rapport au pourcentage globale en 2009	136
Tableau 6.7	Fréquence d'isolement des principaux genres fongiques isolés durant les trois années, 2007, 2008, et 2009.	138

INTRODUCTION

Les agrumes représentent la première production fruitière en terme de valeur à faire l'objet d'un commerce international. Le terme agrume recouvre différents types de fruits et de produits dérivés bien que les oranges soient le principal représentant de cette catégorie avec environ 70% des agrumes produits, le groupe inclut également d'autres fruits tels que les mandarines, les clémentines, les citrons, ainsi que les pamplemousses [1, 2].

L'agrumiculture méditerranéenne est à l'image de l'agriculture méditerranéenne ; son trait dominant réside dans sa grande hétérogénéité. Les pays du bassin méditerranéen constituent la première région productrice en fruits frais avec 16.543.000 tonnes. La diversité des situations d'un pays à l'autre, les degrés de développement et la spécificité des objectifs fixés constituent autant de facteurs qui ne permettent pas de parler d'une économie méditerranéenne d'agrumes. Il existe autant de filières agrumicoles que de pays producteurs [3].

En Algérie, l'agrumiculture est d'un grand intérêt économique, selon les estimations établies en 2008, le verger agrumicole s'étend sur une superficie de plus de 63 868 ha et assure une production agrumicole dépassant 7 millions de qx. Les vergers sont localisés en grande partie dans le nord du pays, principalement dans la Mitidja où les superficies occupées par cette culture sont les plus importantes, soit 26% du verger total national. La Mitidja est considérée comme une zone agrumicole potentielle, elle assure approximativement une production de 2 475 868 qx soit 36% de la production nationale (Appendice B) [4, 5].

Traditionnellement l'Algérie est un pays exportateur d'agrumes de qualité, mais actuellement ses besoins de consommation ne cessent de croître sous l'effet de la croissance de la population, ajoutant les perturbations enregistrées dans les potentialités productives.

En plus du déficit quantitatif, l'aspect qualitatif reste aussi loin des normes souhaitées et exigées. Certes, la dépendance du climat et des techniques culturales est étroitement liée à l'amélioration de ces potentialités, néanmoins les dégâts de ravageurs et de bioagresseurs constituent un facteur limitant devant l'augmentation des rendements et l'obtention de qualité répondant aux normes internationales [6].

Parmi les maladies les plus redoutables sur les agrumes, les dépérissements constituent certainement un souci majeur dans les régions agrumicoles. Plusieurs travaux ont relié des situations de dépérissement à différentes causes. Certaines situations peuvent être provoquées par des maladies virales, telles que la tristeza et la psorose. D'autres cas de dépérissement ont été associés aux agents fongiques, tels que la gommose et les pourridiés. Il a été même associé à des causes abiotiques telles que l'excès d'eau et de sel [2].

Selon les agrumiculteurs de la région de la Mitidja, à partir du début des années 2000 ; des situations de dépérissement inquiétantes ont commencé à provoquer des pertes considérables et la disparition de plusieurs arbres en pleine production. Malgré les remplacements opérés et le recours à certaines méthodes de lutte, notamment l'utilisation de l'ALLIETE (insecticide) contre la gommose, la situation s'empire de plus en plus.

A cet effet notre travail consiste en la réalisation d'un diagnostic phytopathologique pour essayer d'apporter des éléments de réponse à la situation du dépérissement observé dans certains vergers agrumicoles dans la Mitidja, et identifier les causes de ce dépérissement ; notre étude a été effectuée en deux étapes :

- ▶ La première au niveau des vergers agrumicoles en questions qui concerne la réalisation d'un diagnostic symptomatologique et la description de quelques paramètres pouvant expliquer les aspects étiologiques et épidémiologiques de dépérissements.

- La deuxième partie a été réalisée au laboratoire dans le but de rechercher d'éventuels agents fongiques associés aux dépérissements et leur identification par une caractérisation morphologique.

Nous avons assuré un suivi durant trois campagnes agricoles consécutives : (2006/2007), (2007/2008) et (2008/2009) :

L'objectif de la première étude en (2006/2007), étant de réaliser un diagnostic symptomatologique au niveau de six vergers situés dans la commune de « Oued El-Alleug » pour retracer l'historique de ces affections ainsi que leur évolution (Appendice G).

Pour la deuxième campagne (2007/2008), en plus des six vergers de la commune de « Oued El-Alleug », nous avons élargit nos prospections à d'autres vergers dans les communes de Chebli, Boufarik (W. Blida) et des Eucalyptus (W. Alger).

Sur la base des résultats obtenus pendant les deux campagnes précédentes, nous avons initié une troisième étude durant la campagne (2008/2009), pendant la quelle nous avons établi un troisième diagnostic sur les vergers de « Oued El-Alleug » avec des approfondissements d'ordre étiologiques et épidémiologiques.

CHAPITRE 1

GENERALITES SUR LES AGRUMES

1.1. Origine et historique

Le mot agrume, d'origine italienne ; est un nom collectif qui désigne les fruits comestibles, et par extension les arbres qui les portent, appartenant au genre citrus. Les principaux agrumes cultivés pour la production de fruits sont : les orangers, les mandariniers, les clémentiniers, les citronniers et les pomelos [1,7].

Les agrumes sont originaires des régions tropicales et subtropicales du sud-est asiatique ; c'est à partir du bassin méditerranéen que cette culture s'est diffusée à travers le monde [7, 8]. Les Portugais ont introduit l'oranger en méditerranée aux environs de l'an 1400, bien après le voyage de Marco Polo en Chine (1287) et c'est à partir du bassin méditerranéen, que les agrumes furent diffusés dans le monde [8, 9, 10, 6]. Les navigations arabes les avaient propagé sur la Côte orientale de l'Afrique jusqu'au Mozambique. Christophe Colomb en 1493 les avaient introduits en Haïti, l'île de la mère des caraïbes à partir de laquelle la diffusion se fera vers le Mexique (1518), puis les Etats-Unis d'Amérique (1560 à 1890). Enfin les Anglo-thaïlandais qui avait introduit en 1654 les premiers agrumes dans la Provence du cap en Afrique du sud (Figure 1.1) [2, 8, 10, 11, 12].



Figure 1.1 : l'origine de la forme du Citron (digitiforme) [13]

Les agrumes sont sensibles au froid et aux basses températures hivernales et printanières, qui sont souvent un facteur limitatif de l'extension de la culture [2]

Selon Loussert, l'aire de culture des agrumes se divise en trois zones caractérisées par des vocations agrumicoles différentes [2] :

- ✓ Zone intertropicale (alternance de saison humide et sèche) ;
- ✓ Zone semi tropicale ;
- ✓ Zone comprises entre 30°- 40° Nord et Sud (été chaud, hiver froid et humide).

1.2 Taxonomie

Toutes les classifications taxonomiques élaborées dans le passé ont été basées seulement sur les caractères morphologiques, anatomiques et l'aire géographiques d'origine ; par la suite dans le début du dernier siècle, les caractères chimiques ont été également utilisés pour ce but [8, 14, 15].

Swingle [15], est le premier qui a mentionné la possibilité d'utilisation des « glycosides » comme un marqueur taxonomique avec l'addition de caractères morphologiques classiques [14]. Après Swingle, les chercheurs ont employé plusieurs techniques pour analyser la composition biochimique des différentes parties de l'arbre (feuilles, fleurs, fruits, jeunes pousses et tégument de la graine) (Figure 1.2) [16, 17].

Les études taxonomiques ont reçues une amélioration par le travail de Barrett et Rhodes en 1976 intitulé « A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated Citrus and its close relatives » (Figure 1.2) [18].

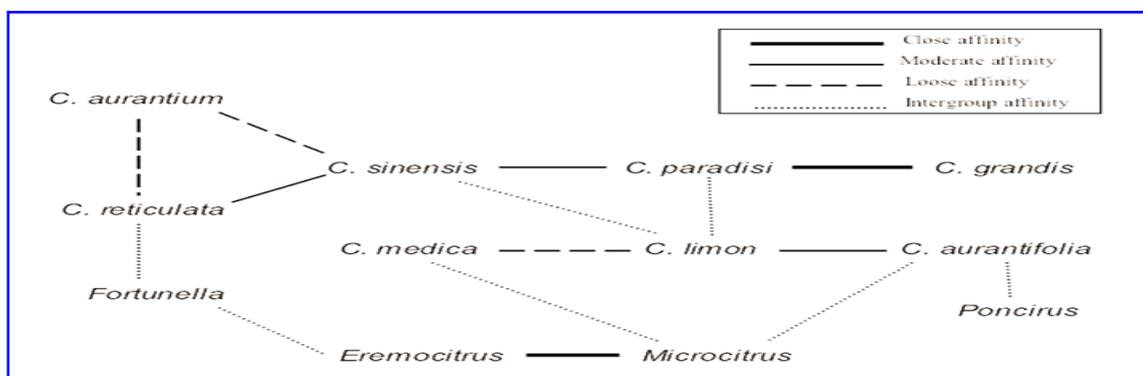


Figure 1.2 : Affinité des relations parentales entre quelques espèces de citrus [14, 15, 18].

Dans le but de clarifier les rapports phylogénétiques entre les différentes espèces du genre citrus, Nicolosi et *al.* (2000) a employé les différents marqueurs moléculaires tels que les RAPDs et SCAR et l'ADN chloroplastique (cpDNA) (Figure 1.3, Appendice A) [13].

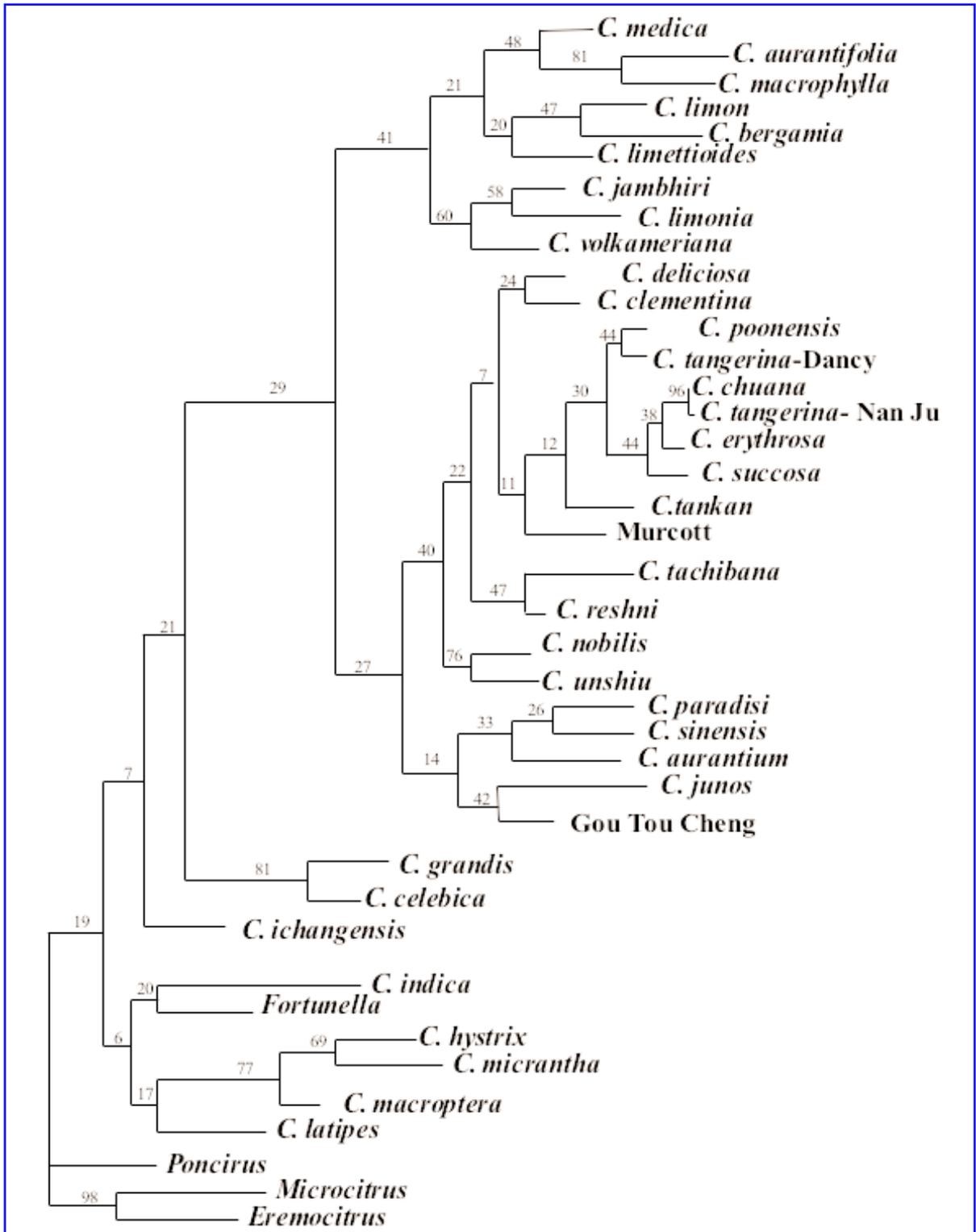


Figure 1.3 : Arbre phylogénétique des citrus [13].

Les agrumes sont des dicotylédones, Ils se propagent essentiellement par voie végétative, et ont un nombre chromosomique de base de **9**, la majorité des variétés sont diploïdes.

Les Citrus selon Derocca *et al*, [1992] appartiennent à la classification suivante [19] :

Division : *Embryophyla*.
Sous division : *angiospermae*
Classe : *Dicotylédones*.
Sous classe : *Archichlomydeae*
Ordre : *Géraniales*.
Sous ordre : *Geraniineae*
Famille : *Rutaceae*.
Sous famille : *Aurantioideae*.
Tribu : *Citreae*.
Genre : *Poncirus*, *Fortunella*, *Citrus*

1. 3. Importance de l'agrumiculture

Les agrumes représentent la première catégorie fruitière en termes de valeur en commerce international; cette importance est justifiée par leur [3]:

- ✚ Consommation comme des produits frais ou après leur transformation (jus, sirop);
- ✚ Grande qualité nutritive riche, en vitamine C, B₆, et constituent une source de fibres, acide ascorbique et folique, potassium et du calcium;
- ✚ Effet bénéfique sur la santé en contribuant dans la diminution des risques de maladies cardio-vasculaires et d'autres maladies.

1.3.1. Dans le monde

Les agrumes présentent un intérêt économique pour un grand nombre de pays à travers le monde, la production annuelle totale d'agrumes a dépassé 105 millions de tonnes durant la période 2000-2004. Les oranges constituent la majeure partie de la production d'agrumes avec plus de 60% [1, 2].

Selon la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), la production d'agrumes est très répandue autour du globe, en 2004 plus de 140 pays produisaient des agrumes dont les principaux producteurs sont : le Brésil avec 18.475.000 tonnes, les Etats-Unis (USA) avec 14.861.000 tonnes et la Chine avec 9.333.000 tonnes (Figure 1.4) [3]

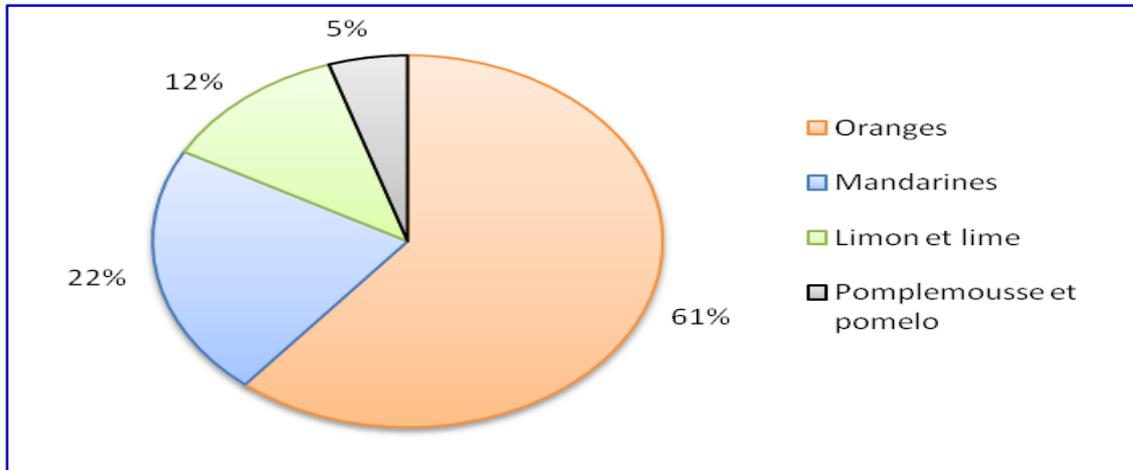


Figure 1.4 : Proportions variétales de la production mondiale des agrumes [1]

Les pays du bassin méditerranéen constituent la première région productrice en fruits frais avec 16.543.000 tonnes. Les principaux producteurs d'agrumes dans le bassin méditerranéen par ordre décroissant sont: l'Espagne à elle seul assure approximativement 25% de la production mondiale, l'Italie, l'Egypte, la Turquie, le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, Chypre, Liban et Portugal (Figure 1.5) [3].

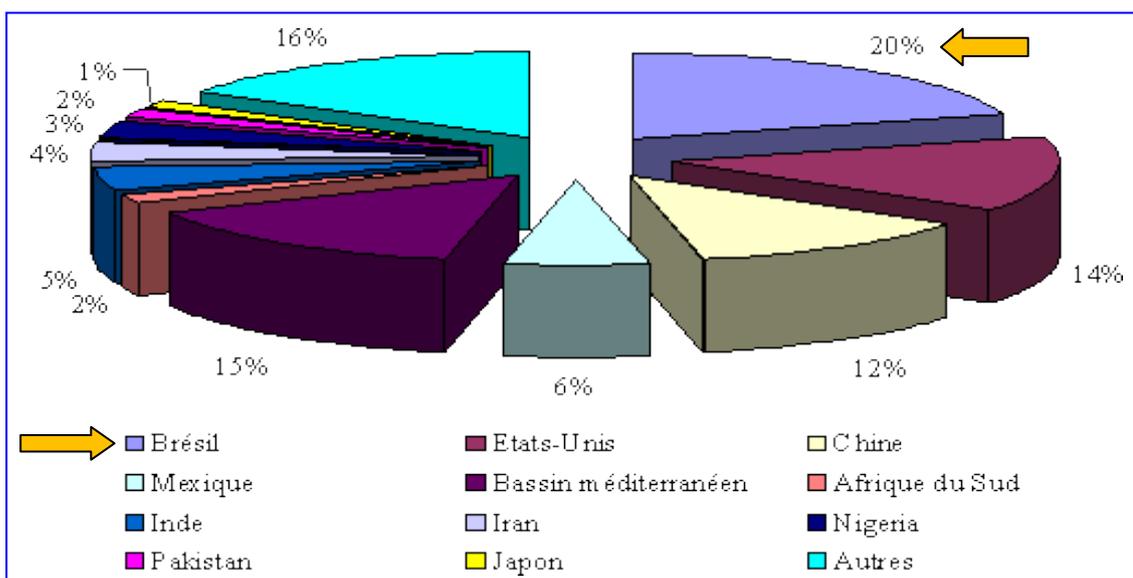


Figure.1.5: Les principaux pays producteurs d'agrumes dans le monde [3]

1.3.2. En Algérie

Comme pour de nombreux pays, en Algérie, les agrumes présentent une importance économique considérable du moment qu'ils constituent une source d'emploi et d'activité aussi bien dans le secteur agricole que dans diverses branches auxiliaires telles que le conditionnement, emballage, transformation, et le transport (Tableau 1.1, Figure.1.6) [20].

A l'origine, le verger agrumicole algérien a été créé et développé durant la période coloniale à des fins d'approvisionnement de la métropole. Au regard de leurs exigences pédoclimatiques, les agrumes sont principalement localisés sur les terres riches des zones potentielles [20, 21]

Au cours de 20 dernières années de colonisation, l'agrumiculture algérienne a pris une place croissante dans la production agricole. En 1960, les agrumes représentaient 20% de la production totale. En 1962-1963, dans des conditions difficiles, l'Algérie a pris en charge ce verger dans la nécessité de changer son mode de production (Appendice B) [22, 23].

Selon les statistiques récentes établies par les services du Ministère de l'Agriculture et du développement rural en 2008, le verger agrumicole Algérien s'étend sur une superficie de 63 868 ha et assure une production agrumicole de 7 229 300 qx. Les vergers sont localisés en grande partie dans le nord du pays où les conditions édapho-climatique sont les plus favorables (Tableau 1.1, Figure.1.6) [4].

Le centre du pays couvre la plus grande superficie avec 39 535 ha et assure la plus grande partie de production avec 4 828 593 qx, il est représenté principalement par la wilaya de Blida, Chlef, Alger, et Tipaza. La wilaya de Blida représente une proportion importante avec 26 % du verger total national, elle est considérée comme une zone agrumicole potentielle. La production assurée par la wilaya de Blida représente approximativement 2 273 641 qx soit environ 32% de la production nationale [5].

A l'ouest la superficie agrumicole est de 16 664 ha, il est représenté principalement les régions de Relizane, Mostaganem, Mascara et Tlemcen en assurant une production de 1 687 200 qx [5].

Tableau 1.1 : Bilan de la production agrumicole 2007/2008 [4, 5].

WILAYA	Sup T (ha)	Sup en rapp (ha)	Prod (qx)	Rdt (q/ha)
BLIDA	16.524	13.053	2.273.641	174
TIPAZA	3.692	2.667	618.645	232
ALGER	5.118	3.870	666.584	172
MEDEA	57	38	4.380	115
CHLEF	5.817	4.941	650.850	132
AIN-DEFLA	2.360	860	91.265	106
BOUMERDES	2.164	1.813	172.000	95
TIZI-OUZOU	1.341	1.110	168.860	152
BOUIRA	444	354	31.240	88
BEJAIA	2.018	1.546	151.128	98
TOTAL CENTRE	39.535	30.252	4.828.593	160
JIJEL	359	217	19.819	91
ANNABA	492	448	58.205	130
EL-TARF	2.042	1.495	267.408	179
SKIKDA	2.386	2.098	259.700	124
GUELMA	871	650	47.690	73
M'SILA	40	36	468	13
SOUK-AHRAS	6	1	15	15
TOTAL EST	6.196	4.945	653.305	132
TLEMEN	2.477	1.878	120.070	64
ORAN	453	303	16.425	54
AIN-TIMOUCHE	483	270	19.920	74
MASCARA	4.256	3.500	189.700	54
MOSTAGANEM	4.440	3.499	727.120	208
RELIZANE	4.544	3.930	613.800	156
SIDI-BEL-ABBES	11	4	165	41
TOTAL OUEST	16.664	13.384	1.687.200	126
GHARDAIA	872	547	43.330	79
EL-OUED	138	100	4.416	44
TAMANRASSET	199	126	3.372	27
BECHAR	33	25	2.340	94
BISKRA	87	69	2.367	34
ILLIZI	93	58	3.250	56
LAGHOUAT	24	21	617	29
OUARGLA	24	14	410	29
NAAMA	3	2	100	50
TOTAL SUD	1.473	962	60.202	63
TOTAL ALGERIE	63.868	49.543	7.229.300	146

L'Est du pays couvre une superficie agrumicole de 6 196 ha, une production de 653 305 qx est assurée principalement par les régions Skikda et El-tarf [5].

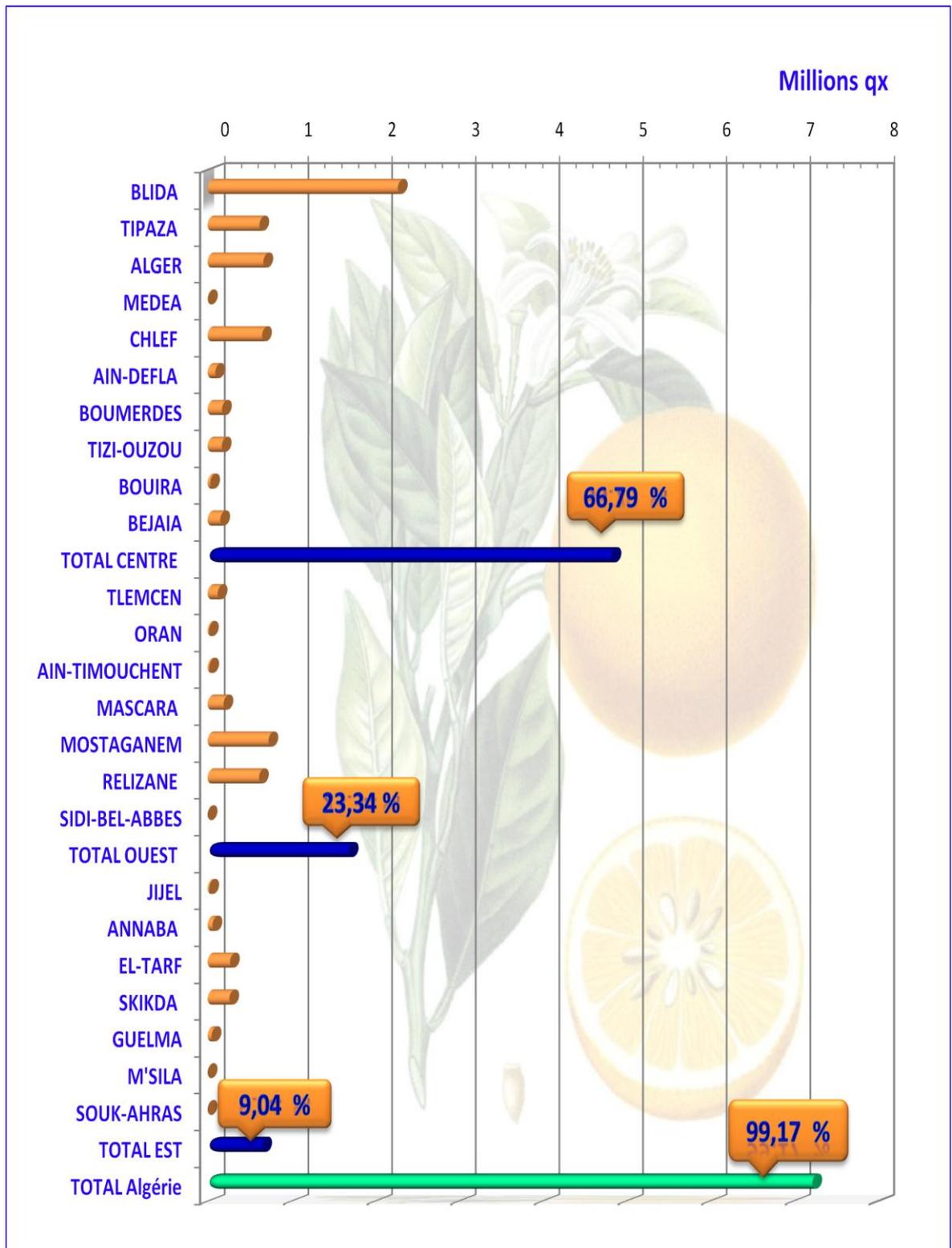


Figure.1.6: Illustration de la production agrumicole en Algérie en 2007/2008 [5]

Le programme national du développement agricole (P.N.D.A) initié à partir de 2000/2001 a fortement encouragé les agriculteurs pour s'intéresser de plus en plus à l'agrumiculture. Ainsi, la superficie agricole a évolué de plus de 8.5% durant la période 2000-2006; engendrant une nette augmentation dans le volume des productions, passant de 1.46 millions qx à 2.48 millions qx soit 69% d'accroissement [4].

Concernant le taux d'accroissement de la production, une bonne valeur de presque 12% a été enregistrée pendant la campagne 2001-2002, après en raison des années de sécheresse ; une grave diminution pendant la campagne 2004-2005, mais une claire augmentation dans la production a été enregistrée à partir de la campagne 2005-2006 à nos jours (Figure 1.7) [4].

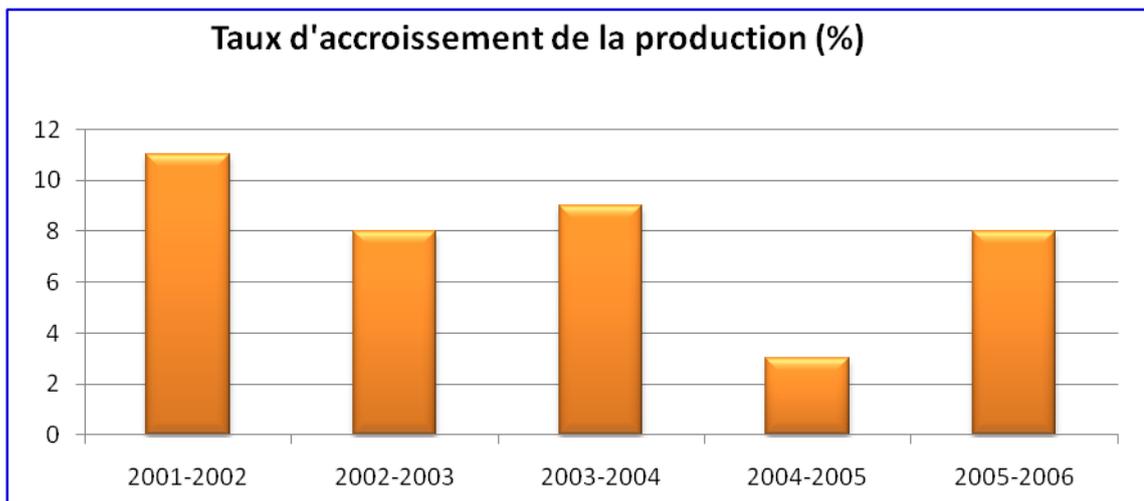


Figure 1.7: Taux d'accroissement de la production d'agrumes en Algérie [4, 5]

Le verger agrumicole Algérien est constitué principalement de cinq espèces avec prédominance des orangers avec 72.86 % (Fig.1.8).

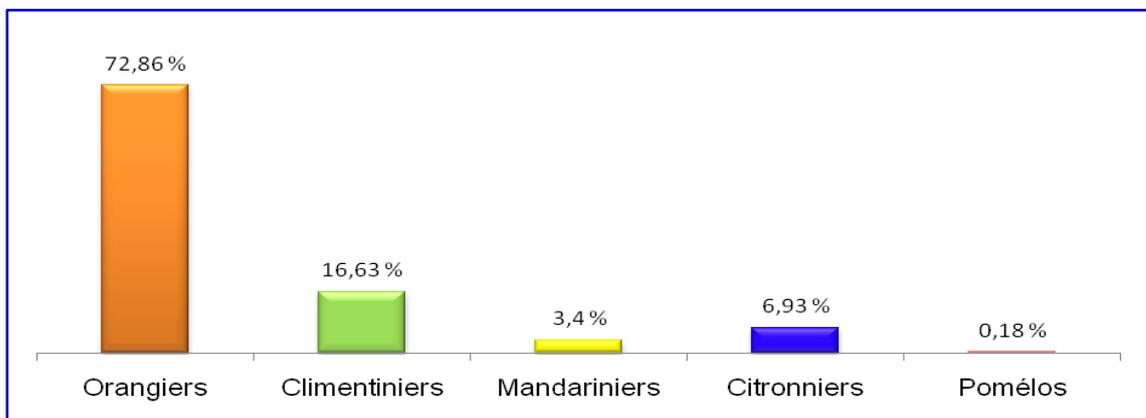


Figure 1.8: Principales espèces d'agrumes en Algérie [4, 5]

CHAPITRE 2

LES AGRUMES ET LE MILIEU

2.1. Exigences climatiques

La culture des agrumes se développe dans des zones tropicales et semi tropicales, les conditions climatiques jouent un rôle majeur dans les caractéristiques des fruits, 1 milliard d'arbres dans le monde fournissent 90 millions de tonnes de fruits dont 26 seront transformer en jus (Figure 2.1) [24, 25, 26].

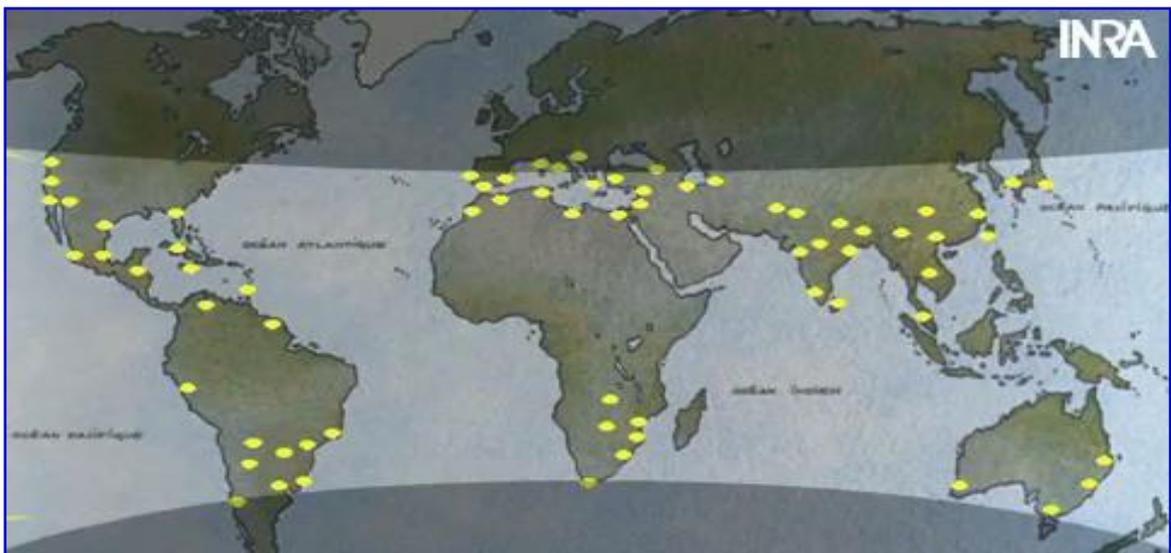


Figure 2.1 : Extension géographique du développement des agrumes de 40° parallèle Nord au 40° parallèle Sud [24, 25, 26].

Les températures favorables à la culture des agrumes sont de l'ordre de 10 à 20 C° pour l'hiver, et 20 à 24C° pour l'été [27].

Selon Loussert [27], les basses températures hivernales et printanières sont souvent un facteur limitant l'extension de la culture, car à des températures inférieures à zéro degré la culture reste exposée aux dégâts de gel. Les températures élevées provoquent également de sérieux dégâts particulièrement au moment de la floraison.

La température optimale de végétation est comprise entre 22°C et 26°C. Une température supérieure à 36°C ou inférieure à 12°C provoque un arrêt de la végétation [27]. Selon Praloran, les agrumes sont originaires de régions où la pluviosité atteint ou dépasse 1200 mm/an (Tchaotcheou, sud de Chine, 1396 mm) [9].

L'expérience montre que cette pluviométrie globale annuelle représente la qualité d'eau au-dessous de laquelle la culture des agrumes exige le recours à l'irrigation, cette hauteur globale de pluie ne peut être considérée comme suffisante sous tous les climats, trois facteurs au moins interviennent pour la modifier se sont :

- ✓ La répartition des chutes des pluies au cours de l'année ;
- ✓ L'intensité de chute aux différentes saisons ;
- ✓ L'intensité de l'évapotranspiration potentielle.

2.2. Exigences édaphiques

Le sol idéal pour les agrumes se compose de 10% d'argile, 20% de limon, 20% de sable fin et 50% de sable grossier, les arbres ont un system racinaire puissant pour être mieux ancrer dans le sol, ils développent plusieurs racines en profondeur 70% de racines sont concentrées dans 50cm de sol, elles assurent l'essentiel de l'apport de nutriments nécessaire à une production supérieur à 150 kg de fruits par arbre (Figure 2.2) [24].

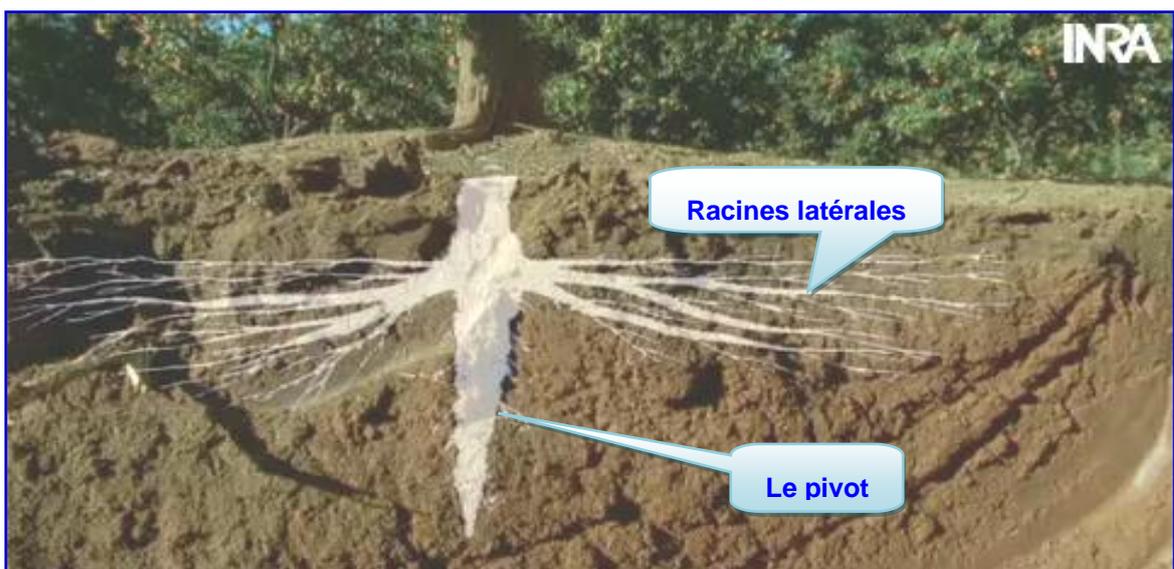


Figure 2.2 : System racinaire des agrumes montrant le pivot et les racines latérales [24].

L'obtention de bons rendements est fonction en grande partie de la nature du sol, tous les autres facteurs étant évidemment remplis. La qualité physique du sol est prépondérante, la perméabilité se classe en tête donc les terres légères sont mieux productrices [24].

L'Algérie est défavorisée à cet égard, hormis quelques zones littorales (Alger, Mostaganem et Annaba). Les autres régions présentent des terres dont la quantité constitue souvent un frein au parfait développement de cette culture [19].

Selon Loussert [2], une bonne qualité physico-chimique du sol se résume comme suit :

- ✓ Un sol favorable à l'installation d'un bon système racinaire des arbres, doit être homogène jusqu'à une profondeur minimum de 0,80 mètre. La terre doit présenter une bonne perméabilité à l'eau, car les agrumes craignent les excès d'humidité du sol (asphyxie racinaire). Ce sont en général les terres à texture équilibrée qui conviennent le mieux.
- ✓ Le taux de calcaire actif supporté par les *Citrus* est assez élevé (30-40%), mais les meilleurs résultats sont obtenus lorsque le taux de cet élément est compris entre 5 et 10 %. La présence d'une nappe phréatique à faible profondeur constitue ; par ses variations lors des pluies et irrigation, un danger constant pour les agrumes. De nombreuses orangeries algériennes des plaines intérieures en Mitidja et à Annaba reposent sur des terres ayant un plan d'eau, donc le drainage reste un élément important pour réussir cette culture.
- ✓ La teneur en calcaire actif du sol et son pH sont deux données importantes à connaître pour guider l'agriculteur pour le choix du porte-greffe. Rappelons que *Poncirus trifoliata* et ses hybrides du *Citrangé cariso*, présentent une faible résistance au calcaire actif du sol et au pH élevé (chlorose et carence en certains micro-éléments). Enfin, la teneur en sel dissous dans la solution du sol, en particulier en chlorure ne doit pas dépasser un certain seuil (seuil fixé au voisinage de 1 g/litre), sinon il y aura risque de phytotoxicité.

- ✓ Un sol permissif à la culture d'agrumes doit présenter les caractéristiques suivantes:
 - ▶ Une teneur satisfaisante en matière organique; en P_2O_5 et K_2O assimilable par les racines ;
 - ▶ Un pH entre 5,5 et 6,5;
 - ▶ Une faible teneur en calcaire actif ;
 - ▶ Absence ou teneur minimale en sel dissous.

2.3. Importance du porte-greffe :

Les propriétés recherchées dans un porte-greffe [28, 29, 30] :

- ✓ Tolérance aux pathogènes du sol (*Phytophthora*, *Fusarium*)
- ✓ Tolérance aux virus et viroïdes (tristeza, exocortis)
- ✓ Tolérance au pH du sol
- ✓ Tolérance à la salinité du sol
- ✓ Tolérance au froid
- ✓ Taille de l'arbre et la qualité du fruit
- ✓ Meilleure compatibilité avec le greffon

2.4. Principaux Porte -greffes utilisés

Il est bien connu que le porte-greffe joue un rôle primordial dans toutes les activités de l'arbre greffé ; il peut modifier la relation sol-variété greffée, le comportement vis-à-vis des maladies, la physiologie, l'adaptation au milieu et la qualité des fruits (Tableau 2.1) [28].

A toutes ces considérations, il s'ajoute des problèmes d'ordre génétique, car la multiplication des *Citrus* par semis est difficile sinon impossible à cause de l'aspermie et de l'hétérogénéité [9].

Tableau 2.1 : Caractéristiques et comportement des principaux porte -greffes utilisés dans le monde vis-à-vis certains facteurs biotiques et abiotiques [1, 28, 29, 30] :

Porte-greffes	Caractéristiques & Comportement
► Bigaradier ¹ Sour orange ² <i>Citrus aurantium</i> ³	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Phytophthora</i>.....Excellent • TristezaSensible • Viroïdes.....Sans Symptômes • Salinité.....Bien • Tolérance au froidMoyen • Qualité des fruits.....Excellent • Taille de l'arbre.....Large
► Poncirus ¹ Trifoliata orange ² <i>Poncirus trifoliata</i> ³	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Phytophthora</i>.....Excellent • TristezaExcellent • Viroïdes.....Très Susceptible • Salinité.....Très Sensible • Tolérance au froidExcellent • Qualité des fruits.....Excellent • Taille de l'arbre.....Petit
► Citrange ¹ Troyer trifoliata hybrid ou Carrizo trifoliata hybrid ²	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Phytophthora</i>.....Excellent • TristezaTrès Bien • Viroïdes.....Susceptible • Salinité.....Faible • Tolérance au froidBien • Qualité des fruits.....Très Bien • Taille de l'arbre.....Large
► Volkamer lemon ² <i>Citrus volkameriana</i> ³	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Phytophthora</i>.....Faible • TristezaExcellent • Viroïdes.....Sans Symptômes • Salinité.....? • Tolérance au froidfaible • Qualité des fruits.....très mauvais • Taille de l'arbre.....très large

<p>► <i>Citrus macrophylla</i>³</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Phytophthora</i>.....Excellent • TristezaTrès Sensible • Viroïdes.....Susceptible Pour Cachexie • Salinité.....Excellent • Tolérance au froidFaible • Qualité des fruits.....Faible • Taille de l'arbre.....Très Large
<p>► Swingle citrumelo²</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Phytophthora</i>.....Excellent • TristezaExcellent • Viroïdes.....Susceptible Pour Exocortis • Salinité.....OK • Tolérance au froid? • Qualité des fruits.....OK • Taille de l'arbre.....Large
<p>► L'oranger doux¹ Sweet orange² <i>Citrus sinensis</i>³</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Phytophthora</i>.....Très Susceptible • TristezaExcellent • Viroïdes.....Sans Symptômes • Salinité.....? • Tolérance au froidOK • Qualité des fruits.....Excellent • Taille de l'arbre.....large
<p>► Mandarine Cléopâtre ¹ Cleopatra mandarin²</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Phytophthora</i>.....OK • TristezaExcellent • Viroïdes.....Susceptible pour cachexie • Salinité.....Très bien • Tolérance au froidOK • Qualité des fruits.....OK • Taille de l'arbre.....large

¹ : le nom commun français

² : le nom commun Anglais

³ : le nom scientifique

CHAPITRE 3

MALADIES DU DEPERISSEMENT DES AGRUMES

Les agrumes, avec leur diversité, sont assujettis à plusieurs types de maladies physiologiques et parasitaires. A travers les régions agrumicoles mondiales, il a été rapporté plusieurs cas de ces maladies graves dont les dégâts ont pris un aspect désastreux.

En plus des maladies connues, affectant les parties végétales ou même les fruits pendant leur conservation, nous nous intéresserons aux maladies qui causent des états de dépérissement affectant en grande partie les arbres à grande échelle.

Nous désignons par maladies de dépérissement des affections variables par leur nature, mais caractérisées par une évolution généralement lente, aboutissant le plus souvent à la mort de la plante entière.

3.1. Les maladies à virus et à viroïdes

Parmi les nombreuses maladies de dépérissement qui atteignent les agrumes, les viroses paraissent occuper le premier plan par leur gravité (Appendices C, D) [28, 30].

3.1.1. La Tristeza «*Citrus tristeza virus*»

La tristeza (CTV) 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 au CTV qui a été très utilisé dans le passé à cause de sa résistance à *Phytophthora* et 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 (Fig.3.1) [29, 30, 31, 32, 33, 34].

CTV est un Closterovirus 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 (Appendice D) [35]

Le CTV est largement répandu dans les zones tropicales productrices d'agrumes, la transmission se fait par plusieurs espèces de pucerons de manière semi-persistante (Figure 3.2) [30, 31, 36]

Toxoptera citricida est le vecteur le plus efficace. Il n'est pas présent dans la région OEPP (liste OEPP A1), ni en Amérique du Nord, mais, en Amérique Centrale, on constate un déplacement vers le nord de cette espèce. *Aphis gossypii* est aussi un vecteur efficace de nombreux isolats bien que généralement peu fréquent sur agrumes. *A. citricola* et *T. aurantii* sont des vecteurs moins efficaces mais plus fréquents sur agrumes [28, 30, 33, 34, 36, 37].

Plusieurs souches du virus ont été décrites, différant entre elles par les symptômes qu'elles induisent sur de nombreux hôtes, par leur transmissibilité par les pucerons, par la configuration de leurs ARN bicaténaires, par leur carte peptidique et par leur réaction sérologique aux anticorps monoclonaux [38, 39, 40, 41].

Il existe trois souches de Tristeza induisant respectivement divers symptômes au champ :

- ▶ La souche 1 qui correspond au CTV dépérissement rapide (*quick decline*) : cette souche entraîne la mort de l'arbre suite à un greffage de certaines variétés d'agrumes [32].
- ▶ La souche 2 qui correspond au bois strié CTV-SP (*stem-pitting*) est considéré comme étant une souche sévère, causant des striures ou cannelures dans le bois. Sur pamplemoussier et oranger doux sans tenir compte du porte-greffe, cette souche cause une diminution de la productivité de l'arbre [32].
- ▶ La souche 3 qui correspond au jaunissement du semis CTV-SY (*seedling-yellow*) qui est une souche sévère induisant une chlorose pouvant amener à un fort dépérissement et même à la mort de l'oranger doux, du pamplemoussier et mandarinier greffés sur bigaradier [32].

Les arbres greffés sur bigaradier présentent des signes de dépérissement, défoliation, rabougrissement et souvent déclin total. Le virus induit une nécrose des tissus conducteurs de la sève au niveau du point de greffage, ce qui arrête le passage de la sève élaborée et provoque la mort des racines. Les cellules des rayons médullaires du bois se lignifient et des symptômes tels que striures inversées (inverse pitting), dessins polygonaux et des ponctuations apparaissent (Fig.3.1). Ces symptômes ne sont cependant pas spécifiques de la tristeza et peuvent aussi être induits par *Spiroplasma citri* (stubborn des agrumes) [30, 31, 32, 35, 36, 38, 39, 40, 42].

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. Les cultivars affectés et l'intensité des symptômes dépendent de la souche virale. Certaines peuvent induire ces symptômes sur la plupart des cultivars d'agrumes. Les fruits des arbres affectés (arbres dépérisissants greffés sur bigaradier ou arbres avec des striures sévères du bois) sont souvent petits et de mauvaise qualité [30, 31, 32, 35, 36, 38, 39, 40, 42].

Il faut mettre en œuvre des enquêtes à grande échelle, en utilisant un test ELISA avec des anticorps monoclonaux, pour détecter le plus tôt possible l'apparition du CTV dans les pays où le virus n'est pas présent, ou l'apparition de souches agressives dans des régions où il n'existe que des souches peu pathogènes du virus. Toute nouvelle apparition doit être éradiquée au plus tôt pour empêcher la dissémination du virus [42, 43, 44, 45].

Des programmes de certification doivent être établis dans tous les pays producteurs d'agrumes pour garantir la non-dissémination du CTV avec des greffons utilisés pour la propagation commerciale. Dans les pays où le CTV est déjà répandu, les programmes de certification doivent empêcher la dissémination de souches agressives du CTV dans les nouvelles plantations. Il peut être nécessaire dans certains cas de multiplier des cultivars délibérément infectés avec une souche peu pathogène du CTV pour protéger les arbres d'une infection par des isolats plus agressifs. L'OEPP développe actuellement un schéma de certification pour agrumes [28, 30, 32, 42, 43, 44, 45].



Figure 3.1 : Symptômes causés par le CTV (Photos illustrées par Dr. M.Cambra, IVIA, Espagne): **[A]** Le déclin rapide sur un arbre d'Oranger (*Citrus sinensis*) **[B]** Le stem-pitting sur lime (*Citrus aurantifolia*) **[C]** Eclaircissement des nervures **[D]** striures sur la face intérieure de l'écorce "inverse-pitting" [30, 43].

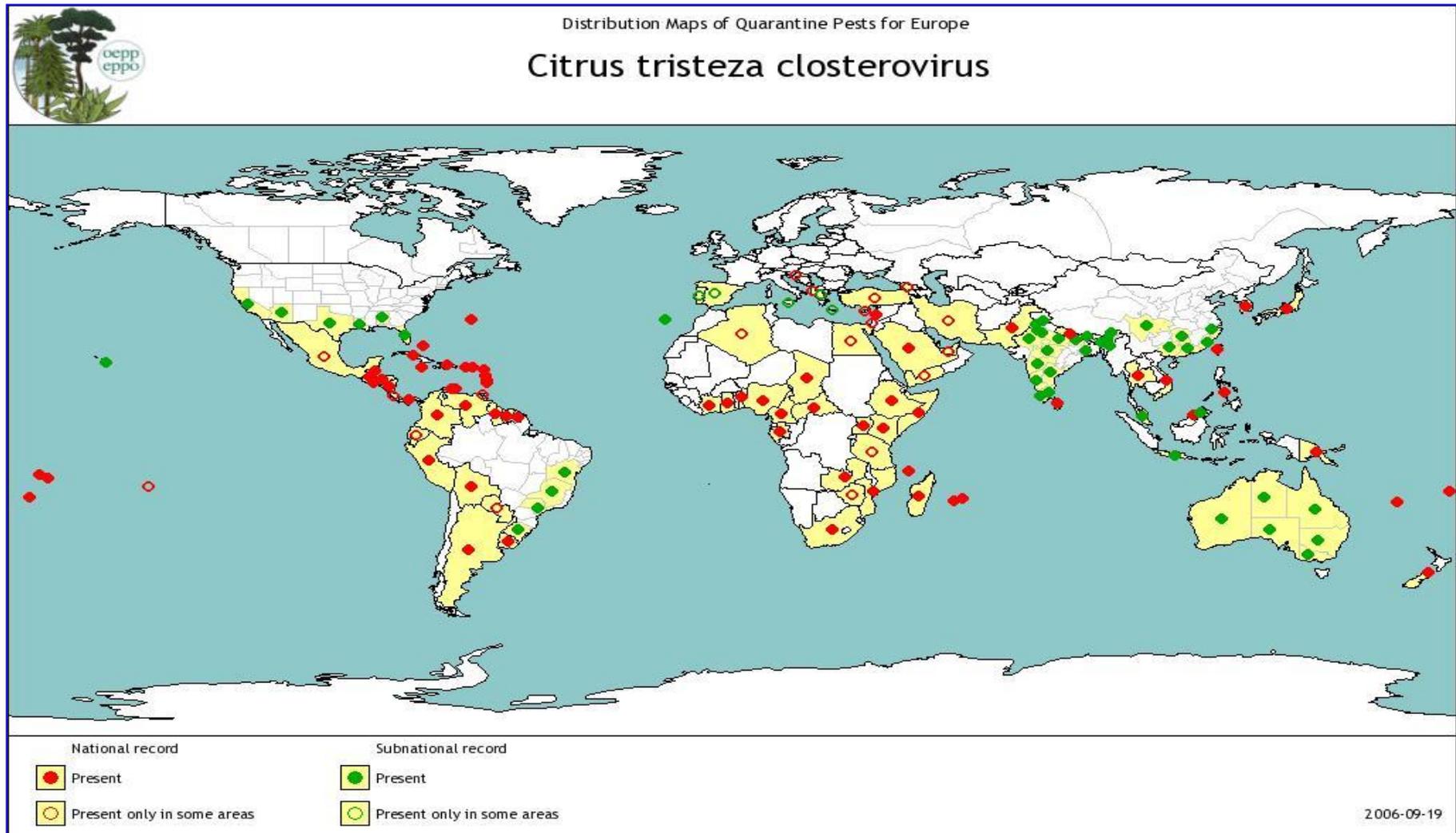


Figure 3.2 : Carte de la distribution géographique du CTV (*Citrus tristeza virus*) dans le monde [30, 43]

3.1.2. Le complexe « Psorose »

La psorose des citrus (CPsV) a été observé la première fois en Floride et la Californie dans le début des années 1890, elle a été appelée psorose du mot grec "psora" qui signifie ulcère bien que plus communément, elle a été connue comme "scaly bark" (écorce écailleuse), L'Orient est son centre d'origine et successivement elle a été disséminée dans le monde entier à travers la distribution d'espèces et de variétés d'agrumes [28, 32, 46, 47, 48, 49 50, 51, 52, 53, 54, 55].

Fawcett est le premier qui a prouvé la transmissibilité de la psorose par « greffe-inoculation" en greffant des bourgeons infectés sur des arbres sains [28, 32, 46]. Il y a trois types de la psorose ; Psorose-A, Psorose-B, et Psorose-taches annulaires (Appendice C) [28].

Fawcett a désigné la maladie comme psorose-A pour le distinguer d'une forme plus virulente appelée psorose-B. La psorose était examiné complètement par Timmer et Benatena en 1977 et encore examiné et illustré par Roistacher en 1980. Le symptôme typique de la psorose-A sur champ se manifeste par des lésions écailleuses sur le tronc de l'arbre, et la coloration rougeâtre interne du bois (Figure 3.3) [28, 46, 48, 49, 53, 54, 55].

L'agent responsable de la maladie de psorose des citrus c'est un virus (*Citrus psorosis virus*) à ARN négatif simple brin multipartite (3 ou 4 segments) qui mesure entre 11,3-12,5 kb, présent avec très petite quantité dans les tissus infectés, il peut être détecté par TAS-ELISA, RT-PCR et les plantes indicatrices (*chenopodium quinoa*). Derrick., *et al* [57] ont rapporté que deux composants sont associés au virus des tâches annulaires des citrus. Ces composants peuvent être isolés, et leur association cause l'infection. La protection croisée des formes plus douces de psorose-A prémunit contre la forme sévère de la psorosis-B est utilisé dans le diagnostique pour classer une maladie et confirmer son implication dans le complexe Psorose-A [28, 55, 56, 57, 58, 59].

Le virus des taches annulaires des citrus, souvent cité comme étant un virus distinct, il fait partie du complexe de la psorose-A et il ne s'agit donc pas d'un virus séparé [28, 30].

Il est à noter également que la corrélation entre « la panachure infectieuse, la frisolée, le concave gum, le cristacortis, l'impetratura, la psorose transmissible par la graine en Floride, la psorose de Bahia, l'écaillage de l'écorce de Trinidad » et la psorose A ou B n'est pas encore démontré [28, 30, 56, 57, 58, 59, 60].

Les variétés majeures susceptibles qui montrent "scaly bark" (Ecorce écaillée) sont l'oranger doux, la mandarine et le pamplemousse. Alors que le Bigaradier, le citron acide, et le citron rugueux ne montrent aucun symptôme externe sur l'écorce. La plupart des espèces de citrus et cultivars sont des porteurs asymptomatiques du virus [28, 47, 49].

La maladie se dissémine principalement par l'homme via le transport du matériel de propagation infecté. Il a été observé qu'un arbre d'Oranger doux (*Citrus sinensis*) âgé de 50 ans ne montre aucun symptôme d'écaillage sur champ, produit des arbres descendants avec plus de 60% présentent le symptôme d'écaillage sur tronc (Roistacher et Calavan, Travail non publié), bien que la psorose peut rester asymptomatique pour certains arbres hôtes ; le virus peut être transmis d'un arbre asymptomatique et induit le symptôme dans les arbres descendants [28, 32, 46, 51, 56].

Il est à signaler également qu'une grande confusion a été faite concernant la relation entre "Concave Gum" et la "Psorose" depuis que les deux peuvent causer des tâches foliaires dans les arbres au champ ou les plantes indicatrices; Roistacher et Calavan (1965) ont pu séparer ces deux maladies pour plusieurs raisons, principalement parce que la psorose-A cause un symptôme distinct qui est "l'écorce écaillée" sur l'Oranger doux (*Citrus sinensis*), la mandarine et le pamplemousse, vu que "Concave Gum" cause des concavités sur tronc et branches de l'Oranger doux et la mandarine et n'induit aucun symptôme de l'écorce écaillée [28,32, 48, 50, 52, 53, 54, 55].

Actuellement la forme sévère de la psorose se dissémine très rapidement en Argentine, et elle est relativement destructive. Les moyens de dissémination n'ont pas encore bien déterminés mais la transmission par vecteur est fortement suspectée (Figure 3.4) [28, 56, 58, 59, 60].

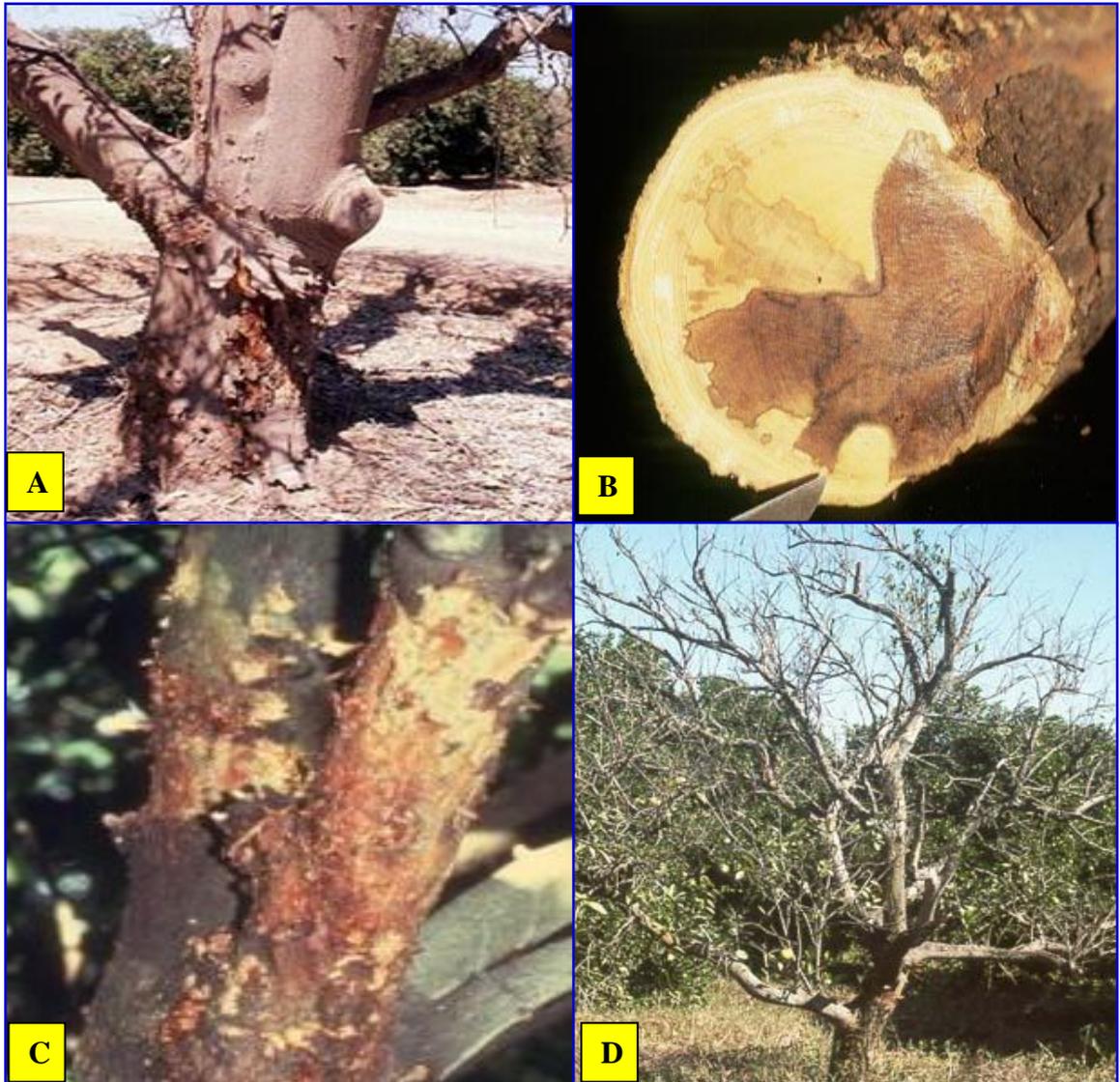


Figure 3.3 : Symptômes induits par la psorose ; **[A]** Ecaillage de l'écorce typique de la Psorose-A sur oranger **[B]** coloration du bois, **[C]** Ecaillage de l'écorce sur pomélo **[D]** Effet létal de la psorose sur un arbre en Mexique [28, 30].

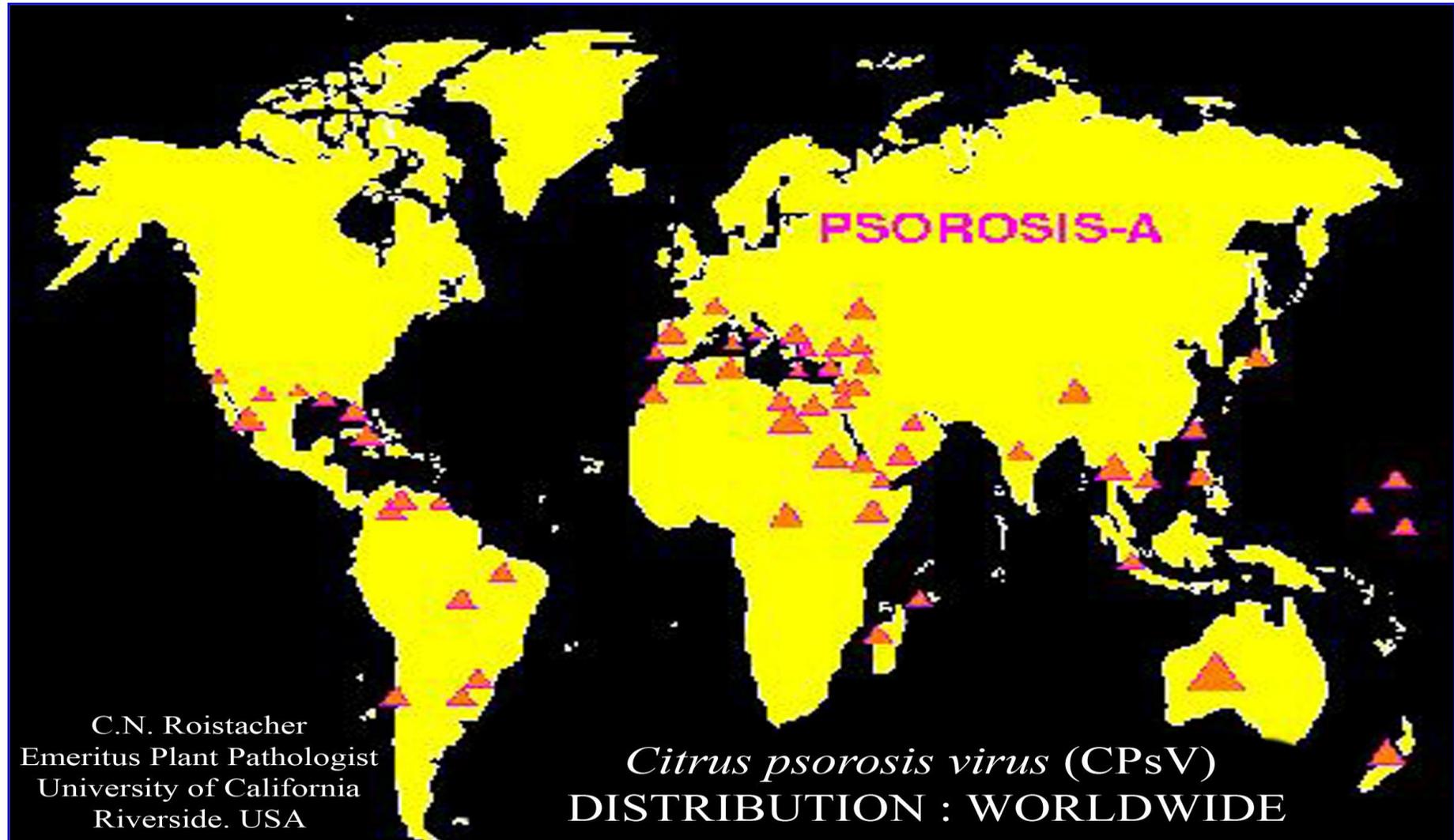


Figure 3.4 : Carte géographique montrant que la psorose-A est distribuée dans le monde entier (*Citrus psorosis virus*) [30]

3.1.3. La Cachexie

La cachexie est une maladie à viroïde causée par *Citrus cachexia viroid* (CCaVd), c'est un ARN de faible poids moléculaire avec environ 300 nucléotides, nommé et décrit pour la première fois par Childs en 1950 [28].

Elle induit le symptôme de la production de gomme sur les variétés et les porte-greffes de mandarine et ses hybrides, elle affecte sévèrement le tangelo (*C. reticulata* Blanco x *C. paradisi* Macf), certaines espèces de lime et les espèces du genre *Fortunella*. Cette maladie se dissémine principalement par l'homme durant l'échange du matériel végétal pour le greffage, et par transmission mécanique pendant la taille (Figure 3.5 et 3.7) [61, 62, 63].

Plusieurs espèces commerciales telles que l'oranger, pamplemousse, lemon et pomelo sont asymptomatiques, la même chose pour les porte-greffes comme le bigaradier, Trifoliata, et les hybrides de Trifoliata [64].



Figure 3.5 : Différent symptômes causés par CCaVd, **[A]** symptôme typique de la production de gomme sur le tronc de mandarine, **[B]** pitting sur tronc de mandarine, **[C]** la coloration marron-rougeâtre sur porte-greffe [28, 30].

3.1.4. L'Exocortis

L'agent causal de la maladie c'est un viroïde *Citrus exocortis viroid* (CEVd), c'est une molécule d'ARN de faible poids moléculaire d'environ 371 nucléotides, ces molécules peuvent être linéaires ou circulaires et le viroïde peut être transmis mécaniquement d'un arbre à un autre par les outils de travail. L'extraction de l'acide nucléique à partir de l'hôte asymptomatique ou à partir de jeunes pousses de citronnier symptomatiques se fait par la technique « S-PAGE » (sequential polyacrylamide gel electrophoresis) [28, 30, 65, 66].

Le symptôme typique sur champ induit par *Citrus exocortis viroid* (CEVd) c'est une sévère exfoliation de l'écorce sur le porte-greffe trifoliolate (*Poncirus trifoliata*) ou Rangpur lime (*Citrus limonia*) accompagné par différents degrés de rabougrissement de l'arbre, les branches peuvent montrer des taches jaunâtres (Stem blotching) (Figure 3.6) [30, 67, 68].

L'exocortis affecte sévèrement plusieurs porte-greffes et variétés d'agrumes, un grand nombre de variétés sont asymptomatiques et presque toutes les variétés greffées sur "le bigaradier" sont asymptomatiques ce qui a favorisé la propagation de la maladie dans le monde entier par la transmission mécanique (matériel de propagation infecté, outils de greffage et de la taille) (Figure 3.7) [28, 30, 67, 68].

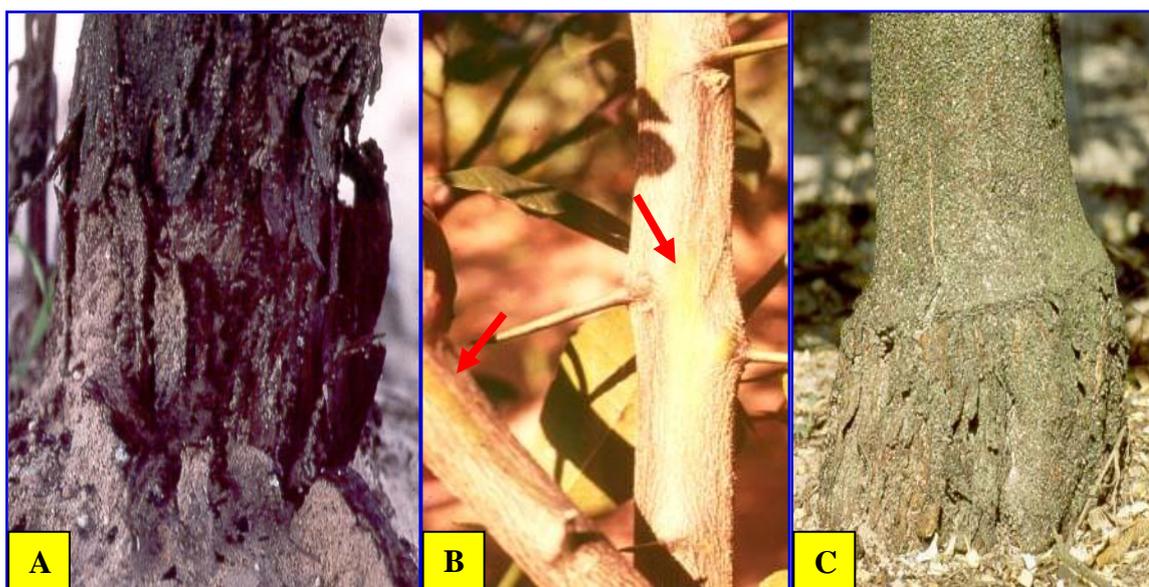


Figure 3.6 : Symptômes causés par *Citrus exocortis viroid* (CEVd): **[A]** symptômes classiques sur le porte-greffe trifoliolate, **[B]** jaunissement sur les tiges de Rangpur lime **[C]** l'exfoliation de l'écorce sur trifoliolate [28, 30]

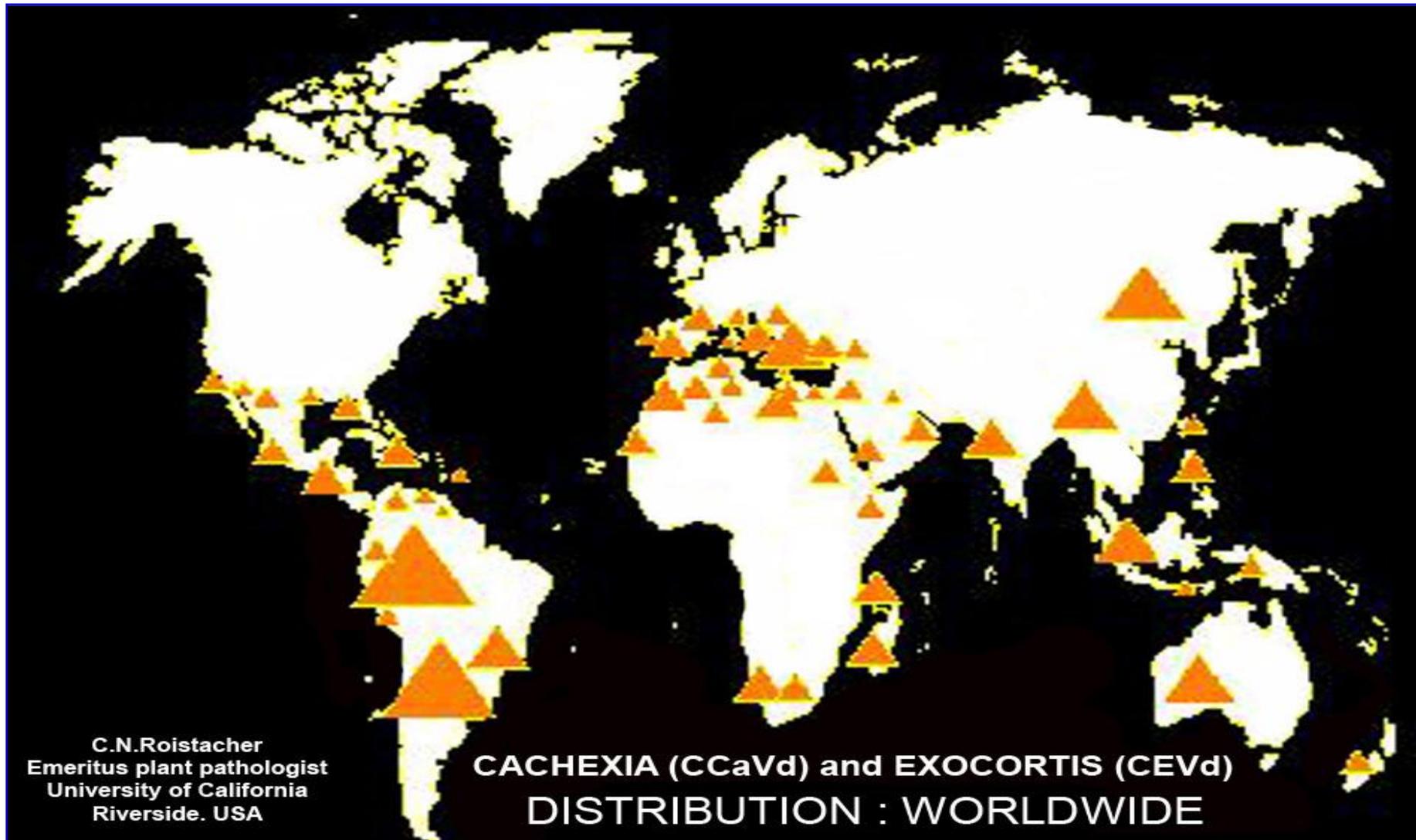


Figure 3.7 : Carte géographique montrant que la Cachexie (CCaVd) et l'Exocortis (CEVd) sont distribués dans le monde entier [30]

3.2. LES MALADIES BACTERIENNES

3.2.1. Le Stubborn des agrumes

Le stubborn est une grave maladie des agrumes, qui en conditions chaudes et sèches peut fortement réduire la qualité et la quantité de la production. L'agent causal *Spiroplasma citri*, est un Procaryote vasculaire de type Mollicute limité au phloème, cultivable sur milieu de culture. Il est transmissible par greffage et par deux espèces de Cicadelles, *Circulifer tenellus* et *Neotalitrus haematoceps*. Aucun de ces vecteurs n'a une préférence particulière pour les agrumes comme plantes-hôtes; ils peuvent donc acquérir *S. citri* sur d'autres plantes-hôtes. *S. citri* se multiplie dans ses insectes vecteurs qui deviennent infectieux 10 à 20 jours après la nutrition d'acquisition [30, 32, 69, 70, 71, 72].

Cette maladie, décrite de manière indépendante dans les années 1900 en Californie (Etats-Unis) et dans les années 1930 en Palestine, n'a pas été observée en Asie de l'est (d'où sont originaires les agrumes) ou en Afrique tropicale. *S. citri* s'est probablement propagé sur les agrumes à partir d'autres plantes-hôtes indigènes dans la zone méditerranéenne. On ne sait pas si *S. citri* en Amérique du Nord est introduit ou indigène. On sait que la cicadelle *C. tenellus* est d'origine méditerranéenne (Figure 3.9) [73].

Les arbres atteints sont plus ou moins rabougris. Les feuilles sont plus courtes et plus larges, bombées, anormalement dressées, parfois marbrées ou chlorotiques. En conditions très chaudes, les feuilles de certaines pousses peuvent avoir leurs extrémités déformées, pointues ou jaunes et en forme de cœur (critère de diagnose très caractéristique). Les pousses peuvent être anormalement groupées et le développement de bourgeons axillaires peut entraîner l'apparition de balais de sorcières. La production de fruits tend à être supprimée sur les plantes touchées. Les fruits peuvent être rabougris, dissymétriques ou en forme de cupule (c'est à dire avec un zeste épais à la base et fin à l'extrémité), ils peuvent présenter des inversions de couleur (l'extrémité pédonculaire se décolore alors que l'extrémité du côté du stylet reste verte) (Figure 3.8) [30, 73, 74, 75].

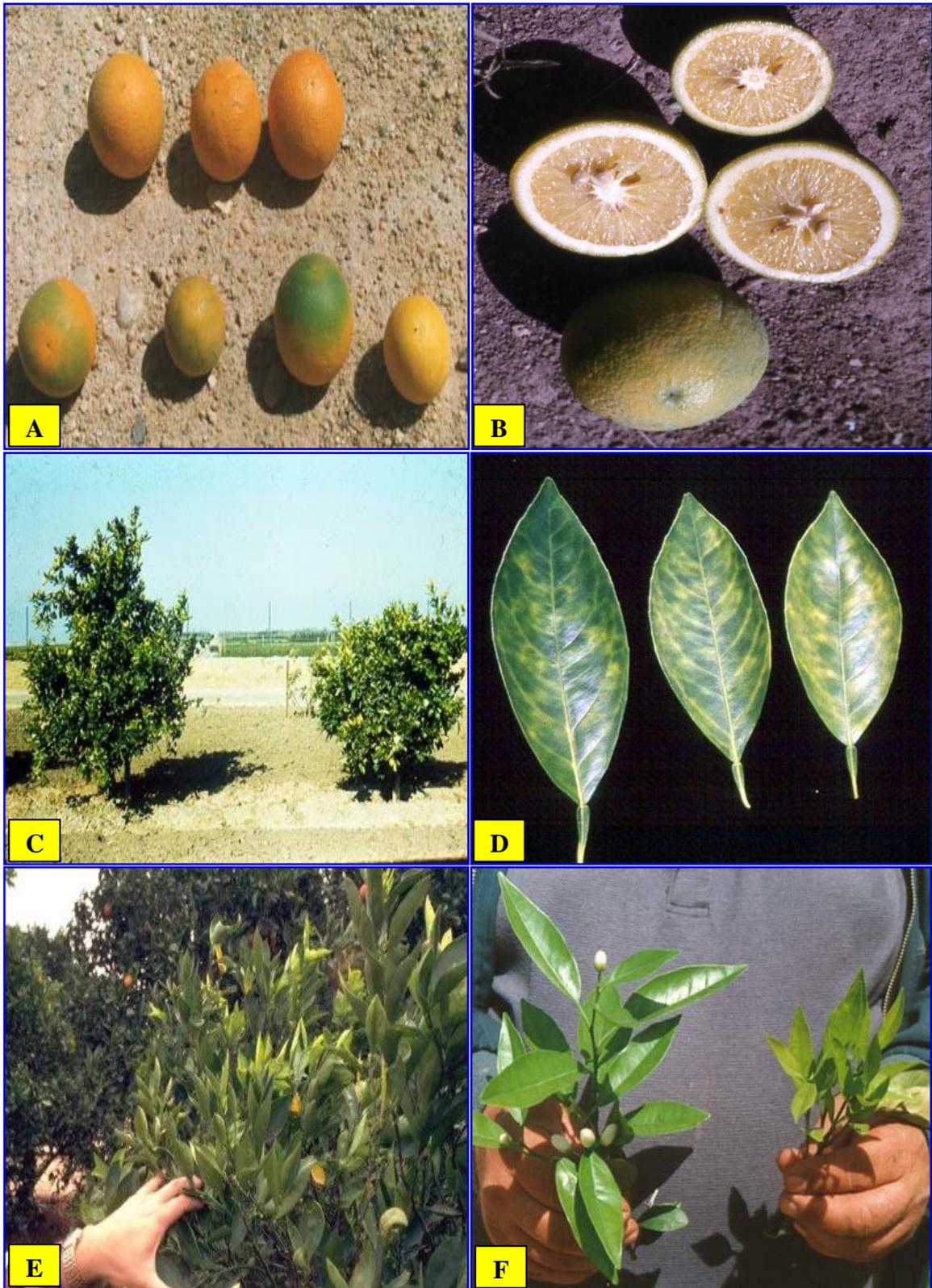


Figure 3.8 : Symptômes causés par *Spiroplasma citri* : **[A]** coloration inversée, **[B]** avortement des graines, **[C]** rabougrissement d'un arbre infecté par le stubborn à droite, **[D]** marbrure typique de stubborn, **[E]** symptôme de balais de sorcières, **[F]** jaunissement et réduction des pousses à droite [30, 70, 73, 75].

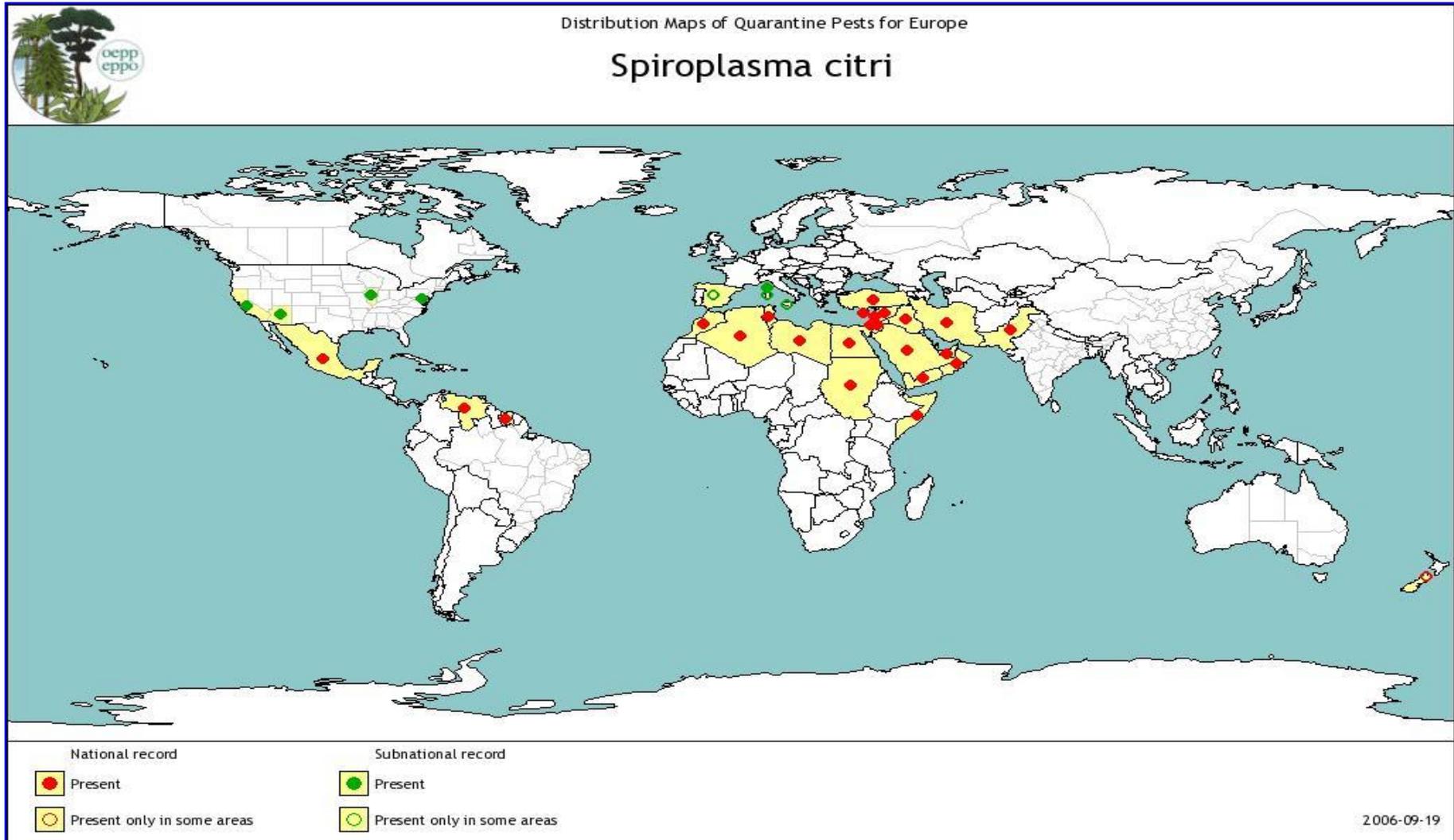


Figure 3.9 : Carte de distribution géographique du Stubborn des agrumes *Spiroplasma citri* [30, 43, 73].

3.2.2. Le Huanglongbing (HLB) ou Greening des citrus

Le Huanglongbing "HLB", est le nom commun officiel adopté par l'organisation international des virologistes de citrus (IOCV) et la société Américaine de phytopathologie (APS) en 1995 pour la maladie du Greening des agrumes ou encore appelé « yellow shoot disease » (maladie des pousses jaunes), actuellement c'est la maladie la plus destructive des citrus dans le monde entier (Appendice A) [30, 76, 77, 78, 79].

Cette maladie est due à une bactérie située exclusivement dans les tubes criblés du phloème des plantes atteintes, Gram négative et non cultivable, la bactérie appartient au genre *Candidatus Liberibacter*. Il existe trois formes de HLB causées par trois espèces différentes ; *Candidatus Liberibacter asiaticus* (pour les pays asiatiques, en Floride, et au Brésil), *Candidatus Liberibacter africanus* (dans les pays africains), et *Candidatus Liberibacter americanus* (au Brésil), ces trois formes se distinguent par la température, l'humidité et l'altitude (Figure 3.10) [30, 78, 79].

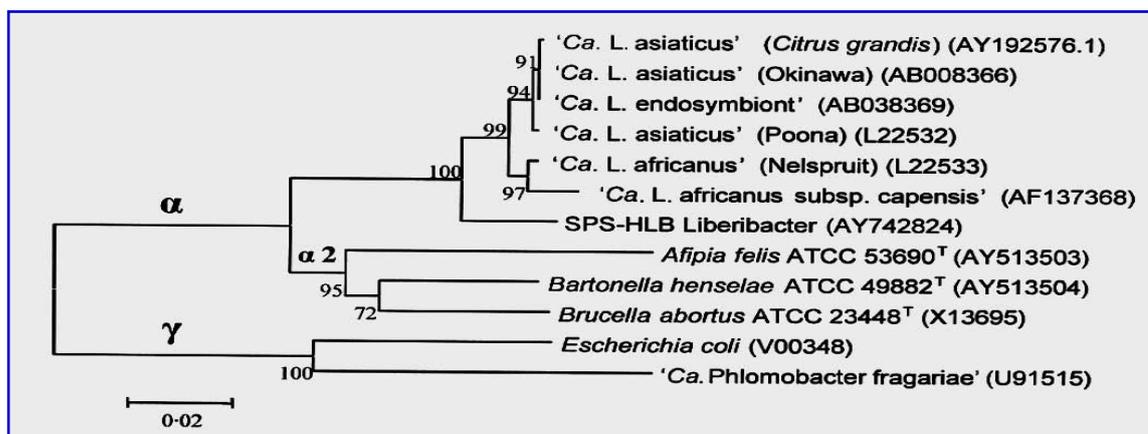


Figure 3.10 : Arbre phylogénétique construit par MEGA version 2.1 en utilisant 16s rDNA (entre parenthèses c'est le numéro pour accéder à la banque de gènes) [78]

Les symptômes de la forme africaine, se manifestent à des températures basses, ceux de la forme asiatique et américaine, apparaissent à des températures élevées. En générale, les symptômes des formes asiatiques sont plus virulents que ceux des formes africaines. La bactérie du HLB infecte presque tous les hybrides, cultivars et espèces d'agrumes ainsi que certaines espèces proches des agrumes (Figure 3.12) [78, 79, 80].

Les arbres atteints peuvent avoir une croissance libre, rabougrissement, dépérissement des rameaux, feuillage jaune peu dense, chute importante des fruits, sur certains arbres et dans certains pays (Chine) les symptômes apparaissent d'abord sur une branche principale de l'arbre atteint (aspect de branche jaune); un dépérissement grave est observé surtout avec la forme asiatique (Figure 3.11) [30].

Les symptômes du HLB se manifestent également de la manière suivante [30, 76, 78, 79] :

► Symptômes sur fruits : Certains fruits restent peu développés, ont un aspect déversé et sont peu colorés. Lorsqu'on exerce une pression avec le doigt, une tache blanc-grisâtre cireuse apparaît parfois à la surface du zeste. Les pépins avortent souvent. Le symptôme de verdissement (greening) que l'on observe surtout en Afrique se voit sur les fruits qui ne mûrissent que du côté exposé au soleil (Figure 3.11).

► Symptômes foliaires : marbrure et ressemblant à ceux d'une carence en zinc sont très fréquents et caractéristiques. Les feuilles développées présentent souvent des taches irrégulières entre les nervures principales. Les nervures sont souvent proéminentes et jaunes (Figure 3.11).

► Symptômes histologiques : Des zones localisées de phloème nécrotique sont disséminées dans le système vasculaire des feuilles. On observe une accumulation massive d'amidon dans les plastes ainsi qu'une activité anormale du cambium et une formation excessive de phloème.

Le HLB est transmis sur de longues distances par greffage, La distribution de la bactérie du HLB dans l'arbre infecté pouvant être irrégulière, seuls certains bourgeons contiennent la bactérie ou transmettent la maladie. Plus la présence d'inoculum dans les tubes criblés du phloème est importante, plus la probabilité d'une transmission par greffe est élevée. La bactérie se transmet également par deux espèces de psylles: *Trioza erytreae*, le vecteur de la forme africaine et *Diaphorina citri*, le vecteur des deux autres formes. Le premier vecteur, *Trioza erytreae*, vit en Afrique, au Yémen et dans les îles de l'océan indien et il est associé à la forme africaine du HLB (Figure 3.11) [78, 79, 80, 81, 82].

La transmission de la bactérie au psylle est persistante et s'accompagne d'une phase de latence pendant laquelle l'insecte infecté ne transmet pas la maladie; la bactérie se multiplie dans le psylle vecteur. En raison de la phase de latence, la plupart des psylles ne peuvent transmettre le HLB que lorsqu'ils sont parvenus au dernier stade de la nymphe ou devenus adultes. Dès qu'ils sont contaminés, les psylles peuvent transmettre le HLB pendant toute leur durée de vie [78, 79, 83, 84, 85].

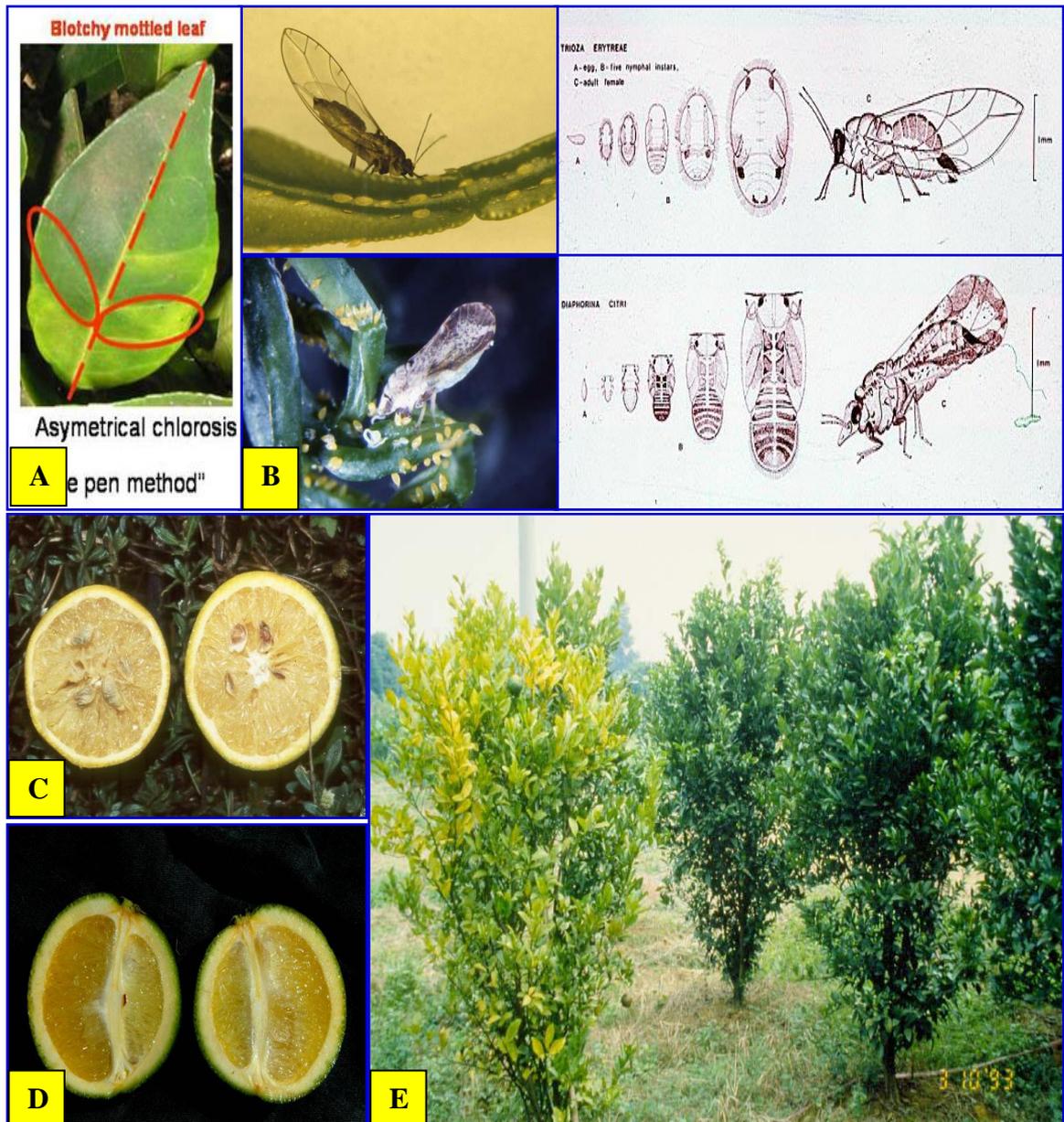


Figure 3.11 : Symptômes du greening (HLB) ; **[A]** jaunissement asymétrique (marbrure) typique sur champ, **[B]** les deux psylles vecteur du HLB, *T. erytreae* en haut et *D. citri* en bas, avec ses différents stades nymphaux **[C]** avortement des graines, **[D]** fruit courbé, **[E]** jaunissement des jeunes pousses [30,78,79].

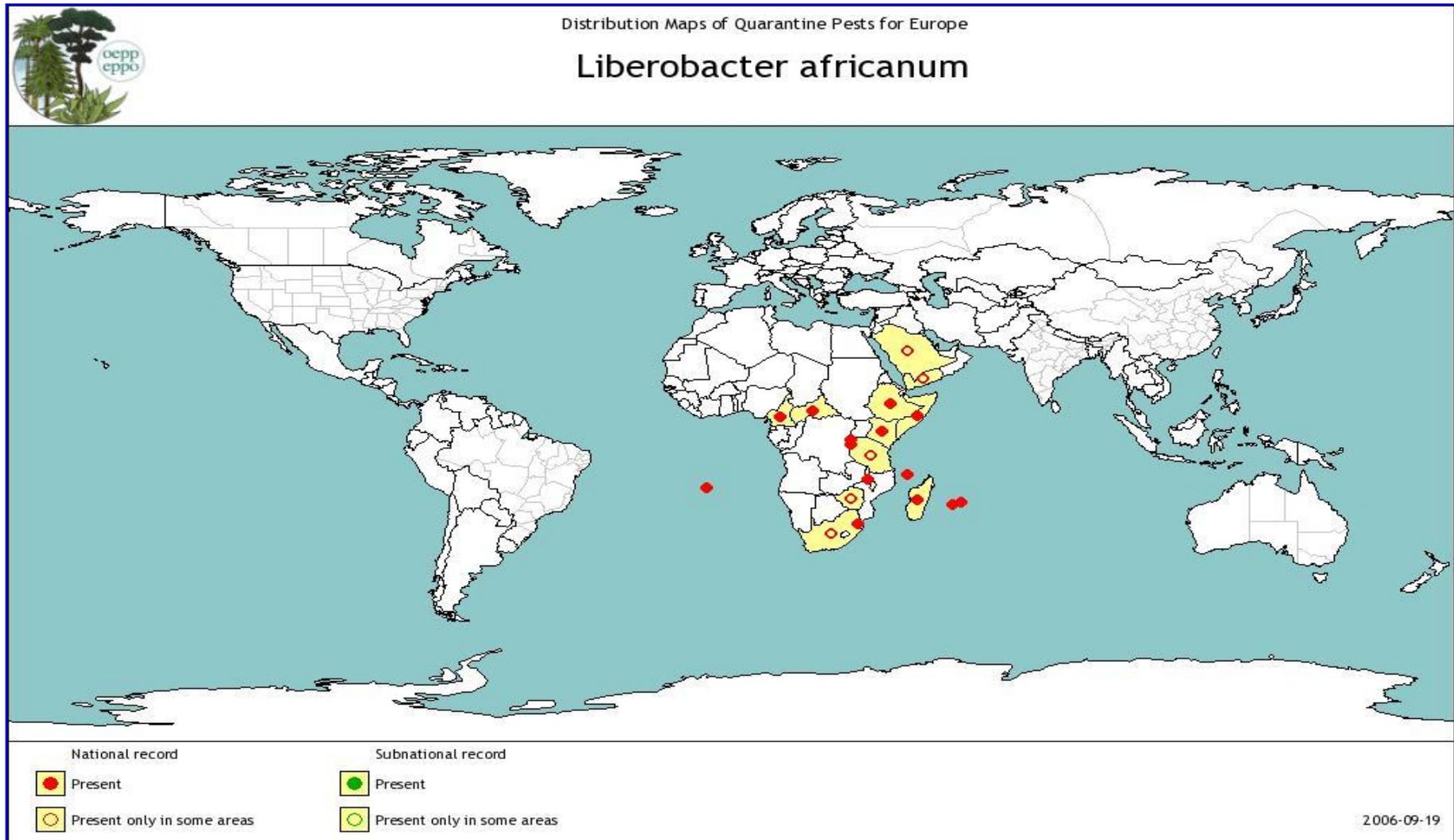


Figure 3.12 : Carte de distribution géographique de la forme Africaine du HLB « *Candidatus Liberibacter Africanum* » [30, 43]

3.2.3. La Chlorose Variéguée des Agrumes «CVA»

La chlorose variéguée des agrumes ou en anglais «Citrus Variegated Chlorosis» (CVC) causée par le premier agent phytopathogène complètement séquencé *Xylella fastidiosa*, est une bactérie fastidieuse Gram-négative confinée au xylème, en forme de bâtonnet avec des parois cellulaires ondulées caractéristiques. Elle n'est pas flagellée, ne forme pas de spores et mesure 0,1 à 0,5 µm x 1 à 5 µm. *X. fastidiosa* ne prolifère que dans les vaisseaux du xylème des racines, tiges et feuilles. Les vaisseaux sont finalement bloqués par des agrégats bactériens et par des gommes produits par la plante. Le génome de cette bactérie est composé d'un ADN chromosomique circulaire de 2 679 305 Pb et deux plasmides 51 158 Pb et 1 285 Pb (Figure 3.13) [30, 86, 87, 88].

La chlorose variéguée a été décrite par Roistacher comme "la maladie des orangiers la plus destructrice au monde". Elle s'est rapidement disséminée au Brésil et semble inarrêtable. Dans une étude réalisée en juin 1990, 13 des 920 lieux examinés dans l'état de São Paulo présentaient des arbres atteints. Dans un suivi ultérieur d'août 1991, 72 des 920 lieux étaient infectés (une multiplication par 5 en tout juste 14 mois). Au total 1,8 million d'arbres étaient alors infectés et certains producteurs de l'état de São Paulo ont replanté des manguiers plutôt que des agrumes [43, 30].

La maladie affecte particulièrement l'oranger (*Citrus sinensis*); elle a été observée particulièrement sur les cultivars Pera, Hamlin, Natal et Valencia. Elle se rencontre sur les arbres greffés sur les porte-greffes habituellement utilisés au Brésil: *C. limonia*, *C. reshni* et *C. volkameriana*. La maladie n'a pas été observée sur *C. latifolia* ou sur mandarinier (*C. reticula*), même lorsque les arbres étaient plantés dans des vergers d'orangers sévèrement atteints. Certaines espèces adventices sont aussi des plantes-hôtes qui servent de réservoirs d'infections [30, 43, 89, 90].

Les arbres infectés montrent des symptômes de chlorose variéguée de la pépinière jusqu'à un âge de 7 à 10 ans. Ces jeunes arbres sont systématiquement infectés par *X. fastidiosa*. Les arbres de plus de 15 ans ne sont généralement pas totalement atteints, mais plutôt ils ont une ou deux branches charpentières présentant des symptômes (Figure 3.13) [30].

Les arbres atteints présentent une chlorose foliaire qui ressemble à une carence en zinc avec une chlorose internervaire. Lors de la maturation des feuilles, de petites lésions gluantes, marron-clair et légèrement surélevées qui deviennent marron-foncé ou même nécrotiques apparaissent à la face inférieure, correspondant aux zones chlorotiques jaunes de la face supérieure (Figure 3.13) [30, 43, 89, 90].

Le calibre des fruits est fortement réduit, La teneur en sucre est plus élevée que dans les fruits sains, le fruit possède un zeste dur qui endommage les machines récoltant le jus. La floraison et la nouaison ont lieu au même moment chez les arbres sains et les arbres atteints, mais la chute normale des jeunes fruits n'a pas lieu sur les arbres atteints et les fruits restent petits et s'épanouissent plus tôt. Les arbres touchés sont rabougris et ont une vitesse de croissance lente; les rameaux et les branches dépérissent et la couverture foliaire se raréfie, sans toutefois que les arbres ne meurent (Figure 3.13) [30, 43, 90].

La bactérie est transmissible par plusieurs espèces d'insectes piqueurs-suceurs communs dans les zones de production d'agrumes du Brésil. L'efficacité varie selon les espèces. L'adulte contaminé par *X. fastidiosa* conserve toute sa vie sa capacité à transmettre la bactérie. Au Brésil, ils ont identifié au moins 11 espèces de piqueurs-suceurs capables de transmettre la CVA. Les vecteurs brésiliens les plus importants sont *Acrogonia terminalis*, *Dilobopterus costalimai*, et *Oncometopia fascialis* [30, 43, 91].

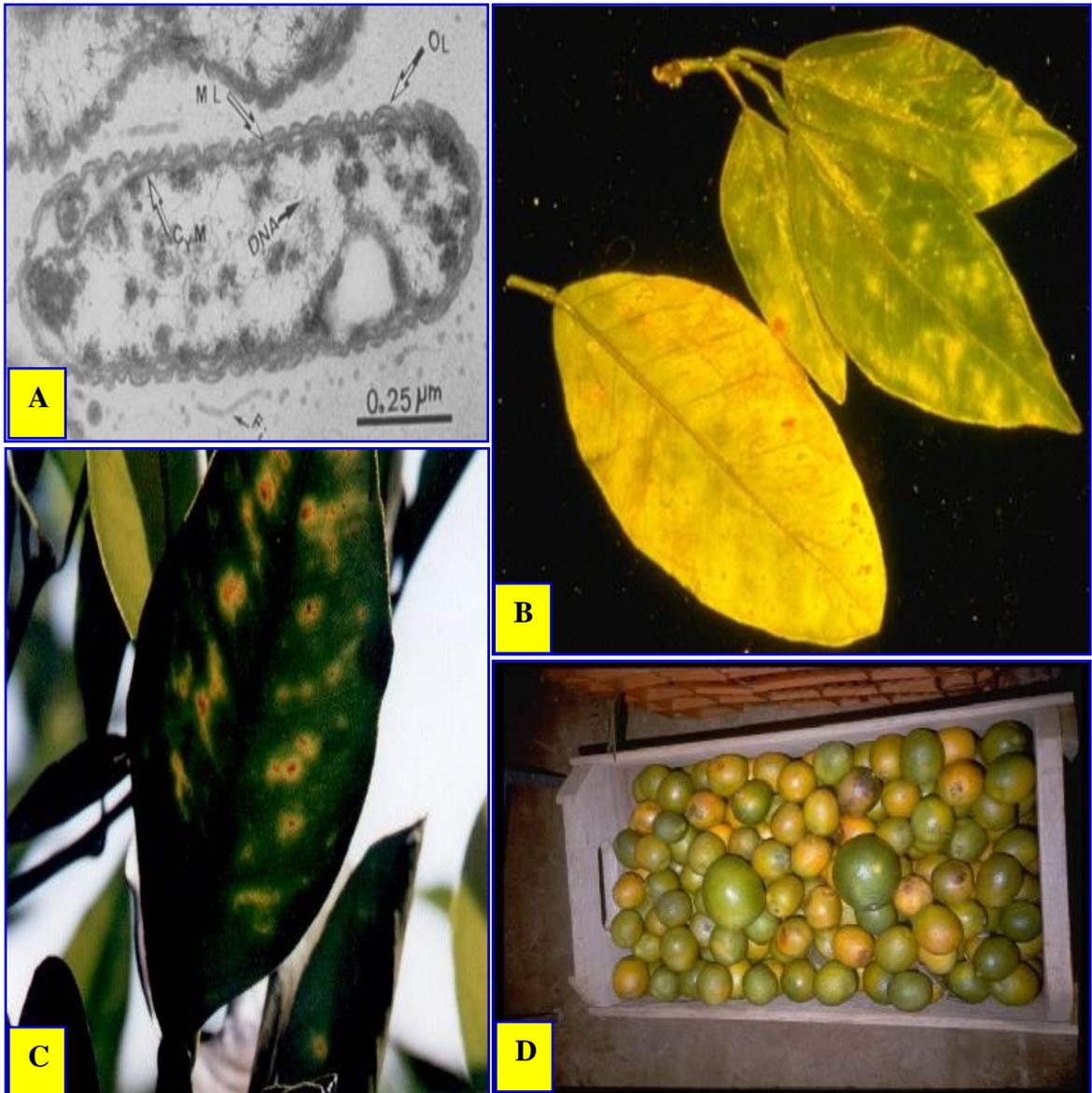


Figure 3.13 : La chlorose variéguee des agrumes, **[A]** la bactérie de la CVA sous microscope électronique à transmission (1-3.5 μ m x 0.3-0.5 μ m), **[B]** jaunissement accompagné avec de petites taches gommeuses, **[C]** chlorose internervaire sur oranger, **[D]** réduction de la taille des fruits [30].

3.2.4. Le chancre bactérien des agrumes

Le chancre bactérien est une maladie très grave sur les agrumes dans le monde entier, cinq formes de la maladie ont été décrit jusqu'à présent, le chancre "A", "B", "C", "D", et "E". L'agent causal de la maladie est la bactérie *Xanthomonas campestris* pv. *citri* (ou *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*), il se classe actuellement sous trois pathovars, *citri* (la souche "A"), *aurantifolii* (les souches "B/C/D"), et *citrumelo* (la souche "E") [92, 93, 94, 95].

La maladie est probablement originaire du sud-est de l'Asie. Ensuite, le pathogène s'est disséminé à travers toute l'Asie puis en Afrique, Océanie et en Amérique du Sud. Ces dernières années, la maladie est apparue dans des îles de l'Océan Indien, au Moyen Orient et en Amérique du Nord. Des souches provoquant une forme plus modérée de la maladie et possédant une gamme de plantes-hôtes plus restreinte ont été signalées en Amérique du Sud (souches B, C et D), la maladie n'est pas présente dans la zone EPPO (Figure 3.15) [94, 95].

Les sources d'inoculum primaire des infections de printemps sont les lésions des pousses et des feuilles, provoquées par une infection de l'automne précédant et dans lesquelles le pathogène passe l'hiver. La bactérie survit dans les lésions des feuilles de tiges et des fruits qui se développent au cours du printemps. Les lésions de la saison en cours sont des sources de bactéries pour des infections secondaires [93].

Cette maladie produit essentiellement des taches et des lésions sur les feuilles, les tiges et le fruit. Les premières lésions apparaissent sous la forme de petites taches chlorotiques qui se transforment, en s'élargissant, en lésions présentant des centres nécrosés entourés d'un halo chlorotique. Les lésions anciennes ont souvent l'aspect du liège. La taille de la lésion dépend de l'âge du tissu végétal lorsque la lésion commence et de la sensibilité du cultivar. La prévalence de lésions chancreuses entraîne l'abscission de la feuille, la chute du fruit et le dépérissement du rameau (Figure 3.14) [30, 43, 93, 94, 95].

Le chancre des agrumes est disséminé sur de longues distances par le déplacement de plants ou de tissus végétaux infectés, ou de matériel contaminé; Les vents pluvieux propagent la maladie sur les arbres proches. Les nouvelles infections ne se produisent que dans les tissus jeunes et exigent une certaine hygrométrie et une pénétration par les stomates. Les galeries creusées dans les feuilles par la mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella*, procurent au chancre des agrumes d'excellentes voies de pénétration et de circulation dans la feuille et rendent la lutte contre cette maladie plus difficile [93, 94, 95].

La maladie est très grave dans les zones à température élevée (14-38°C) et à pluviosité élevée (plus de 1000 mm par année) pendant la période de végétation. L'infection est également favorisée par des vents dépassant 6,5 m s⁻¹ et par les blessures. C'est une maladie des zones tropicales et subtropicales mais elle peut aussi se produire et s'établir dans des zones tempérées ou arides en l'absence de mesures de lutte adéquates (Figure 3.15) [96, 97, 98, 99, 100].



Figure 3.14 : Symptômes induits par la bactérie *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ; **[A]** lésions spongieuses au niveau de la feuille, **[B]** chancre au niveau de la tige (M.Goto), **[C]** lésions en forme d'un volcan, **[D]** lésions marron au niveau de l'écorce [43].

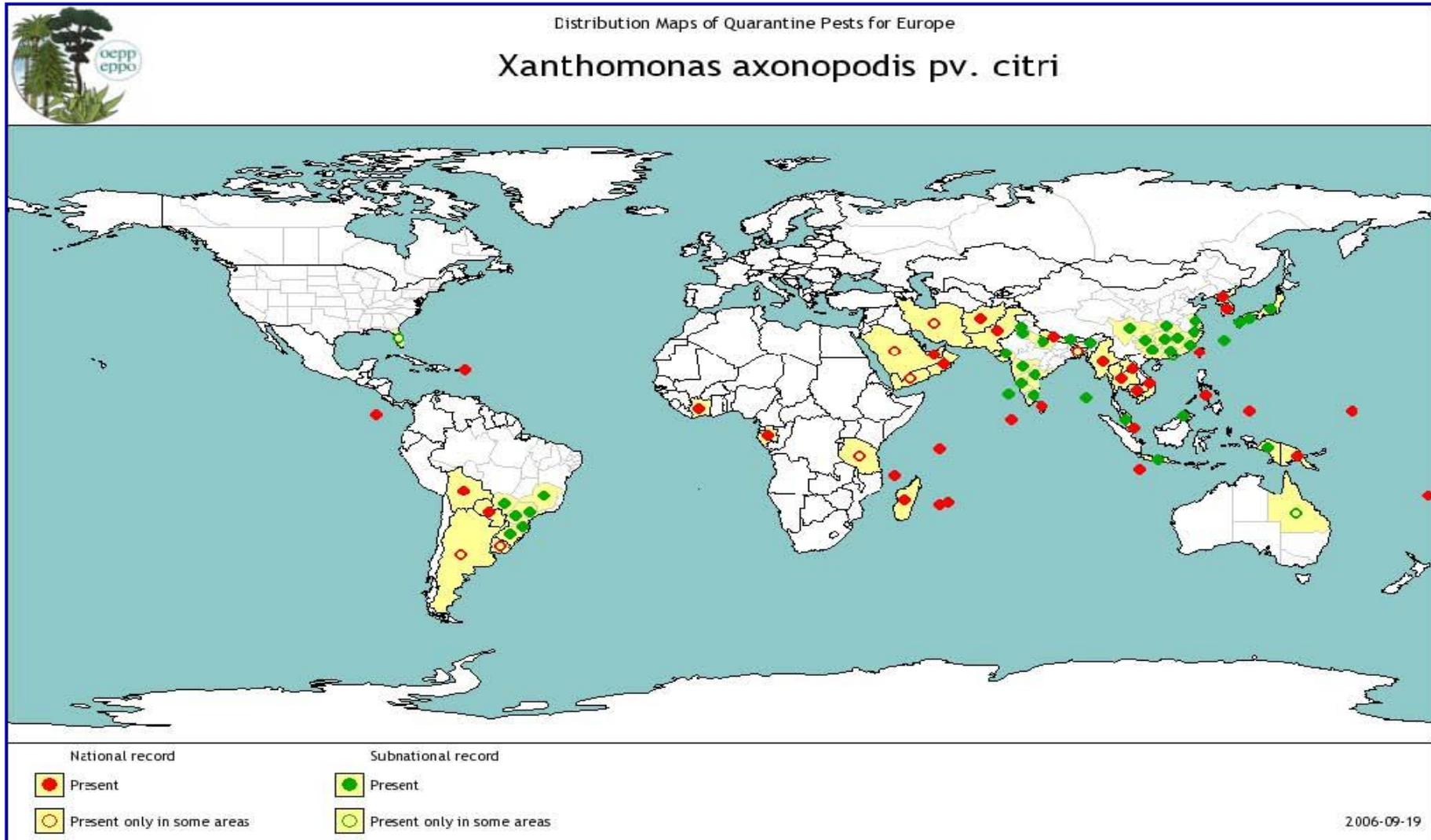


Figure 3.15 : Carte de distribution géographique du chancre des agrumes causé par *Xanthomonas axonopodis* pv. *Citri* [30, 43].

3.3. LES MALADIES FONGIQUES

De nombreuses maladies fongiques sont susceptibles de causer le dépérissement des Agrumes, sans toutefois présenter la gravité des viroses. En effet, grâce à un diagnostic précoce d'une part, et à toute une gamme de fongicides d'autre part, ces affections sont en général facilement maîtrisées, à condition qu'elles soient traitées à leur début. Plus la maladie est avancée, moins la lutte est aisée. Ces dernières années, de nombreux cas de dépérissement d'origine fongique ont été signalés dans le monde et qui reste difficile voir impossible à les contrôler [30, 43].

3.3.1. Maladies causées par *Phytophthora* spp

Les *Phytophthora* spp, causent un grand nombre de maladies d'importance économiques dans le monde entier. Les pertes sont occasionnées en premier lieu dans le stade semis par la maladie «Damping-off », dans la pépinière par deux autres maladies « la gommoise et le chancre du collet », puis encore au niveau du verger (du stade plantation au stade production) par « le chancre du collet, la pourriture fibreuse de racines», et enfin « la pourriture marron » sur les fruits dans le stade récolte et durant le stockage [101, 102, 103].

Ces maladies sont communément rencontrées dans la plupart des régions de production d'agrumes dans le monde, et peuvent être confondues avec les maladies systémiques et les maladies qui sont transmissibles par greffage (graft-transmissible diseases) [102].

3.3.1.1 Le «Damping-off» ou pourriture au stade semis

Cette maladie est causée par plusieurs agents fongiques d'origines telluriques qui sont [104, 105, 106] :

- ✓ *Rhizoctonia solani* (fortement impliqué)
- ✓ *Phytophthora nicotianae* (souvent)
- ✓ *Phytophthora citrophthora* (souvent)
- ✓ *Fusarium* spp (pas souvent)
- ✓ *Pythium* spp (rare)

Pour les attaques de *Rhizoctonia solani* la plante peut mourir pendant un temps très court à cause de la transmission rapide du pathogène dans le sol, le symptôme typique de cette affection est la coloration marron de la partie basale de la tige. Ce champignon n'est pas transmissible par graine (Figure 3.16) [106].

La dissémination de ces agents fongiques est sous forme « tache d'huile » en présence des conditions optimales ; température entre 10 et 30°C, humidité élevée et un faible taux de lumière (Figure 3.16) [107].



Figure 3.16 : Symptômes causés par les agents de « Damping-off » ; [A] affections de *Phytophthora* spp dans la pépinière, [B, C] attaques de *Rhizoctonia solani* sur bigaradier [102, 105].

3.3.1.2. «Gombose Parasitaire» et «chancre du collet»

La gombose est l'une des maladies les plus redoutables; rencontrée dans l'ensemble des régions où les agrumes sont cultivés, elle présente des appellations différentes selon les régions, les principaux synonymes sont [43] :

- ✓ En France on la désigne sous les noms mildiou des agrumes, Gombose parasitaire, Chancre du collet, Pourriture du collet ;
- ✓ En Italie on l'appelle Mal di Gomma ;
- ✓ Dans les pays anglophones elle est désignée par Gummosis ;
- ✓ En Argentine est appelée Gommosis deltronco.

Cette grave maladie est due principalement à deux champignons ; *Phytophthora nicotianae* (syn. *P. parasitica* ; syn. *P. nicotianae* var. *parasitica*) et *Phytophthora citrophthora* [101, 102, 103, 104, 105, 108].

- Classification du genre *Phytophthora* [29]:

- ✓ Règne : Chromista
- ✓ Phylum : Oomycota
- ✓ Classe : Oomycètes
- ✓ Ordre : *Peronosporales*
- ✓ Famille : *Pythiaceae*
- ✓ Genre : *Phytophthora*
- ✓ Espèces : *Phytophthora* spp

La distribution et la virulence des différentes espèces de *Phytophthora*, aussi bien dans l'espace que dans le temps, sont fonctions de la température et de l'humidité [109]

Dans le cas des attaques avancées, le champignon infecte les racines, le collet et le tronc (en causant la pourriture puis le chancre du collet), les branches, les rameaux, les feuilles, les fleurs et même les fruits. L'arbre infecté réagit par des sécrétions de gommes ayant une odeur acide (symptôme typique) qui obstruent les vaisseaux de la plante, engendrant un arrêt dans la circulation de la sève. Les parties de l'arbre qui ne sont plus desservies par la sève perdent leurs feuilles, se dessèchent et meurent. Les feuilles jaunissent se fanent et tombent et finalement l'arbre se dépérit (Figure 3.17) [101, 102, 105, 106, 110].

La surface des zones attaquées de l'écorce devient humide; la pourriture s'installe et gagne en étendue et en profondeur. Les zones atteintes brunissent et ne tardent pas à se dessécher et se craqueler, l'écorce et le bois sous-jacent sont tués (Figure 3.17) [109, 110].

La transmission de la maladie est assurée par les zoospores biflagellées qui sont très mobiles, et avec les filaments mycéliens qui restent dans le sol pendant de nombreuses années, même en l'absence totale de Citrus. La présence de cils chez les zoospores leur procure une vie strictement aquatique. Les eaux d'irrigation et de pluie leur servent de véhicules et causent de nouvelles infestations [105, 106, 108, 109].



Figure 3.17 : Symptômes induits par différentes espèces du genre *Phytophthora* ; **[A]** la gommose dans un stade avancé, **[B]** Exsudation de gomme, symptôme typique de la gommose, **[C]** Symptôme typique du chancre du collet (Foot rot) [102, 105].

3.3.1.3. Pourriture fibreuse de racines

La pourriture fibreuse de racines (Fibrous root rot ou *Phytophthora* root rot), Cette maladie cause la destruction du cortex des racines de nutrition, en laissant la partie centrale de racine intacte (fibres), plusieurs espèces de *Phytophthora* spp sont associées à cette pourriture, les espèces isolées sont [109]:

- ✓ *Phytophthora nicotianae*
- ✓ *Phytophthora citrophthora*
- ✓ *Phytophthora syringae*
- ✓ *Phytophthora hibernalis*
- ✓ *Phytophthora palmivora*
- ✓ *Phytophthora citricola*
- ✓ *Phytophthora megasperma*
- ✓ *Phytophthora cactorum*
- ✓ *Phytophthora cinnamomi*

Les deux premières espèces sont fortement impliquées dans la cause de cette pourriture, les symptômes spécifiques pour cette affection se manifestent par un jaunissement généralisé de la frondaison, chute du feuillage, dépérissement des rameaux et développement de petits bourgeons sur les rameaux, faible développement et abondance de la floraison et les transplants n'arrivent pas à se développer (Figure 3.18) [109].

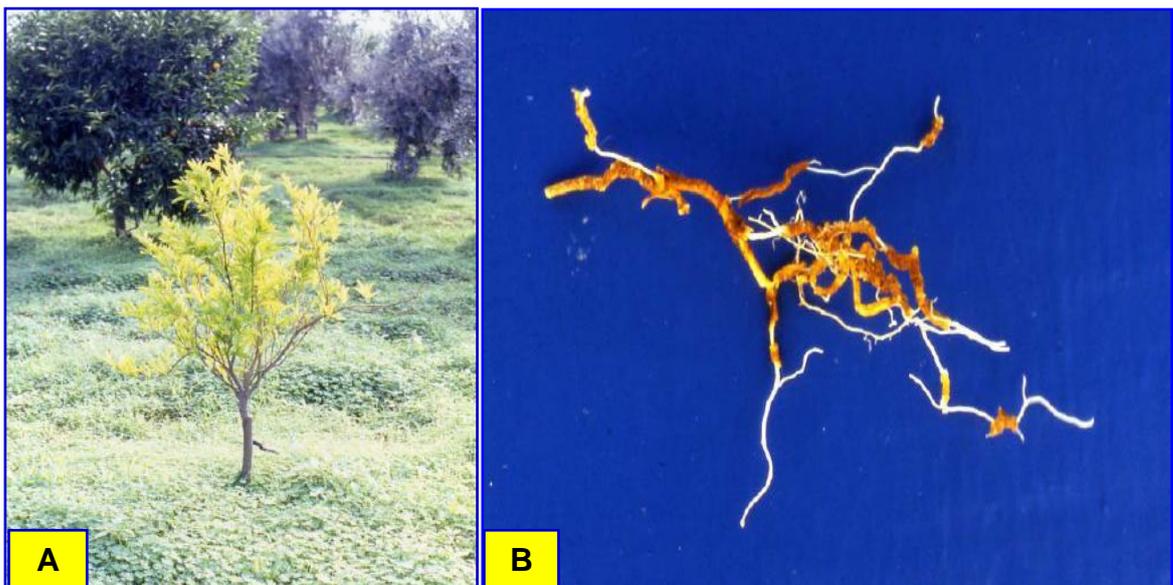


Figure 3.18 : Symptômes de la pourriture fibreuse de racines causée par *Phytophthora* spp ; **[A]** jaunissement des replantations, **[B]** symptôme typique sur les racines de nutrition [102, 105].

3.3.1.4. Pourriture marron ou «Brown rot»

Sur champs, les fruits proches de la terre sont infectés par les gouttelettes d'eau de la pluie ou durant l'irrigation qui portent les zoospores du champignon, en présence de conditions favorables de température (20 à 28°C) et une longue période d'humidité (plus de 18 heures) ; la maladie se transmet d'un fruit à un autre en infectant tous les fruits de la frondaison (Figure 3.19) [101, 102].

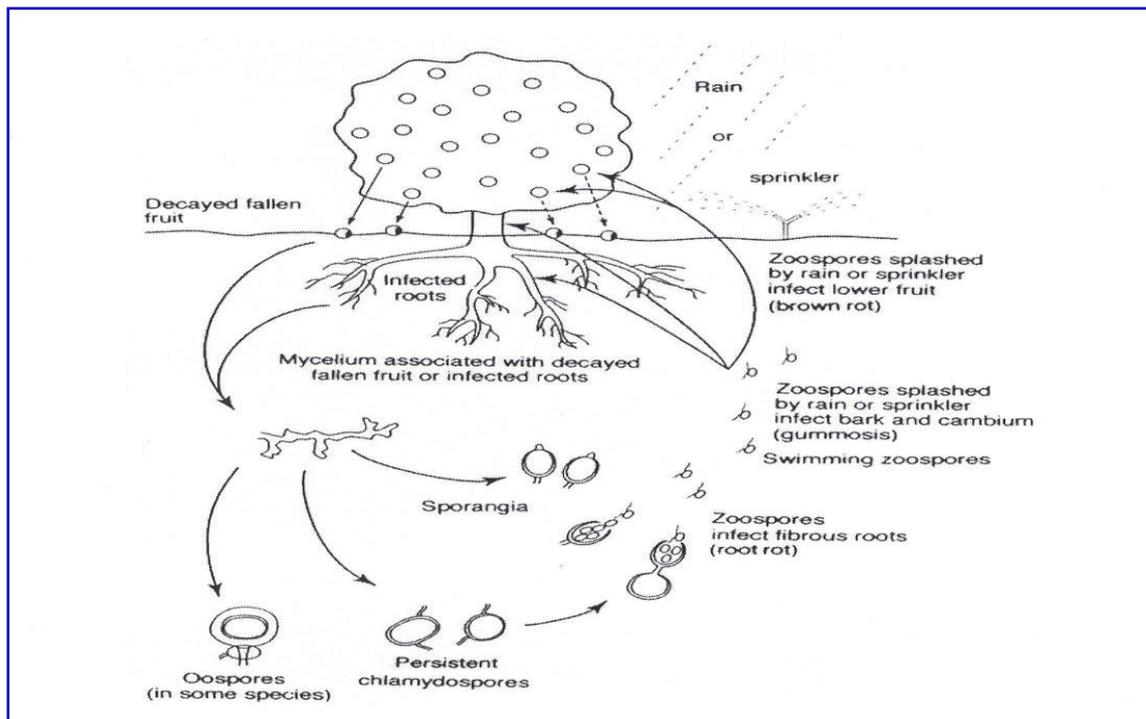


Figure 3.19 : Cycle de vie général de *Phytophthora* spp [105, 109, 110].

Environ 90% des fruits peuvent être perdus dans les années pluviales, les graines (pépins) des fruits infectés peuvent être infectés et transmettre la maladie. Les espèces de *Phytophthora* responsables de cette pourriture sont [106, 107]:

- ✓ *Phytophthora citrophthora*
- ✓ *Phytophthora nicotianae*
- ✓ *Phytophthora citricola*
- ✓ *Phytophthora hibernalis*
- ✓ *Phytophthora syringae*
- ✓ *Phytophthora cactorum*
- ✓ *Phytophthora palmivora*

Ces agents pathogènes sont strictement liés avec l'eau, il y a une corrélation directe entre la pluie et l'incidence de la maladie (Figure 3.20) [107].

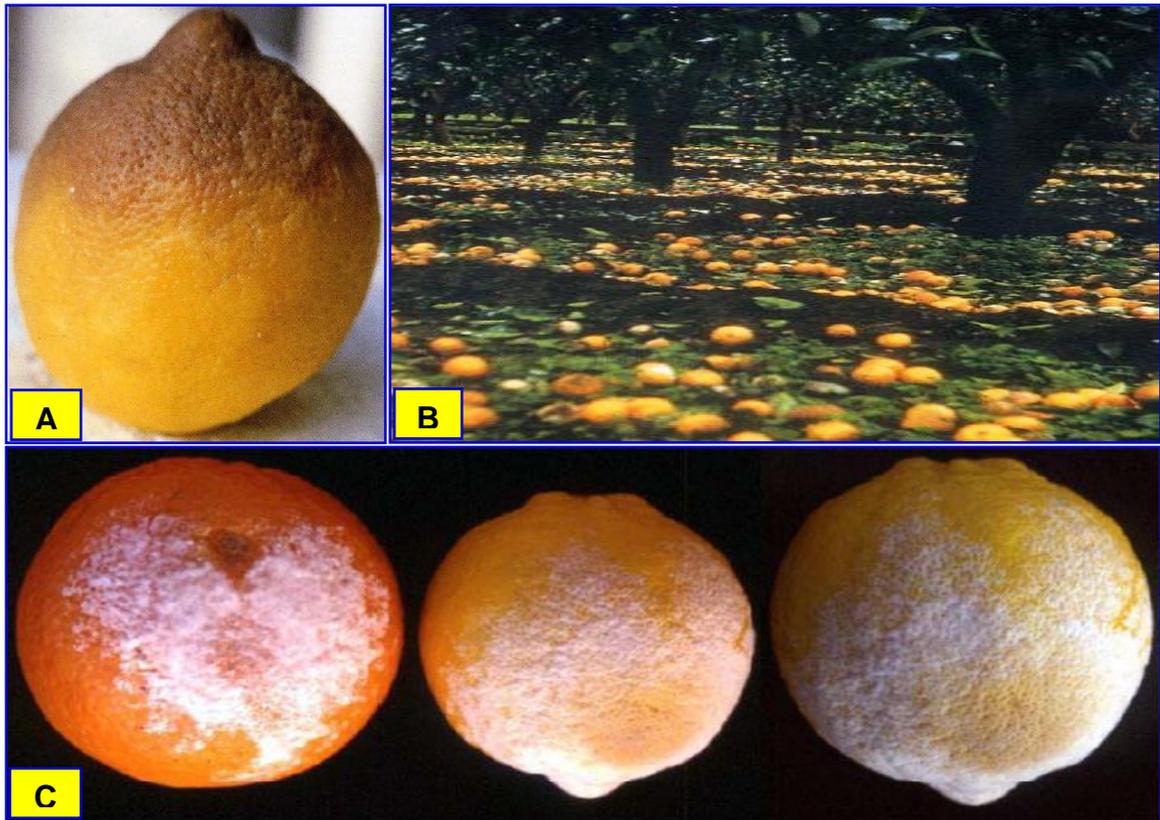


Figure 3.20 : Symptômes de la pourriture marron ; **[A]** coloration marron en présence de faible taux d’humidité, **[B]** grande quantité de fruits est peut être perdu, **[C]** développement de mycélium blanc en présence de l’humidité [107, 108, 109].

3.3.2. Pourriture fusarienne ou Pourriture sèche de racines

La pourriture sèche de racines (dry root rot) est une maladie fongique d’origine tellurique, elle est causée par *Fusarium solani*, c’est un champignon qui attaque plus de 66 familles de plantes, il est distribué dans le monde entier, ce champignon est inévitable au niveau du sol des plantations d’agrumes [111, 112].

L’écorce de la racine est désagrégée, la pourriture se localise au-dessous du collet de l’arbre, l’écorce est d’abord molle, puis elle devient dure. Les feuilles jaunissent, se dessèchent plus ou moins rapidement et tombent. Si l’arbre malade est abandonné à lui-même, la mort ne tardera pas à venir. Les orangers doux aussi bien que les bigaradiers sont atteints. En effet il y a deux types de syndromes dans les quels *Fusarium solani* est impliqué qui sont ; “La pourriture sèche de racines” (Dry root rot) qui peut causer le dépérissement brutal de l’arbre et “La pourriture chronique des racines de nutrition” (Chronic feeder root rot) qui induit le dépérissement progressif de l’arbre (Figure 3.21) [109].

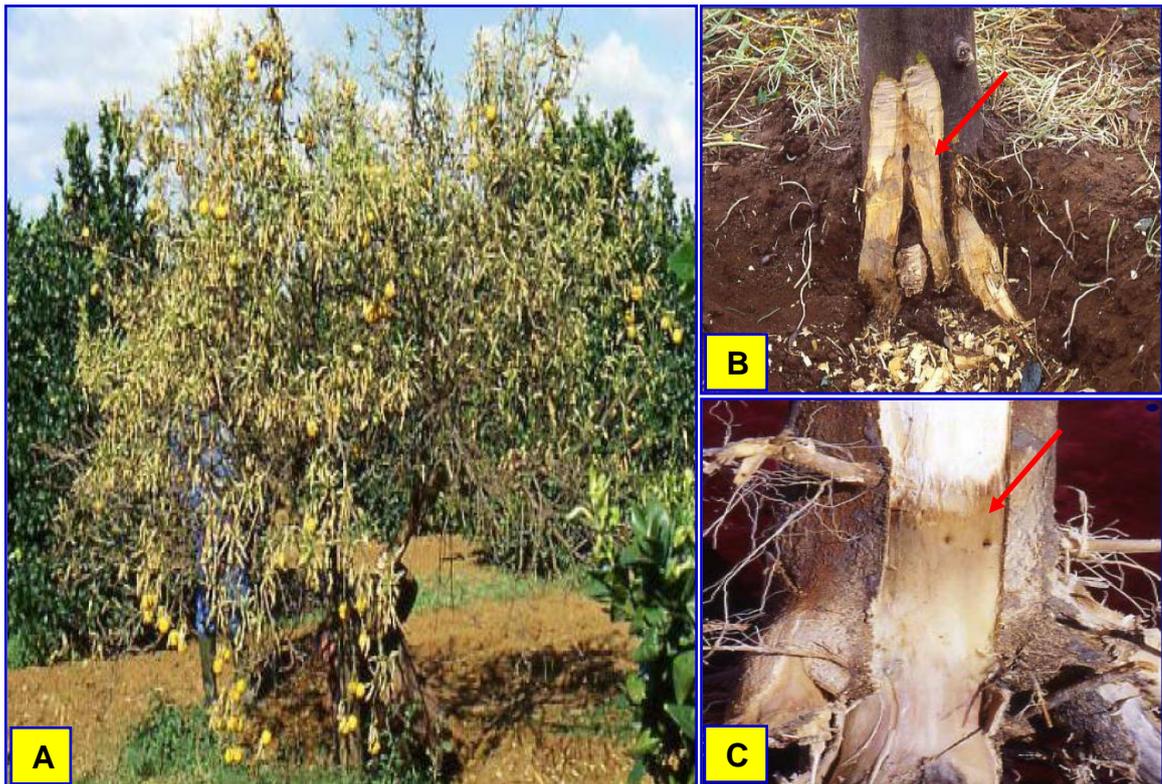


Figure 3.21 : Symptômes de la pourriture Sèche, **[A]** flétrissement puis le dépérissement brutal, **[B]** brunissement de la partie basale du tronc, **[C]** la coloration marron du bois affecté par cette pourriture [109].

3.3.3. Pourriture racinaire à *Armillaria* « *Armillaria* root rot »

Cette pourriture est causé par *Armillaria mellea* (nom commun : Oak root fungus), C'est un champignon polyphage très agressif sur les anciennes plantations et parfois sur les jeunes plantations d'arbres, il a été trouvé sur des racines de citrus, de chênes et plusieurs arbres forestiers [29, 101]

- Classification du genre *Armillaria* [29]:
 - ✓ Kingdom : Fungi
 - ✓ Phylum : Basidiomycota
 - ✓ Classe : *Basidiomycètes*
 - ✓ Ordre : *Agaricales*
 - ✓ Famille : *Marasmiaceae*
 - ✓ Genre : *Armillaria*
 - ✓ Espèce : *Armillaria mellea* (Vahl.) P. Kumm

Les symptômes se confondent souvent avec ceux de la gommose, de la pourriture sèche et des accidents résultant de l'excès d'eau (Figure 3.22) [111].

Au-dessous et à l'intérieur de l'écorce de la racine, on trouve un mycélium blanc, feutré et disposé en éventail. Sur la surface de la racine, se forment des rhizomorphes violacés qui simulent de petites racelles et peuvent se développer de 0,5 à 3 m par an; ils sont constitués par des faisceaux de filaments mycéliens dont la couche externe durcit et forme une carapace. La forme parfaite apparaît généralement à la fin de l'automne ou au début de l'hiver. Elle est d'un brun clair avec des écailles brunes sur le chapeau et un anneau autour du pied (Figure 3.22) [29, 111].

La gravité de ce champignon réside aussi, du fait même après la mort de l'arbre, il peut s'héberger dans le sol et atteindre les autres racines d'autres arbres. Un tel mode de transmission permet au pathogène de se disséminer sous forme de taches d'huile (oil spot) [109].

L'Armillaire agit à la fois par voie mécanique et chimique, lors de sa pénétration dans l'hôte le mycélium sécrète de nombreuses diastases (inulase, invertase, amylase, oxydase, peroxydase, catalase, et autres) [112].

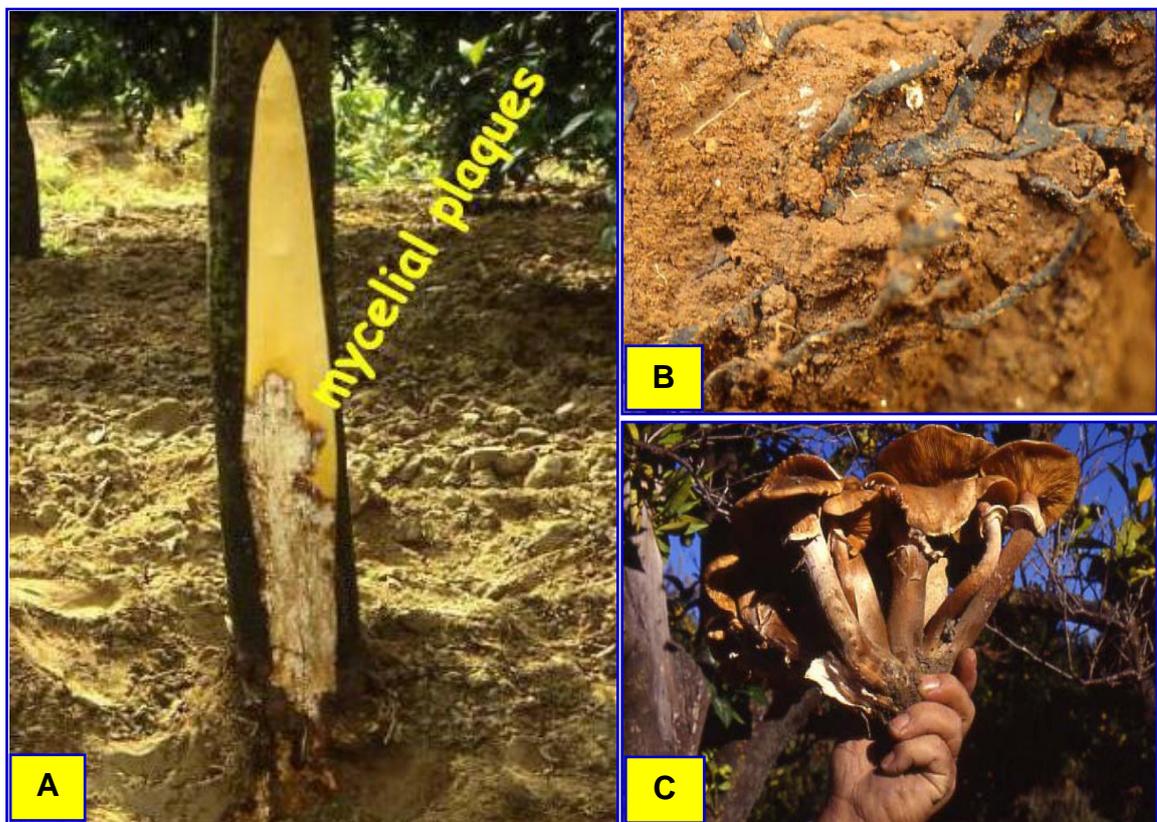


Figure 3.22 : Symptômes de la pourriture armillaire, [A] les plaques mycéliennes entre l'écorce et le bois, [B] Rhizomorphes d'*Armillaria mellea*, [C] la forme macroscopique entre l'automne et l'hiver (carpophore) [109].

3.3.4. Pourriture racinaire à *Rosellinia* « *Rosellinia* root rot »

L'agent causal de cette pourriture est *Rosellinia necatrix* (la forme sexuée : *Dematophora necatrix*) ;

- Classification du genre *Rosellinia* [29]:
 - ✓ Kingdom : Fungi
 - ✓ Phylum : Ascomycota
 - ✓ Classe : *Ascomycètes*
 - ✓ Ordre : *Xilariales*
 - ✓ Famille : *Xilariaceae*
 - ✓ Genre : *Rosellinia*
 - ✓ Espèce : *Rosellinia necatrix*

A la surface de la racine, se forment des trames plus ou moins condensées de mycéliums gris devenant noir en vieillissant ; d'abord superficiel, il pénètre ensuite à l'intérieur de l'écorce dans la région cambiale en suivant le trajet des rayons médullaires, possède une forme imparfaite conidienne qui apparaît, d'ailleurs, avant les périthèces (Figure 3.23) [29].

Ce champignon phytopathogène n'a pas une hôte spécialisée, il survit dans le sol en l'absence de l'hôte, il attaque tous les racines et se localise dans l'écorce et la moelle sans affecter les tissus du bois. Le principal moyen de dissémination c'est par le mycélium et chevelu mycélien, le mycélium se développe bien en conditions de haute humidité et de matière organique et un pH entre 5 et 7 [29].

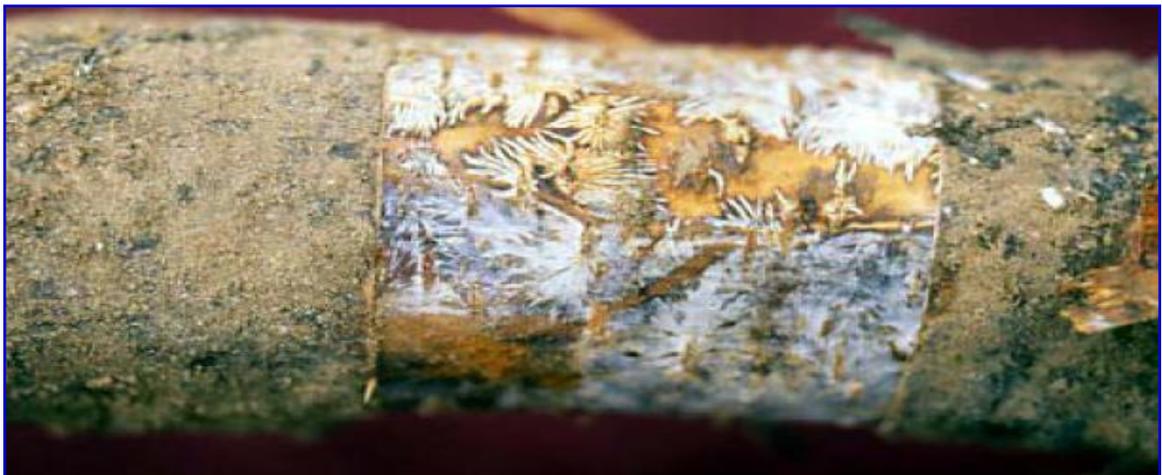


Figure 3.23 : Symptômes de la pourriture à *Rosellinia*, plaques blanchâtres sur racines ressemblants les doigts d'un ventilateur [101].

3.3.5. Mal Secco

Cette maladie fongique est causée par *Deuterophoma tracheiphila* (Syn. *Phoma tracheiphila*), c'est un champignon qui se développe dans les tissus conducteurs et entrave la circulation de la sève [113, 114, 115].

Le Mal secco est particulièrement grave sur citronnier, bien qu'il puisse attaquer d'autres espèces d'agrumes comme par exemple le clémentinier. Cette maladie est responsable de la mort de très nombreux citronniers, principalement en Sicile, Grèce, Turquie, Syrie, Israël et en Tunisie (Figure 3.25) [113, 116].

La maladie pénètre dans la plante au niveau des blessures (probablement pas par les stomates). L'infection se fait par des conidies produites notamment par des pycnides au niveau des brindilles flétries. Ces conidies sont véhiculées par l'eau. L'infection aurait lieu pour des températures comprises entre 14 et 28°C [113, 117].

La croissance du champignon dans la plante et l'expression des symptômes ont lieu pour des températures optimales comprises entre 20 et 25°C. Au delà de 30°C, le mycélium cesse de se développer. Dans la région méditerranéenne, les périodes d'infection dépendent des conditions climatiques. En Sicile les infections se déclarent généralement entre septembre et avril. Le champignon peut survivre au sol dans les bois de taille pendant plus de 4 mois [113, 118, 119].

Les symptômes apparaissent sur un secteur de l'arbre. Les premiers symptômes apparaissent au printemps. On observe tout d'abord une chlorose des feuilles et des pousses puis un dépérissement des brindilles et des branches. Les feuilles desséchées tombent ensuite (Figure 3.24) [113, 114, 120].

Les brindilles et branches infestées présentent des taches de couleur gris plomb à gris cendré. Sur ces zones apparaissent des petits points noirs, ce sont les pycnides. Une coupe au niveau des zones infestées montre un bois rose saumon ou orange-rouge et une production de gomme au niveau du xylème. Les brindilles et petits rameaux atteints meurent. Cette maladie s'étend ensuite vers le bas et atteint les grosses branches. Le dépérissement de l'arbre survient en un ou deux ans (Figure 3.24) [113, 121, 122].

En plus de la forme la plus habituelle du mal secco, deux formes différentes de la maladie peuvent se distinguer: le « mal fulminant », qui est une forme rapide et fatale de la maladie, apparemment provoquée par l'infection des racines, le dépérissement peut être foudroyant et s'établit en une quinzaine de jours; et le « mal nero » qui est une conséquence de l'infection chronique du bois qui mène au brunissement du bois de cœur [115, 121, 122].

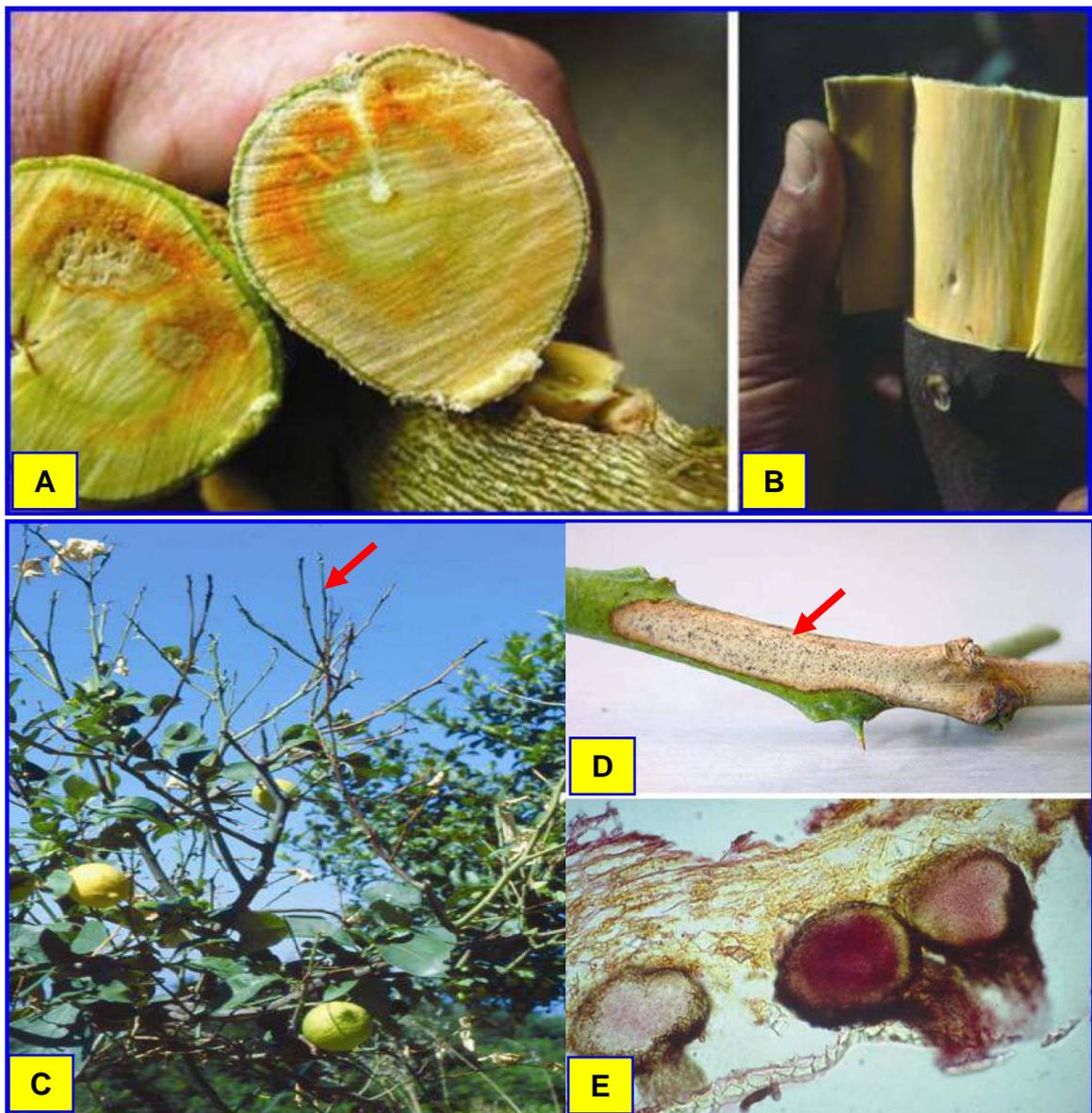


Figure 3.24 : Symptômes du Mal secco ; **[A]** décoloration orange-rougeâtre sur branche d'un mandarinier, **[B]** le rougissement typique du bois, **[C]** défoliation des brindilles apicales, **[D]** le dessèchement typique, **[E]** coupe tangentielle montrant les pycnides de *Phoma tracheiphila* [113].

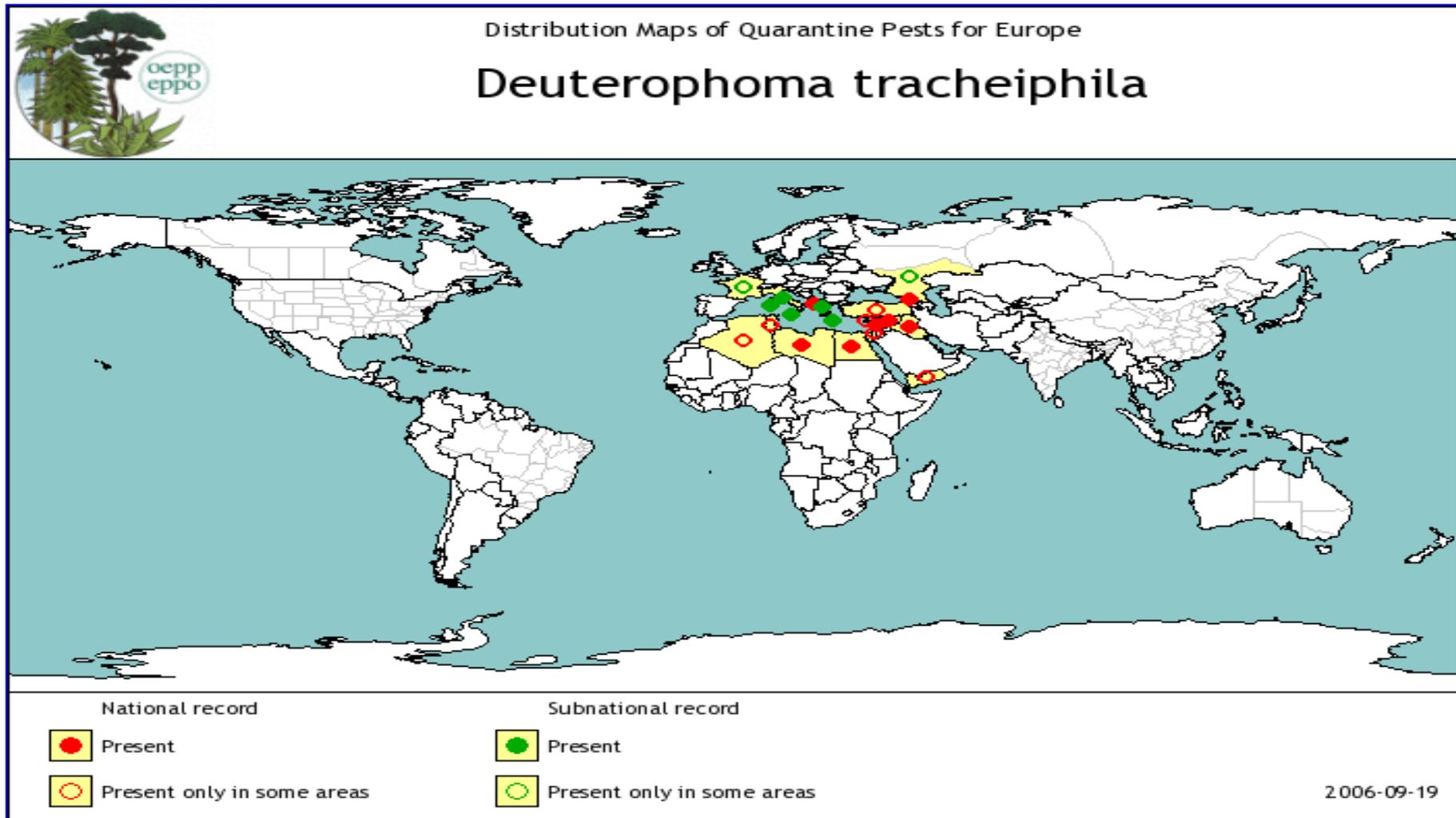


Figure 3.25 : Répartition géographique de *Deuterophoma tracheiphila*, l'agent causal du Mal secco [43, 114].

3.4. Citrus Blight

Le citrus blight est l'un des plus graves problèmes économiques pour les producteurs d'agrumes en Floride (Etats-Unis) et au Brésil. Des millions d'arbres sont perdus chaque année, avec un rythme annuel de pertes de 4-7% dans les vergers atteints. En Floride les pertes sont estimées à 500 000 arbres par an (Figure 3.27) [123].

La cause du blight n'est pas encore connue. La maladie n'a pas été transmise par écussonnage ou greffe de parties aériennes, et les plantes obtenues à partir de racines ou de bourgeons de plantes atteintes sont saines. L'agent pathogène semble donc ne pas être un virus, un phytoplasme ou un agent semblable à un virus, cependant, trouvant de l'ARN bicaténaire dans les plantes malades, a suggéré une étiologie virale. La maladie a été reproduite en plaçant des arbres adultes sains à côté d'arbres malades et en greffant ensemble leurs racines (en mettant en contact les parties cambiales mises à nu). Ceci suggère une transmission par un agent potentiellement transmis par le sol, qui affecte la plante de manière systémique. Cependant, les tentatives pour démontrer une transmission par le sol ont échoué. Aucun vecteur spécifique n'a été observé ni suggéré [30, 123, 124].

Le blight affecte surtout le pamplemoussier (*Citrus paradisi*) et l'oranger (*C. sinensis*), son incidence est moindre sur citronnier (*C. limon*) et sur mandarinier (*C. reticulata*) [30].

La maladie est plus marquée dans les plantations recevant beaucoup de soins (pratiques culturales supérieures à la norme). Les premiers symptômes n'apparaissent que sur des arbres adultes arrivant à 4-6 ans. La maladie n'affecte en général que les arbres productifs. Une fois qu'un arbre est atteint, il ne guérit pas. Le citrus blight entraîne un déclin général du feuillage avec flétrissement, défoliation, dépérissement des rameaux et faiblesse des nouvelles pousses. Seul un secteur de l'arbre peut être atteint (Figure 3.26) [123].

Le transport de l'eau dans le xylème des arbres atteints par le citrus blight est déficient. Les arbres n'arrivent pas à prélever ou à transporter l'eau, même si elle est injectée sous pression [30, 123].

Les vaisseaux du xylème du tronc, des branches principales et des racines sont bloqués par des bouchons amorphes jaune-clair, ou par des bouchons filamenteux marron-foncé. La déficience du transport de l'eau semble être attribuable à ces bouchons amorphes, et les symptômes semblent être dus à l'absence de transport d'eau vers le feuillage. Alors que les feuilles présentent souvent des symptômes de carence en zinc, le zinc s'accumule dans l'écorce et le xylème externe du tronc, en général avant la formation des bouchons ou le développement de symptômes visibles. La signification de ces niveaux de zinc élevés n'est pas connue. L'analyse de la teneur en zinc est aussi utile pour la diagnose (Figure 3.26) [123, 124].

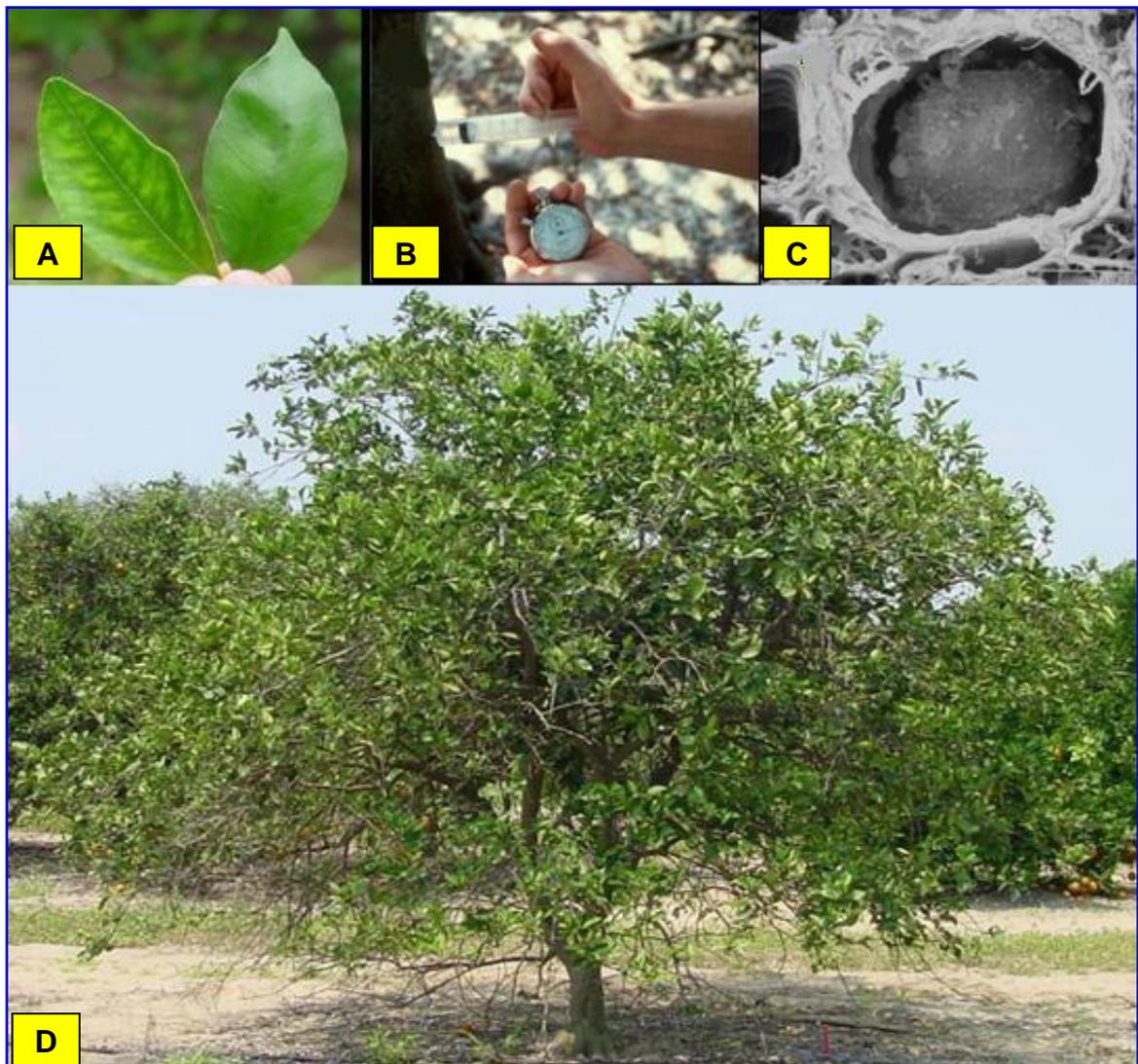


Figure 3.26 : Symptômes et caractéristiques du Citrus blight, **[A]** déficience du zinc dans les feuilles, **[B]** test d'absorption, **[C]** blocage du xylème, **[D]** déclin général[123].

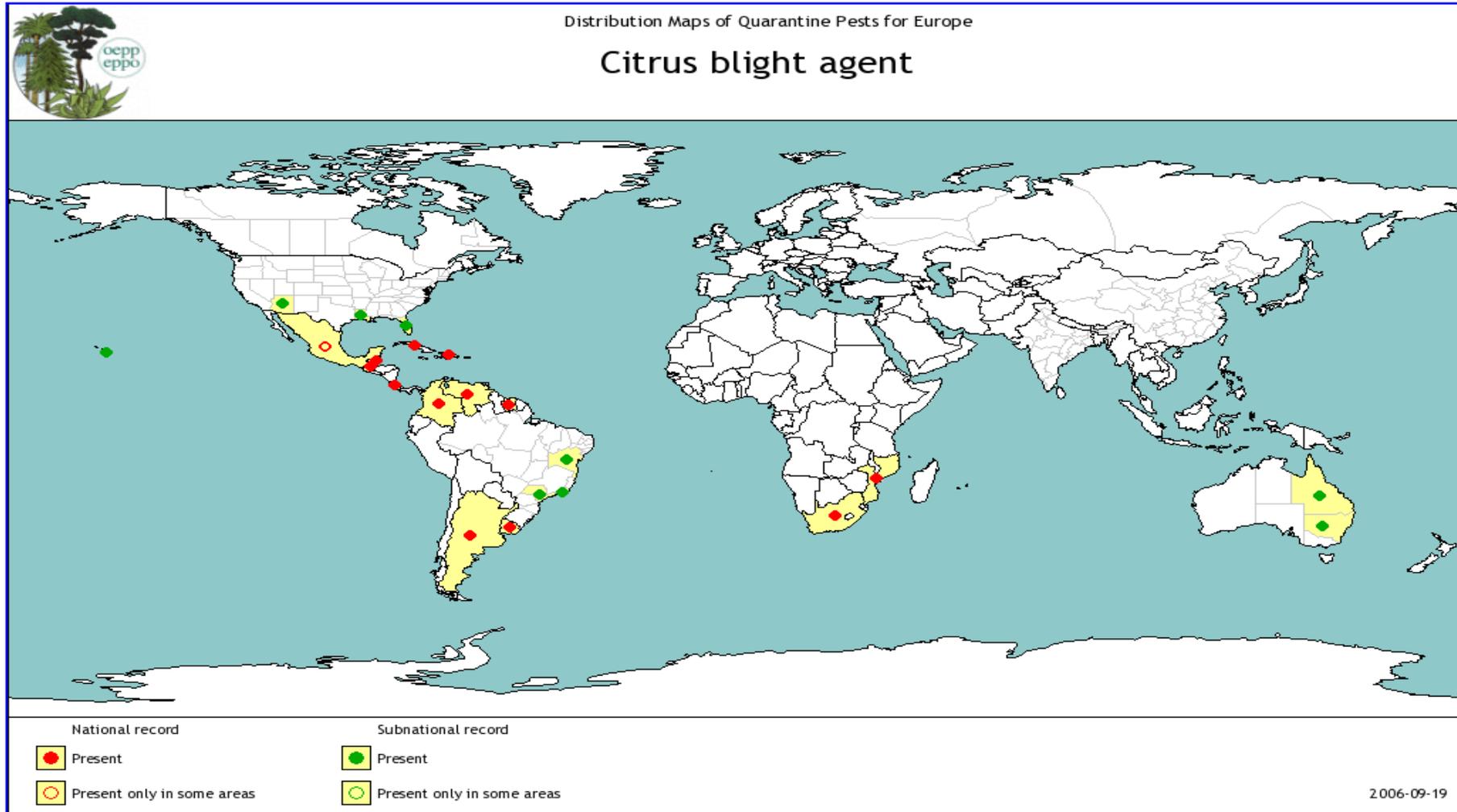


Figure 3.27 : Répartition géographique du Citrus blight [43, 124].

CHAPITRE 4

MATERIEL ET METHODES

4.1. Vergers agrumicoles étudiés

Notre étude relative aux cas de dépérissement observés au niveau de quelques vergers agrumicoles (12 vergers) dans la Mitidja (W. Blida) a été effectuée en deux étapes :

- ▶ La première au niveau des vergers agrumicoles en questions qui concerne la réalisation d'un diagnostic symptomatologique et la description de quelques paramètres pouvant expliquer les aspects étiologiques et épidémiologiques de dépérissements.
- ▶ La deuxième partie a été réalisée au laboratoire dans le but de rechercher d'éventuels agents fongiques phytopathogènes.

4.2. Situation Géographique

Les vergers concernés par notre étude sont au nombre de douze vergers agrumicoles, se situent au centre de la Mitidja (une plaine d'environ 100 km de longueur et de 2 à 18 km de largeur) et ils sont distribués sur quatre communes ; « Oued El-Alleug », « Chebli », « Boufarik » et les «Eucalyptus » (Figure 4.1):

- ▶ Six (6) vergers dans la commune de « Oued El-Alleug » (Wilaya de Blida), située au centre de la Mitidja connue par sa vocation agrumicole. Elle est limitée au nord par « Koléa » (W. Tipaza); à l'est par « Boufarik » (W. Blida), à l'ouest par « Mouzaia », et du côté sud par « Béni Tamou » (W. Blida). Ces vergers sont bordés de l'Est par des vergers agrumicoles ; à l'Ouest par des arbres de casuarina comme brise vent et des vergers de pommiers ; du Nord par une ferme d'élevage et du Sud par des espaces fourragères (Figure 4.1).
- ▶ Quatre (4) vergers dans la commune de « Chebli » qui est limitée au Nord par la commune de « Bir-Touta » (W. Alger) ; à l'Est par la commune de « Baba Ali » (W. Alger) ; à l'Ouest par « Boufarik » et du côté Sud se trouve

la commune de « Bouinan ». Ces vergers sont bordés de l'Est par des vergers du néflier, de pommier, et par une ferme d'élevage, de l'Ouest par de nouveaux vergers d'agrumes, du côté Nord par des vergers d'agrumes et de pêcher, et au Sud par la route entre la commune de « Chebli » et « Boufarik » (Figure 4.1).

- ▶ Un seul (1) verger dans la commune de « Boufarik », elle est limitée au Nord par la commune de « Tassala El-Merdja » ; à l'Est par « Bouinan » ; à l'Ouest par « Oued El-Alleug » et « Béni Tamou » (W. Blida) et du côté Sud par la commune de « Soumaa » et « Guerrouaou », le verger se trouve au centre d'une grande zone agrumicole (Figure 4.1).

- ▶ Un seul verger (1) dans la commune des « Eucalyptus » qui est limitée au Nord par la commune d' « El Harrach » (W. Alger) ; à l'Est par la commune de « Dar El Beida » et « Mafetah » ; l'Ouest par « Sidi Moussa » et au Sud par la commune de l' « Arabaa ». Le verger des « Eucalyptus » est bordé de l'Est par des plantations de légumes ; de l'Ouest par des habitations ; du Nord par une route piste et du Sud par une pépinière de rosiers (Figure 4.1).

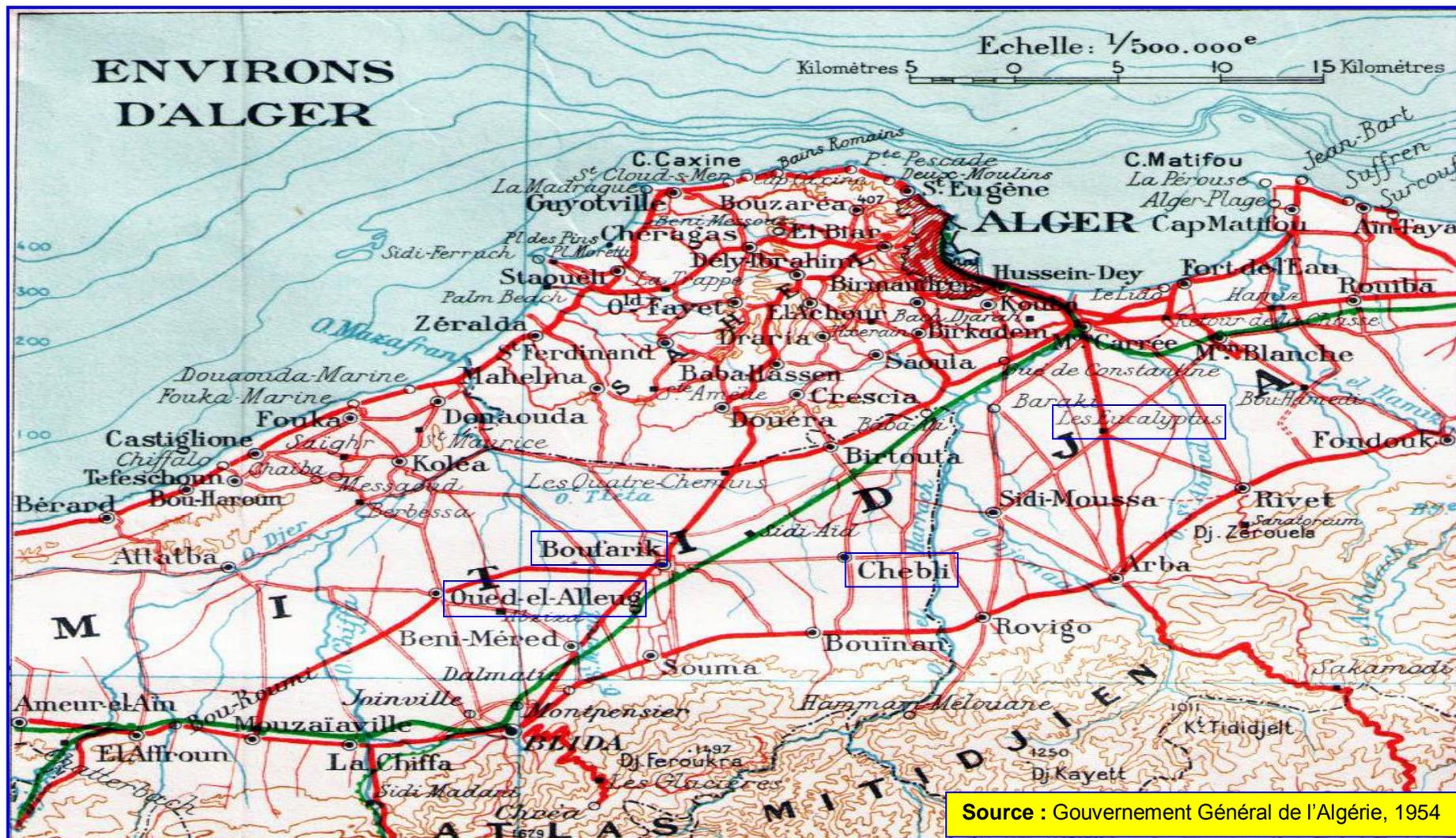


Figure 4.1: Localisation géographique sur carte d'Etat major de différentes zones d'étude à Mitidja

4.3. Caractéristiques des vergers

4.3.1. Vergers de la commune de « Oued El-Alleug »

D'après le questionnaire que nous avons réalisé avec les différents propriétaires, les vergers étudiés étaient (Appendice E) :

- ▶ Avant 1950 cultivés par des cultures annuelles, telles que le blé, les légumineuses et le tabac.
- ▶ A partir de 1950, ces terres ont été plantées avec différentes espèces d'agrumes. Les principales espèces cultivées par ordre d'importance de la superficie sont : Thomson, Clémentinier, mandarinier, et portugaise. Des citronniers sont plantés de façon individuelle ou groupée au tour de ces vergers.
- ▶ La superficie totale de ces vergers est de 12,4 ha, répartis en six principaux vergers, dont les surfaces varient de 0,89 à 2,94 ha.
- ▶ Le nombre d'arbres plantés, confondus entre les arbres arrachés et ceux remplacés (jeunes arbres) est approximativement de 4.198 arbres, avec une densité de plantation de 5x5 m. Il est à noter que parmi les six vergers étudiés deux sont abandonnés (Tableaux 4.1 et 4.2).

4.3.2. Vergers de la commune de «Chebli»

- ▶ Avant 1923, la région de ces vergers a été exploitée par des espèces fourragères et des cultures annuelles telles que le blé, l'orge et certaines cultures légumières tels que la pomme de terre.
- ▶ Leur exploitation par les citrus date de plus de 85 ans, Les principales espèces cultivées sont : Mandariniers, Clémentiniers, Citronniers, Thomson et Portugaise. Nous avons noté la présence de Bigaradier comme porte greffe.
- ▶ Ces quatre vergers occupent une superficie totale de 8,01ha avec des surfaces varient de 0,97 ha à 4,28 ha. Le nombre total d'arbres est de 2 272 arbres avec une densité de plantation de 6 x 6 m.
- ▶ L'âge de ces vergers est de 20 ans pour les Citronniers et de 80 à 85 ans pour les autres espèces (Tableaux 4.1 et 4.2).

4.3.3. Verger des « Eucalyptus »

- ▶ Ce verger est l'un de l'ensemble des vergers agrumicoles, plantés à l'époque coloniale (1948 à 1952).
- ▶ C'est un verger abandonné, il occupe une superficie de 2,94 ha et un nombre d'arbres de 898 arbres de Clémentinier. La densité de plantation est de 4 x 4m (Tableaux 4.1 et 4.2).

4.3.4. Verger de Boufarik

- ▶ La plantation de ce verger (1.5 ha) remonte à 1963, il est constitué de différentes espèces d'agrumes, citées par ordre d'importance de leur superficie : Sanguines, Portugaises, Citronniers, Salustiana et Cadénéra.
- ▶ Le nombre total d'arbre est de 400 arbres, avec une densité de plantation de 6x6 m. Le précédent cultural était des cultures fourragères et des cultures en blé (Tableaux 4.1 et 4.2).

Tableau 4.1 : Porte-greffes utilisés dans les différents vergers agrumicoles [125]

Vergers	Porte-greffes
Les six vergers de « Oued El-Alleug » (V 1, V 2, V 3, V 4, V 5*, V 6*)	✓ Bigradier
Les quatre vergers de « Chebli » (V 7, V 8, V 9, V 10)	✓ Bigradier
Le verger des «Eucalyptus » (V 11)	✓ Bigradier
Le verger de « Boufarik » (V 12)	✓ Bigradier ✓ Mandarine Cléopâtre

*. Verger abandonné.

Tableau 4.2 : Superficie, nombre d'arbres et variétés de différents vergers [125]

Commune	vergers	Superficie (m2)	Nbre d'arbres	Variétés	Le % occupé
"Oued El-Alleug"	V 01	20 826	603	Thomson	70 %
				Clémentinier	30 %
	V 02	29 406	1028	Thomson	90 %
				Clémentinier	10 %
	V 03	23 616	845	Portugaise	50 %
				Mandarinier	30 %
				Clémentinier	20 %
	V 04	27 251	829	Thomson	100 %
	V 05 *	8 925	333	Thomson	80 %
				Mandarinier	20 %
	V 06 *	14 000	563	Mandarinier	70 %
				Thomson	20 %
Clémentinier				10 %	
"Chebli"	V 07	42 804	1 260	Mandarinier	100 %
	V 08	15 984	456	Citronnier	55 %
				Clémentinier	45 %
	V 09	11 592	252	Thomson	100 %
V 10	9 720	304	Portugaise	100 %	
"Eucalyptus"	V 11	29 400	898	Clémentinier	100 %
"Boufarik"	V 12	14 680	400	Sanguine	29 %
				Portugaise	25 %
				Citronnier	24 %
				Salustiana et Cadénéra	22 %
TOTAL		248 204	7 771		

*. Verger abandonné.

4.4. Conduite culturale des vergers

La conduite culturale adoptée dans les douze vergers est presque la même et s'applique de la façon suivante :

4.4.1. Techniques Culturelles

Parmi les techniques culturales pratiquées régulièrement chaque année, nous notons particulièrement :

- ✓ Labour léger au début du mois d'avril ;
- ✓ Un covercavage dans la période hivernale et printanière pour éliminer les mauvaises herbes ;
- ✓ Sous-solage chaque 7 à 8 ans (2 ans Nord –Sud, et 2 ans Est-ouest) Dans le but de couper les racines et donc permettre le renouvellement du système racinaire.
- ✓ A l'exception des périodes estivales, les vergers sont arrosés exclusivement par les pluies saisonnières. En été (juin à août) des irrigations d'appoint par le système de rigole, sont assurés à partir d'un forage avec des fréquences de 4 à 5 irrigations pour les arbres adultes, et de 8 irrigations pour les jeunes arbres.
- ✓ Les tailles périodiques se réalisent selon les espèces:
 - Clémentinier et Mandarinier : avant la fin février ;
 - Thomson : avant la fin mars ;
- ✓ En plus des opérations d'éclaircissage; des coupes de nettoyage de frondaisons sur les rameaux dépéris ou cassés sont réalisées.
- ✓ La récolte se fait selon les époques de maturité des espèces, et le prix de vente du produit sur le marché :
 - Clémentine : début Octobre/ début Novembre à la fin de Janvier ;
 - Mandarine de saison : début Février jusqu'à la fin Mars, Mandarine tardive : la récolte se fait fin Mai- Juin ;
 - Thomson : variété lisse début Novembre jusqu'à la fin Décembre, Variété Washington navel début Janvier jusqu'à la fin Avril ;
 - Citronnier : 4 saisons (Mai, Juin, décembre) ;
 - Portugaise : Janvier – Février.

4.4.2. Traitements phytosanitaires et fertilisation

► Les traitements apportés sont surtout préventifs contre:

- ✓ Les pucerons avec l'Ultracide 40 et Decis D6 ;
- ✓ La mineuse en utilisant le Muspulant à partir de la fin juin jusqu'à la fin de septembre, chaque 15 jours pour garder la végétation intacte ;
- ✓ La fumagine et d'autres insectes avec l'huile blanche en mois d'Août (20Kg d'huile blanche + 1L d'Ultracide) ;
- ✓ La gommose en utilisant le Soufre et l'Aliette (3 fois / an).

► Les principaux fertilisants, utilisés pour améliorer la production ou pour corriger les carences en un ou plusieurs éléments nutritifs sont :

- ✓ Utilisation de deux types d'engrais, le type 0-20-25 engrais de fond durant la période comprise entre le mois de décembre jusqu'au mois de janvier, c'est un engrais de fond, utilisé à raison de 2Kg pour les arbres adultes et 1Kg pour les arbres moyens, le traitement se fait par semis ;
- ✓ Utilisation d'engrais foliaire (le Fer quand il y a une carence de cet élément) ;
- ✓ L'urée (HNO_3) avec une dose de 8 Kg/ha à partir de la 2^{ème} irrigation pendant la période estivale (juillet- août) ;
- ✓ Actuellement il y a utilisation d'un nouveau type d'engrais qui est le BIO-ACTYL ;
- ✓ Les fumures organiques sont utilisées, une fois tous les 3 ans.

4.5. Diagnostic symptomatologique

Le diagnostic symptomatologique a pour objectif de retracer l'historique d'apparition de ces cas de dépérissement et d'étudier leur évolution dans le temps et dans l'espace.

Notre travail a été initié en Mars 2007, et pendant trois années consécutives (2007, 2008 et 2009) nous avons effectué plusieurs visites dans les vergers pour recueillir le maximum d'informations relatives à l'objet de notre étude. A cet effet nous avons établi un questionnaire résumant les éléments de réponses pouvant nous aider directement ou indirectement dans la compréhension des situations de dépérissement étudiées.

Les éléments de notre enquête, réalisée avec la collaboration des propriétaires des vergers, ont porté surtout en ce qui concerne ces plantations d'agrumes sur:

- ✓ les conditions de développement et d'évolution de la maladie ;
- ✓ les agents pathogènes impliqués ;
- ✓ Fréquences de son apparition.

Au niveau de chaque verger, nous avons évalué les dégâts causés par le dépérissement, exprimé le taux de sujets présentant cette affection par rapport au nombre total d'arbres. L'arbre est considéré comme dépéris s'il présente soit un dépérissement total ou partiel. Les sujets arrachés suite à leur dépérissement sont comptabilisés dans l'estimation du taux d'infection. Ce diagnostic consiste à localiser les sujets affectés par un dépérissement partiel ou entier et décrire les symptômes apparentés.

Sur la base de ces observations ponctuelles, et les prospections effectuées, nous avons classé les symptômes en quatre classes selon la gravité des symptômes du dépérissement. Et nous avons établi une échelle d'évaluation, par le quel nous avons estimé le taux de dépérissement, la gravité, et l'incidence de la maladie dans chaque verger (Tableau 4.3).

Tableau 4.3 : Echelle d'évaluation des symptômes du dépérissement [126, 127, 128]

Classe	Etat de l'arbre et symptômes
« 0 »	<ul style="list-style-type: none"> • Sain
« 1 »	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Dépérissement des extrémités des rameaux</u> • Jaunissement léger généralisé • Enroulement des feuilles et orientation vers le haut • Présence de lésions nécrotiques • Brunissement central de racines • Mort de certaines racines
« 2 »	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Dépérissement unilatérale (Partiel)</u> • Dessèchement du feuillage • Ecaillage du tronc • Présence de chancre occupant une portion du tronc ou localisé sur une branche charpentière • Rabougrissement • brunissement de grandes racines
« 3 »	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Dépérissement total de l'arbre</u> • Durcissement des rameaux • Présence de chancre important en forme de flamme • Ecaillage accompagné avec des suintements gommeux • Nécrose interne sur le tronc et les branches charpentières variable en coloration (brune, rouge, noire) • <u>Dépérissement foudroyant (la mort subite ou Apoplexie)</u> • Dessèchement et Pourriture de racines
« 4 »	<ul style="list-style-type: none"> • Arbre mort*, coupé, arraché ou remplacé

*. Mort irréversible

4.6. Etude épidémiologique du dépérissement

4.6.1. Diffusion de la maladie ou Taux d'infection

C'est l'expression du pourcentage (%) des arbres présentant un dépérissement, en connaissant le nombre total des arbres examinés (N), et le nombre des arbres malades (Classe 1, 2, 3, et 4). Le taux de diffusion du dépérissement est calculé par la formule suivante [126, 127, 128] :

$$D(\%) = \frac{\sum ni}{N} \times 100$$

- ✓ **ni** : étant le nombre d'arbres recevant la note i (i = 1 à 4)
- ✓ **N** : le nombre total des arbres du verger.

4.6.2. Gravité de la maladie

Pour savoir la valeur moyenne de la classe du dépérissement, elle est estimée par la formule suivante [126, 127, 128] :

$$G = \frac{\sum(ni \cdot i)}{n}$$

- ✓ **G** : gravité de la maladie
- ✓ **ni** : étant le nombre d'arbres recevant la note i (i = 1 à 4)
- ✓ **n** : le nombre des arbres affectés par le dépérissement

4.6.3. Intensité moyenne de la maladie « Indice de McKinney »

L'incidence du dépérissement est calculée par Cet indice, il permet d'évaluer l'altération globale du potentiel de la production d'un verger d'agrumes, il est calculé selon la formule suivante [126, 127, 128] :

$$I(\%) = \frac{\sum(ni \cdot i)}{N \cdot v} \times 100$$

- ✓ **I** : indice de McKinney « Incidence du Dépérissement ».
- ✓ **ni** : étant le nombre d'arbres recevant la note i (i = 1 à 4).
- ✓ **N** : le nombre total des arbres du verger.
- ✓ **v** : la valeur la plus élevée de l'échelle d'évaluation.

4.7. Méthodologie d'échantillonnage

En vue de réaliser une étude étiologique et épidémiologique basée sur la recherche d'éventuels agents fongiques susceptibles de provoquer des états de dépérissement, nous avons réalisé un échantillonnage ciblé. Nos échantillons ont été prélevés à partir des différentes classes symptomatologiques.

4.7.1. Prélèvement des échantillons de bois

Nous avons prélevé des échantillons d'écailles, de rameaux, et de racines à partir d'arbre complètement dépéris (Classe 3), d'arbres partiellement dépéris (Classe 2), d'arbre légèrement dépéris (Classe 1) et d'arbre sains (Classe 0). Les opérations de prélèvement des échantillons ont été répétées trois fois pour les vergers d'Oued El-Alleug et une seule fois pour les autres vergers.

Les prélèvements ont été effectués dans des conditions aussi stériles que possible. Les sécateurs et les scies ont été désinfectés par flambage après trempage dans l'alcool 90°. Les rameaux sont découpés à la limite des zones de dépérissement. Pour les racines, à l'aide d'une pioche nous avons déterré le système racinaire à une profondeur variant de 50 à 100 cm avant de découper des fragments racinaires.

Chaque échantillon a été mis, individuellement, dans des sachets en papier portant toutes les indications (verger, variété, type de fragment, la profondeur, la date et le type de symptômes...). Ces échantillons ont été conservés au laboratoire pendant 24 à 48 h au maximum avant d'entamer les opérations d'isolement.

4.7.2. Prélèvement des échantillons de sol

L'échantillonnage se fait à partir du sol, autour du collet et loin des racines à raison de cinq répétitions par prélèvement pour les quatre classes symptomatiques (0, 1, 2, et 3). Les prélèvements ont été faits au niveau des vergers d'Oued El Alleug à raison de trois répétitions par prélèvement et un seul prélèvement a été réalisé dans les vergers de Chebli et de Boufarik.

Généralement les champignons du sol se trouvent au niveau de l'horizon de 30 à 40 cm d'épaisseur correspondant à la couche arable qui est caractérisée par leur fertilité et colonisée par le chevelu racinaire des plantes cultivées [129].

Chaque échantillon de 200 à 500 g, est récupéré dans un sachet en papier tout en mentionnant les informations nécessaires, telles que le nom du verger, type de dépérissement observé, type d'échantillon (sol loin de racine, collé à la racine), la date du prélèvement, et la variété...etc. Les échantillons sont transportés par la suite au laboratoire pour des analyses ultérieures.

4.8. Diagnostic au laboratoire

4.8.1. Milieux de culture

Le principal milieu de culture utilisé durant le travail au laboratoire, c'est le milieu PDA (potatos dextrose agar). Différents auteurs, RAPPILLY, BOOTH, TUIT [129] utilisent divers milieux pour un isolement spécifique. Mais pour un recensement global, le milieu le plus utilisé est le PDA. Ce milieu favorise le développement d'un grand nombre de champignons, il permet d'obtenir une bonne croissance et une bonne fructification de ces espèces (Appendice F).

- ✓ Faire bouillir 200 g de pomme de terre pelées, lavées et coupées en tranches fines dans un 1l d'eau stérile pendant 1 h. La suspension obtenue est filtrée sur plusieurs couches d'étamine et pressée pour obtenir l'extrait, 20 g de dextrose et 15 à 20 g d'agar. Sont à ajouter pour porter le volume final à 1L.
- ✓ Le milieu est autoclavé à 120 °C, pendant 20 minutes.
- ✓ Le milieu de culture est conservé dans des flacons de 250ml pour utilisation ultérieure; coulé, après le refroidissement à l'état de surfusion, dans des boites de Pétri [129].

4.8.2. Techniques d'isolement

Au niveau du laboratoire, les échantillons sont déemballés et nous avons adopté deux techniques d'isolement ; la technique d'isolement directe pour les échantillons du bois, et la techniques des suspensions dilutions pour les échantillons de sol.

4.8.2.1. Technique d'isolement directe

Les techniques d'isolement à partir du bois (racines, tronc et rameaux) sont variées; elles dépendent notamment de la taille des fragments du bois, de leur degré de dépérissement et sa localisation (en surface ou interne) [129].

Nous avons utilisé cette technique en 2007 pour faire des isolements à partir de différents fragments du bois (racines, tronc et rameaux), alors que pour les années 2008 et 2009 ; nos isolements sont concentrés seulement sur la partie racinaire.

- ▶ La technique d'isolement que nous avons adopté consiste en :
 - ✓ Stérilisation superficielle des organes malades (racine, rameaux, écailles) dans une solution d'hypochlorite (6%) pendant 5 minutes.
 - ✓ Après rinçage abondant à l'eau distillée stérile, les fragments ont été séchés entre deux feuilles de papier buvard stérile.
 - ✓ Déposer de 4 à 5 petits fragments dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA.
 - ✓ Incubation à l'étuve à 25°C pendant 4 à 5 jours.

- ▶ Deux types d'isolement ont été adoptés :
 - ✓ Isolement direct à partir des fragments; il consiste à isoler directement à partir des fragments de racines, de rameaux ou d'écailles. Nous avons découpé des petits fragments de 3 à 5 mm, à l'aide d'un scalpel en les déposant immédiatement sur milieu PDA en boîte de Pétri.
 - ✓ Dans une deuxième situation les échantillons ont séjourné dans des dessiccateurs pendant 5 à 7 jours, pour favoriser l'extériorisation des agents fongiques. Chaque dessiccateur contient dans sa partie inférieure une quantité d'eau stérile pour humidifier les échantillons.

4.8.2.2. Technique des suspensions dilutions (dilutions plates)

Avant d'entamer les opérations de recherche des agents fongiques, chaque échantillon de sol est étalé à l'air libre pendant 2 jours. Après élimination des éléments grossiers et des débris végétaux, nous avons réalisé des pesées de 10 g de sol en 3 répétitions pour chaque échantillon [129].

La technique adoptée est celle des suspensions dilutions (dilution plates) (Rapilly, 1968), elle consiste à mettre le sol en suspension dans de l'eau stérile, puis à incorporer les différentes dilutions de cette suspension dans le milieu d'isolement [129].

La préparation des dilutions consiste à ajouter 10 g de sol à 90 ml d'eau distillée stérile, laissé en agitations pendant 30 mn, ce qui constitue la dilution 10^{-1} . Des prélèvements individuels d'un volume de 1ml à partir de chaque suspension à additionner successivement dans des tubes contenant 9 ml d'eau stérile, pour avoir les dilutions suivantes : 10^{-2} , 10^{-3} jusqu'à 10^{-8} . Rappelons que pour réaliser ces différents prélèvements, il est primordial d'utiliser des pipettes stériles pour chaque dilution [129].

Selon la technique décrite par Davet en 1997 [129], on prélève 0,1ml de chaque dilution que l'on ensemence dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Les opérations d'isolement ont été effectuées avec les dilutions 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-8} en trois répétitions pour chaque dilution. L'incubation a été réalisée à la température de 25°C entre 24 à 96 heures est parfois jusqu'à plus d'une semaine.

4.8.3. Purification des isolats fongiques

En vue d'obtenir un développement de cultures fongiques pures, après incubation de 4 à 5 jours à l'étuve ($20-25^{\circ}\text{C}$), les colonies développées sont observées, transplantées et purifiées pour identification et établissement des fréquences d'isolement.

Nous avons réalisé des observations microscopiques sur les cultures développées afin de localiser celles qui nous semblent intéressantes. Les cultures d'agents saprophytes ou de contamination (*Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus*, ...) sont à éviter.

A l'aide d'une aiguille lancéolée fine, flambée et refroidie chaque fois, et à partir des cultures intéressantes nous prélevons des disques mycéliens de 1 cm de diamètre qui seront repiqués dans de nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu PDA.

L'opération de repiquage consiste à prélever un fragment mycélien (1cm²) et le transplanter dans une nouvelle boîte de Pétri qui sera incubée jusqu'à l'obtention d'une bonne fructification. Le nombre de repiquages successifs après incubation, dépend de l'aspect des cultures obtenues, jusqu'à l'obtention de cultures pures et homogènes.

4.8.4. Caractérisation et identification des isolats fongiques

L'identification des agents fongiques isolés a été réalisée selon les caractéristiques macromorphologiques et micromorphologiques, en utilisant les critères de la clé de BARNETT basée sur le système SACCARDO. Ce système s'illustre par une méthode de classification appliquée surtout aux champignons imparfaits. Les éléments de base de ce système sont la morphologie des structures de sporulation connues naturellement, telles que la morphologie et la couleur des conidies [130].

Pour l'identification des espèces du genre *Fusarium*, nous sommes basé sur le livre « The *Fusarium* Laboratory Manual » qui est un guide pratique de taxonomie et de caractérisation [131].

4.8.4.1. Caractères macromorphologiques

Les cultures purifiées ont été laissées en incubation de 15 à 20 jours, après leur purification pour obtenir une croissance optimale. Dès que le développement est apparent; des observations quotidiennes sont effectuées pour détecter d'éventuels caractères cultureux spécifiques aux agents fongiques

La caractérisation macroscopique se base sur :

- ✓ la couleur des colonies,
- ✓ l'aspect des colonies,
- ✓ la forme des colonies,
- ✓ la vitesse de développement,
- ✓ la production de pigments.

4.8.4.2. Caractères micromorphologiques

A partir des cultures pures nous avons réalisé des montages entre lame et lamelle pour des observations microscopiques aux grossissements successifs (10x10) puis (40x10).

Ces observations concernent :

- ✓ L'aspect, la forme et la couleur du mycélium
- ✓ La présence ou l'absence de fructifications,
- ✓ les modalités de regroupement des fructifications (solitaire ou en grappes) et les conidiospores (couleur, ramification, groupé, solitaire).

Les caractères ainsi observés et photographiés sont comparés à ceux décrits dans les clés de détermination.

4.8.4.3. Caractères micromorphométriques

En raison de la diversité des isolats de *Fusarium*, des observations complémentaires sur les dimensions morphométriques ont été réalisées sur les macroconidies et les microconidies pour déterminer les espèces de *Fusarium*. Nous avons utilisé la technique de mensuration biométrique, les mesures ont été procédées par l'étalonnage de microscope. En plus, nous avons axé la caractérisation sur les extrémités et les contours, aussi que le nombre de cellules de macro et de microconidies.

CHAPITRE 5

RESULTATS EPIDEMIOLOGIQUES

5.1. Descriptif symptomatologique

► Les premières constatations symptomatologiques de dépérissement ont commencé leur apparition au niveau des vergers étudiés, sous forme sporadique depuis plus de cinq années. Ces dernières années, le rythme d'apparition d'arbres dépéris a évolué pour devenir inquiétant de plus en plus.

► Les différentes observations effectuées sur site, ont permis l'observation des principaux symptômes suivants dans l'ensemble des vergers étudiés (Figures 5.1, 5.2, 5.3, 5.4) :

- ✓ Dépérissement total de l'arbre (mort brutal),
- ✓ Dépérissement unilatéral,
- ✓ Jaunissement léger généralisé ou par secteur du feuillage,
- ✓ Enroulement et orientation des feuilles vers le haut,
- ✓ Lésions nécrotiques sur les feuilles,
- ✓ chute anormale des feuilles,
- ✓ Hyperplasie et hypoplasie des feuilles de nouveaux rameaux,
- ✓ Noircissement sur la face inférieure de la feuille,
- ✓ Retard dans la maturité et la croissance des fruits,
- ✓ Rabougrissement de la souche,
- ✓ Écaillement du tronc (les écailles sont épaisses),
- ✓ soulèvement d'écorce laissant suinter des sécrétions gommeuses,
- ✓ Sécrétion de gomme sur le tronc,
- ✓ Chancre sur le tronc et les branches charpentières,
- ✓ Brunissement du bois,
- ✓ Pourriture des racines,
- ✓ Champignons macroscopiques adhérent au tronc.

► Les premiers symptômes annonciateurs de dépérissement, sont les diminutions et l'augmentation des tailles foliaires, la déformation du feuillage et une orientation particulière vers le haut sous forme de ballait de sorcière.

► Ce symptôme devient alarmant, après le dépérissement des extrémités des branches, qui souvent suivi d'un dépérissement unilatéral des rameaux porteurs. Au niveau du tronc, décollement des écailllements laissant apparaître des suintements de gomme avec un rougissement de la partie basale du tronc qui commence à se craqueler (Figure 5.1).

► Les symptômes sur le tronc sont également de type chancres allongés, pourriture, et présence d'un écaillage de l'écorce. Les écailles sont épaisses et de coloration rougeâtre souvent couverts par des suintements gommeux (différents de celles de la psorose et similaires à celle de la gommose) (Figure 5.2).

► Les symptômes sur le bois sont très significatifs, on observe d'une façon claire et nette, sur le tronc et les branches charpentières, un durcissement et un brunissement (Figure 5.2).

► Nos observations ont permis de noter des jaunissements accentués sur les bords des feuilles, des enroulements vers le haut ; qui finissent par des dessèchements généralisés suivis de chute de feuillage.

► Après défeuillaison, les rameaux commencent à se dépérir progressivement à partir de leurs extrémités jusqu'à la base de jonction avec les gros rameaux de frondaison.

► Egalement pour le feuillage nous avons noté, la présence permanente de lésions nécrotiques, noircissement de la face inférieure, et une déformation morphologique.

► Sur les arbres où le dépérissement est total, partiel ou très avancé, les fruits deviennent flasques, se noircissent et ne murissent pas, sur les arbres affectés. Les fruits sont de petite taille qui chutent généralement avant leur maturité, décolorés et ayant un goût amer.

► Sur les racines d'arbres atteints de dépérissement, nous avons noté la présence de brunissement et durcissement affectant les vaisseaux, et causent son obstruction totale. Ces graves affections ont obligé le propriétaire à faire des opérations d'arrachage et de remplacement des plants atteints gravement par le dépérissement (Figure 5.4).

5.2. Modes de dépérissement

A partir de nos nombreuses prospections, il apparaît que les situations de dépérissement apparaissent et évoluent selon deux modes :

- ✓ Le mode foudroyant, sur les arbres âgés de 5 à 15 ans, l'arbre passe d'un état sain sans aucun symptôme à une situation de dépérissement total en l'espace de deux à trois mois. Au début, les signes symptomatologiques annonciateurs de dépérissement sont des symptômes foliaires touchant les extrémités des rameaux, accompagné d'enroulements vers le haut en forme de balai de sorcière. Les feuilles changent de coloration au début, du vert foncé en vert pale ou carrément jaunâtre, donnant un aspect d'une végétation desséchée et chétive.
- ✓ Le mode progressif, sur les arbres plus de 15 ans, le dépérissement évolue partiellement et lentement, durant quelques années (2-5 ans), dans ce cas, il a été noté des dépérissements unilatéraux touchants uniquement une partie de l'arbre ou atteignent partiellement un ou plusieurs rameaux.

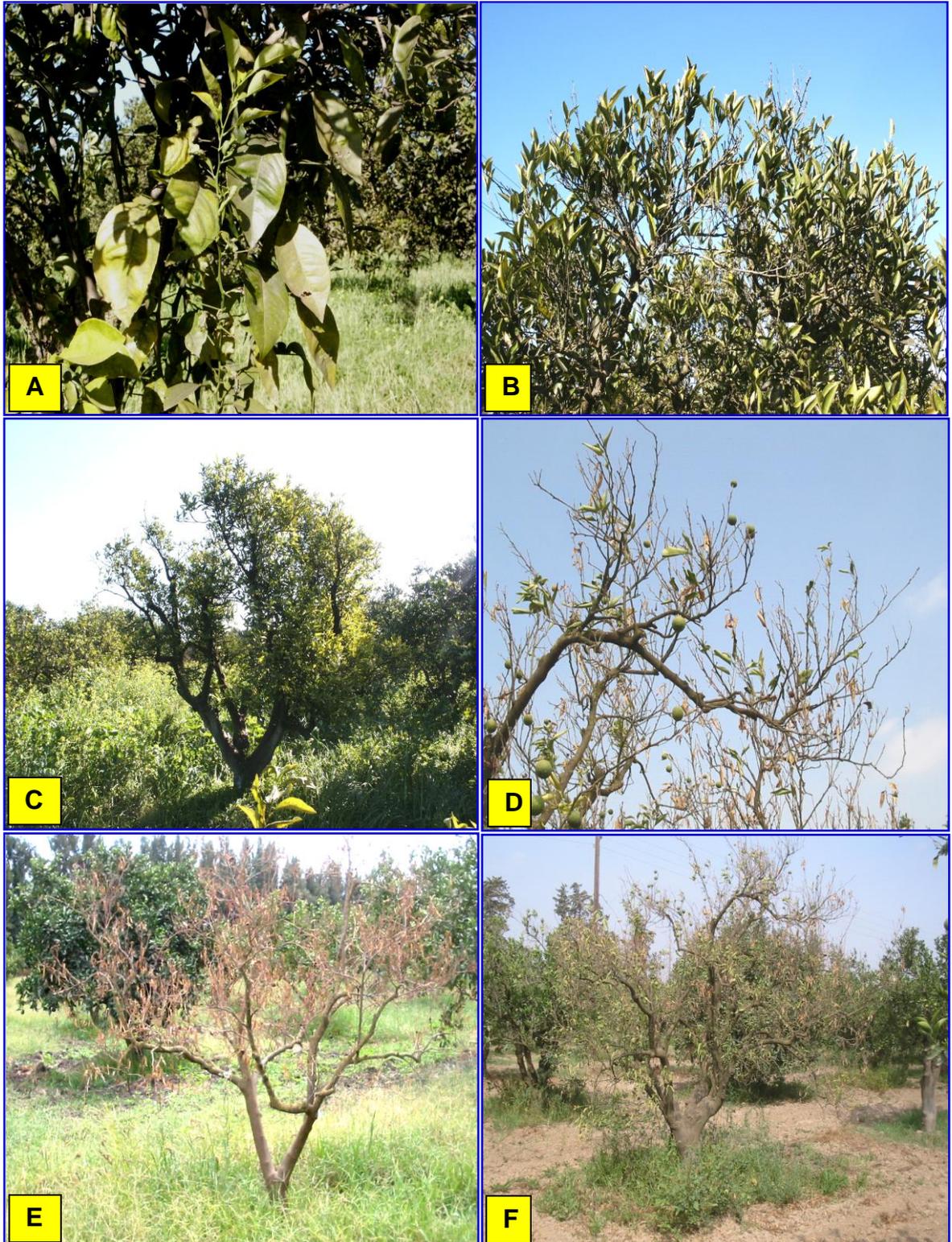


Figure 5.1 : Symptômes sur la partie aérienne ; **[A]** Hyperplasie et hypoplasie, **[B]** Enroulement et orientation des feuilles vers le haut, **[C]** Dépérissement unilatéral, **[D]** Chute des fruits avant maturité, **[E]** Dépérissement foudroyant, **[F]** Dépérissement progressif.

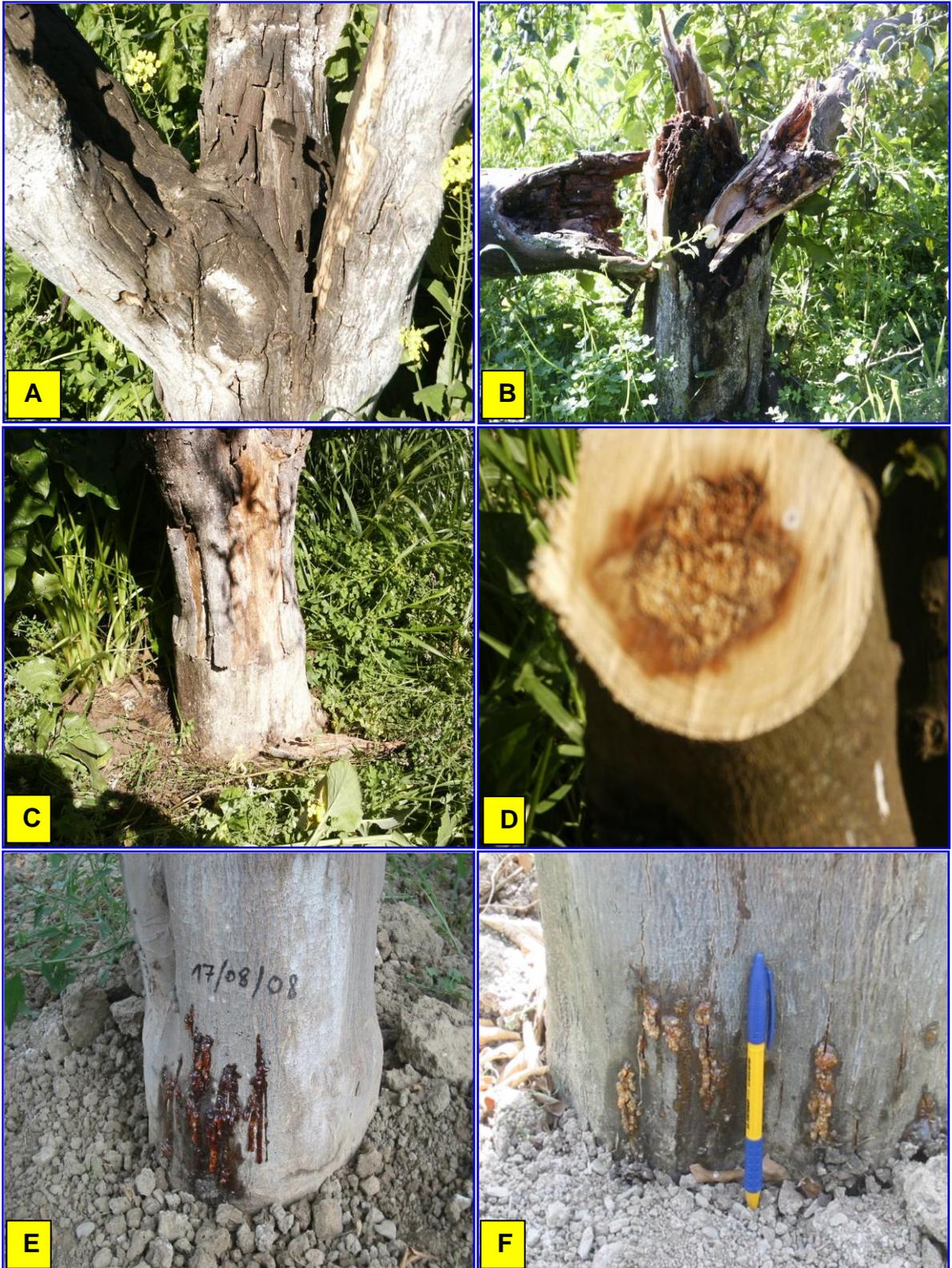


Figure 5.2 : Symptômes sur le tronc et branches charpentières ; **[A]** Craquelure de l'écorce, **[B]** Pourriture du tronc suite à un chancre, **[C]** Écaillement et rougissement du tronc, **[D]** Brunissement et durcissement central, **[E, F]** suintements gommeux, symptômes typiques de la gommose.

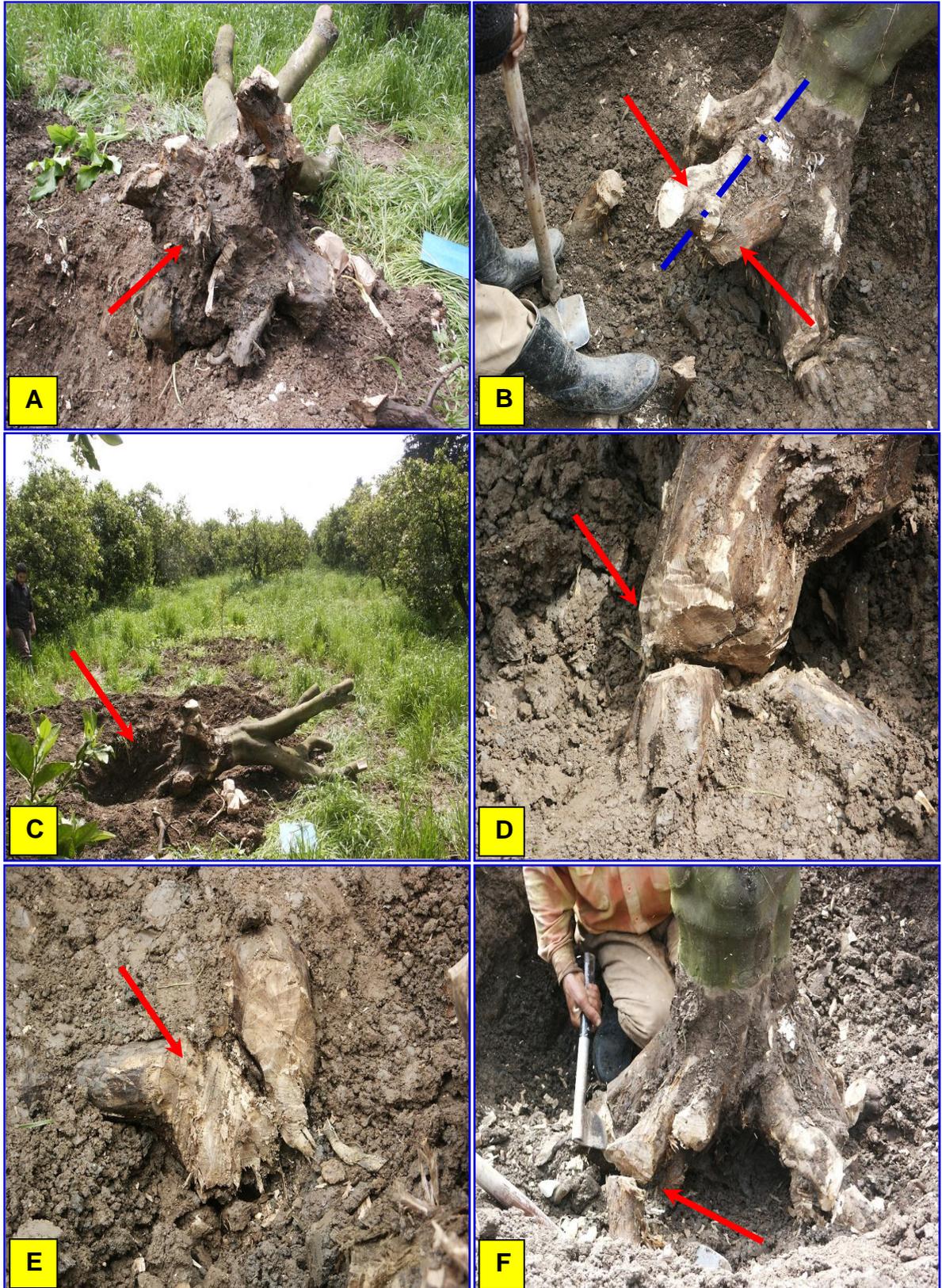


Figure 5.3 : Symptômes sur la partie souterraine, **[A]** Pourriture sèche de racines et destruction totale du pivot, **[B]** la mort unilatérale de racines, **[C]** Arbre arraché à cause du dépérissement, **[D]** Brunissement et durcissement de racines, **[E]** racines pourries, **[F]** déshydratation et durcissement de racines principales.

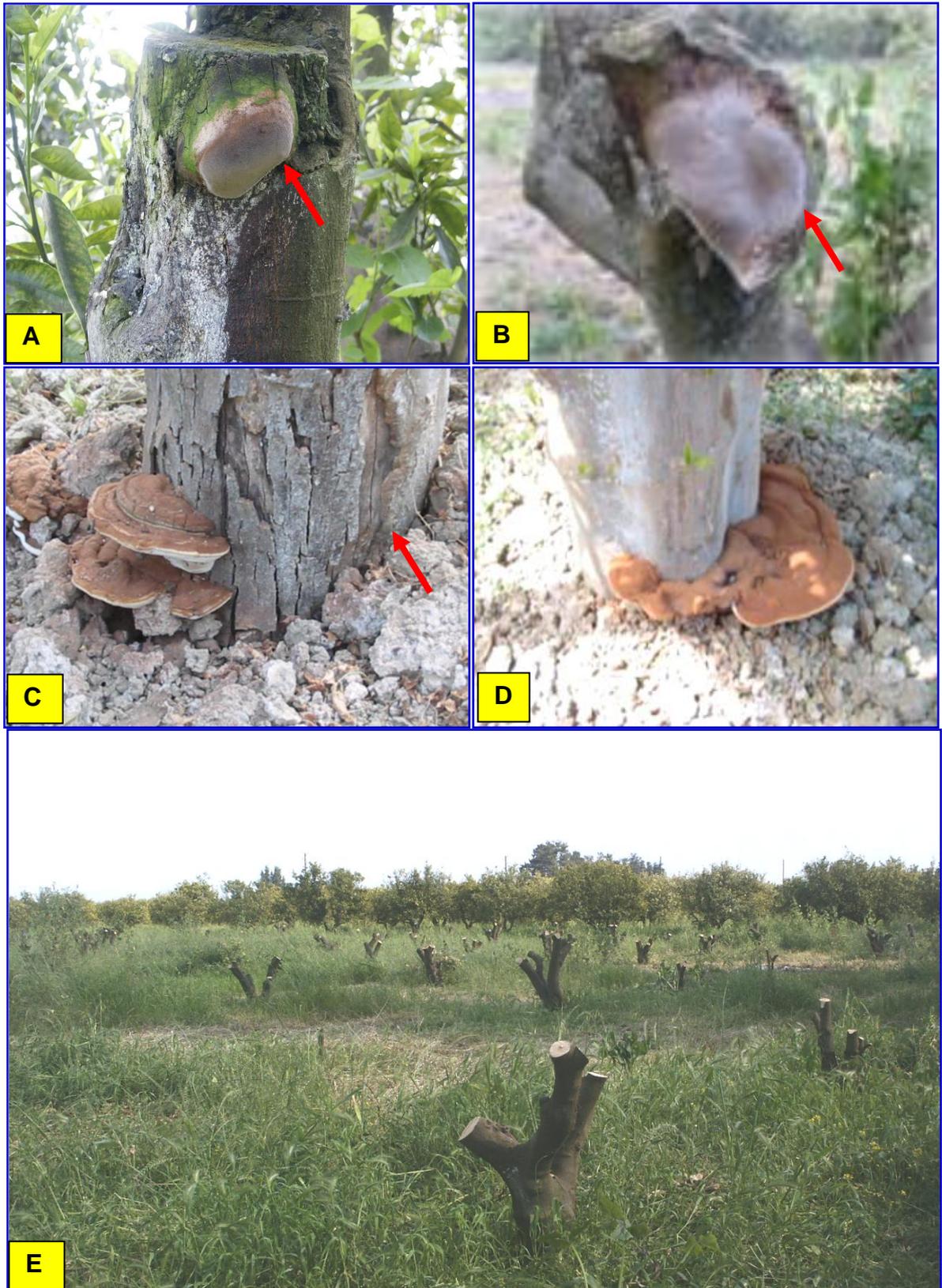


Figure 5.4 : Les champignons macroscopiques sur tronc et rameaux [A] *Fomitiporia mediterranea* à «Oued El-Alleug», [B] *F. mediterranea* dans les vergers de «Chebli», [C] *Ganoderma* sp sur tronc avec le chancre du collet induit par *Phytophthora* spp, [D] *Ganoderma* sp sur un arbre d'oranger, [E] le V03 en voie d'arrachage volontaire.

5.3. L'évolution spatiale des différentes classes de dépérissement

Notre étude a été initiée en Mars 2007, dans le but de diagnostiquer le problème de dépérissement au niveau de six vergers dans la commune d'Oued EI-Alleug (W.BLIDA) (Appendice G), après cela nous avons décidé de suivre le problème dans cette région et élargir nos prospections à d'autres vergers dans la région de la Mitidja.

En fonction de la gravité et de l'ampleur des affections, nous avons établi une échelle d'évaluation de cinq classes et pour chaque classe on a attribué une indice d'évaluation de 0 à 4 :

- ✓ « 0 » arbre sain ;
- ✓ « 1 » dépérissement des extrémités de l'arbre ;
- ✓ « 2 » dépérissement unilatéral ou partiel ;
- ✓ « 3 » dépérissement total de l'arbre ;
- ✓ « 4 » arbre mort, arraché ou remplacé.

Concernant la répartition des sujets dépéris, Nous avons constaté que la répartition des symptômes diffère d'un verger à l'autre, selon l'âge et l'état physiologique de l'arbre, nous signalons que tous les symptômes décrits précédemment sont présents dans tous les vergers prospectés avec des degrés différents (voir tables des vergers).

► Vergers de « Oued EI-Alleug »

- Verger N°1, les différents types de dépérissements sont localisés au centre avec un nombre élevé de classe 3. La diffusion apparaît à partir du centre vers la périphérie du verger. Nous remarquons que les arbres présentant le même type de symptôme se trouvent rapprochés les uns des autres (Figure 5.5).

- Verger N°2, la répartition est nettement généralisée sur la moitié nord du verger. Dans la moitié sud nous observons une faible dominance de dépérissement de la classe 3, il est à noter que les vergers sont orientés vers le nord et la source d'irrigation se situe entre les vergers 2 et 3. A cet effet nous pensons que la propagation peut se faire par les eaux d'irrigation, ce qui explique la dominance de dépérissement dans le coté nord par rapport au coté sud (Figure 5.6).

- Verger N°3, les symptômes sont généralisés un peu partout. Les symptômes de dépérissement apparaissent de façon plus grave au niveau de la moitié exposée au sud (Figure 5.7).

- Verger N°4, les symptômes de dépérissement sont en évolution continue et occupant les différents cotés du verger, nous avons remarqué une progression rapide des situations de dépérissement de la classe « 3 » (Figure 5.8).

- Verger N°5 et 6, Les symptômes de dépérissement dans les vergers abandonnés sont moins considérables par rapport aux autres vergers (Figure 5.9 et 5.10).

► **Vergers de « Chebli »**

- Verger N°7, Les différents types de dépérissement et les arbres arrachés sont regroupés sous forme de taches occupants tout le verger (Figure 5.11).

- Verger N°8, Une abondance des arbres arrachés (Clémentinier) dans la partie Est ; l'autre partie de Citronnier ; les arbres arrachés sont localisés au centre (Figure 5.12).

- Verger N°9, Le symptôme de la classe 3 est localisé dans la partie Sud et les autres classes sur la totalité du verger (Figure 5.13).

- Verger N°10, Les arbres arrachés sont localisés dans la partie Sud-Est (Figure 5.14).

► **Vergers de « Boufarik » et des « Eucalyptus »**

- Verger N°11, les différents cas dépéris se situent au centre et dans la partie Sud. Les différents cas de dépérissement se localisent au centre du verger formants une plage d'arbres dépéris, les arbres arrachés sont localisés dans la partie sud du verger (Figure 5.15).

- Verger N°12, la répartition du dépérissement de la classe 1 est sur l'ensemble du verger, les arbres arrachés sont localisés dans la partie Sud-ouest (Figure 5.16).

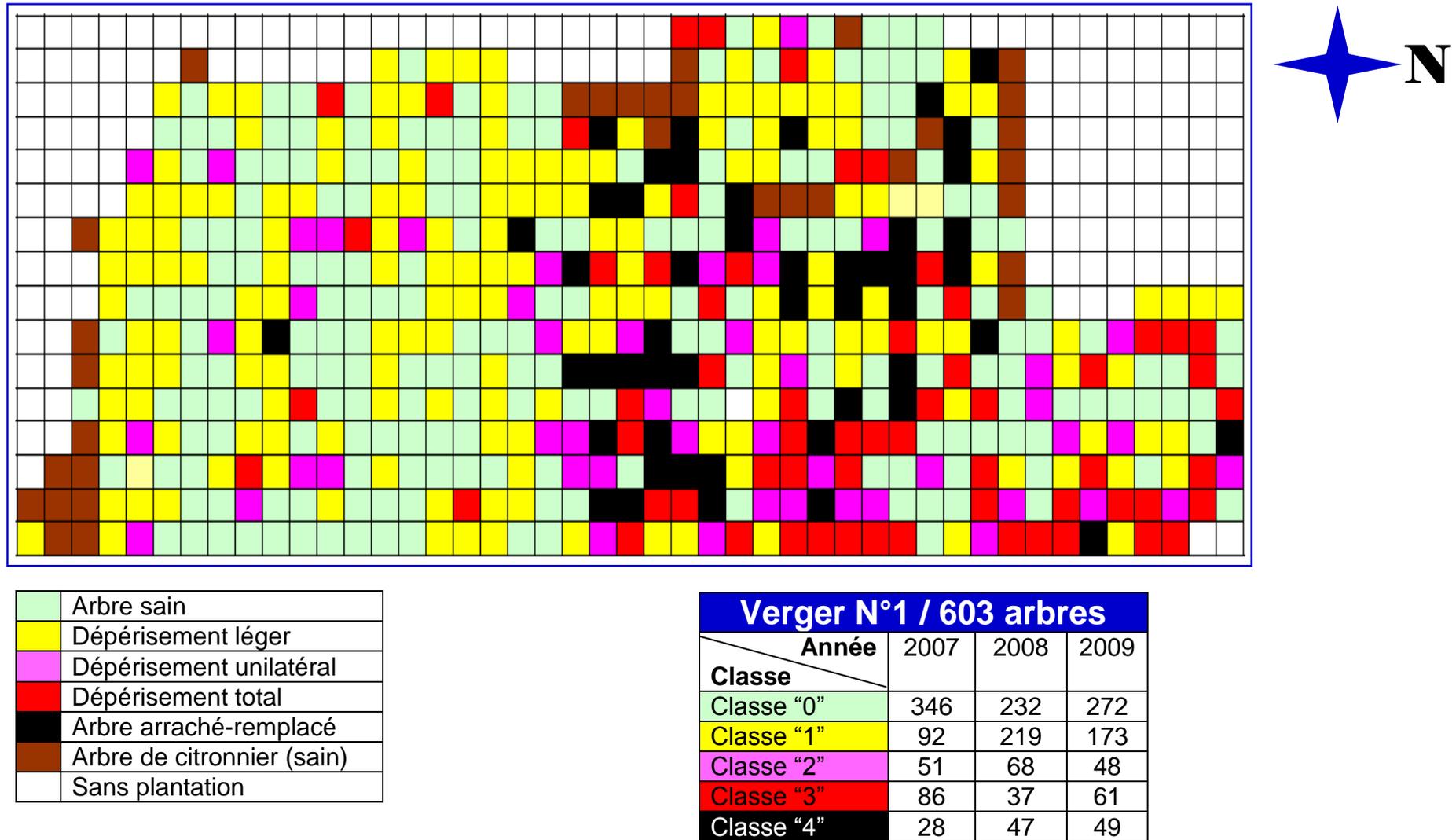
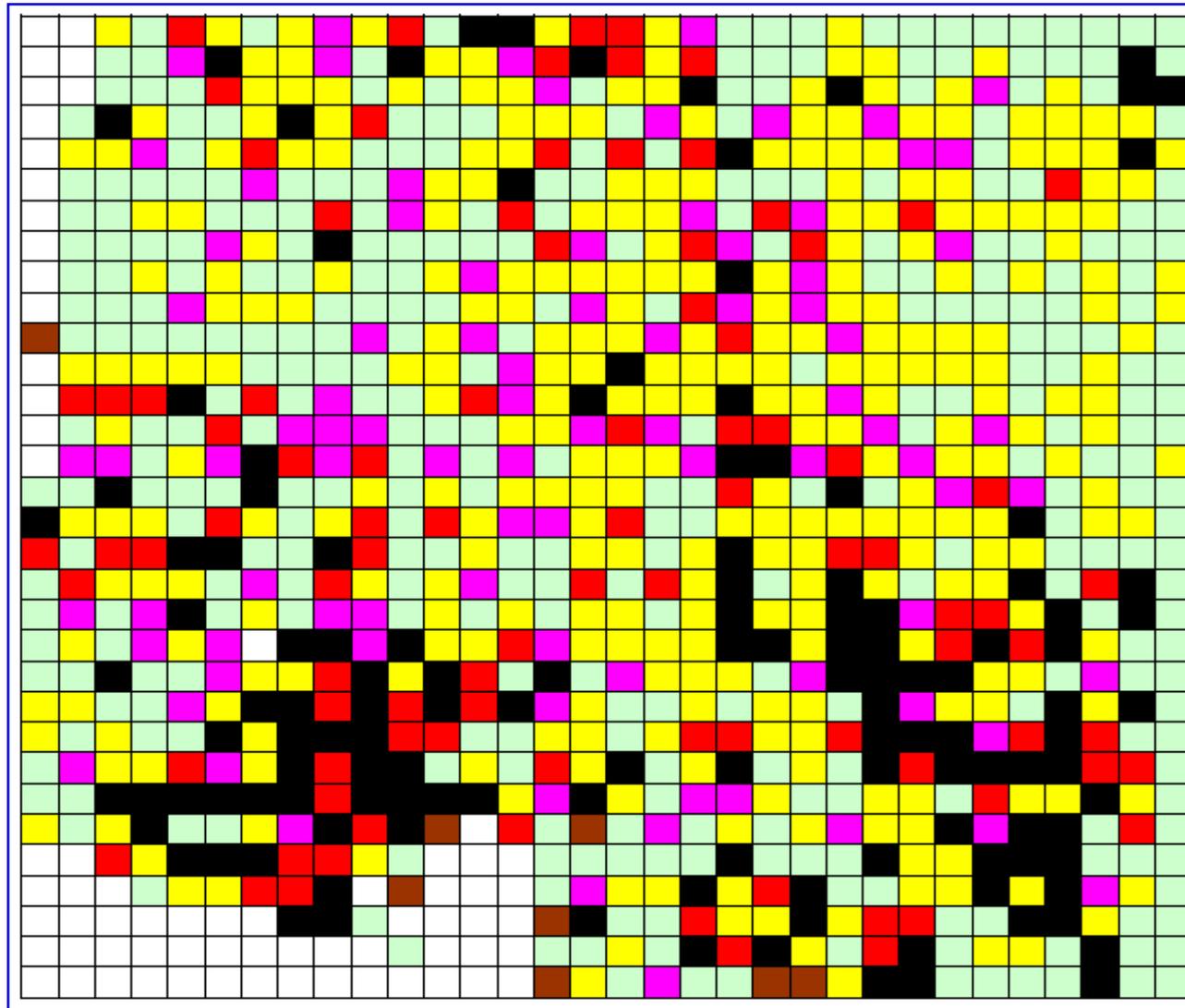


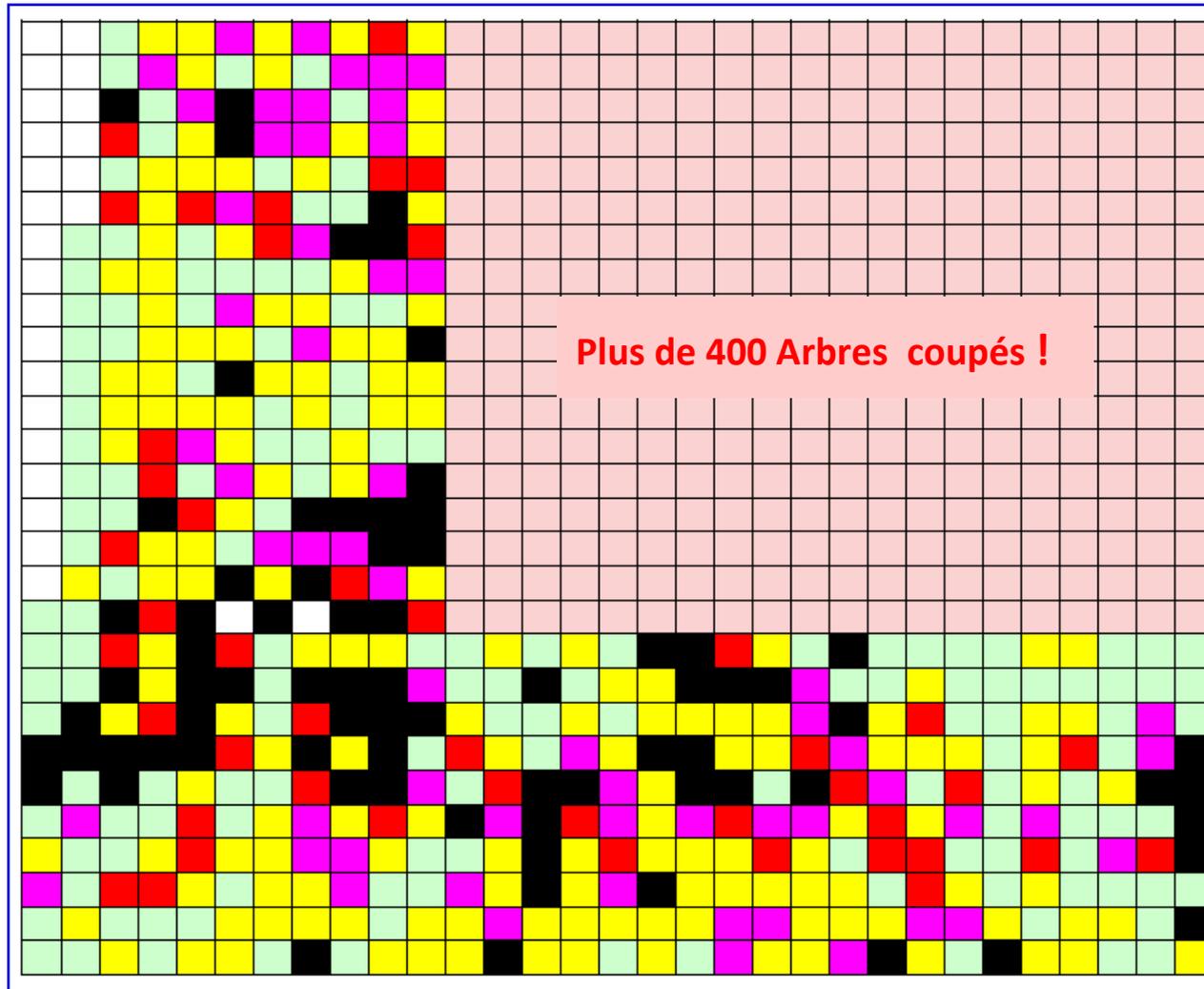
Figure 5.5 : Répartition géographique de différentes classes symptomatologiques dans le Verger **N°1** en 2009.



Verger N°2 / 1028 arbres			
Année	2007	2008	2009
Classe "0"	491	246	418
Classe "1"	226	364	305
Classe "2"	120	203	87
Classe "3"	129	82	89
Classe "4"	62	133	129

	Arbre sain
	Dépérisement léger
	Dépérisement unilatéral
	Dépérisement total
	Arbre arraché-remplacé
	Arbre de citronnier (sain)
	Sans plantation

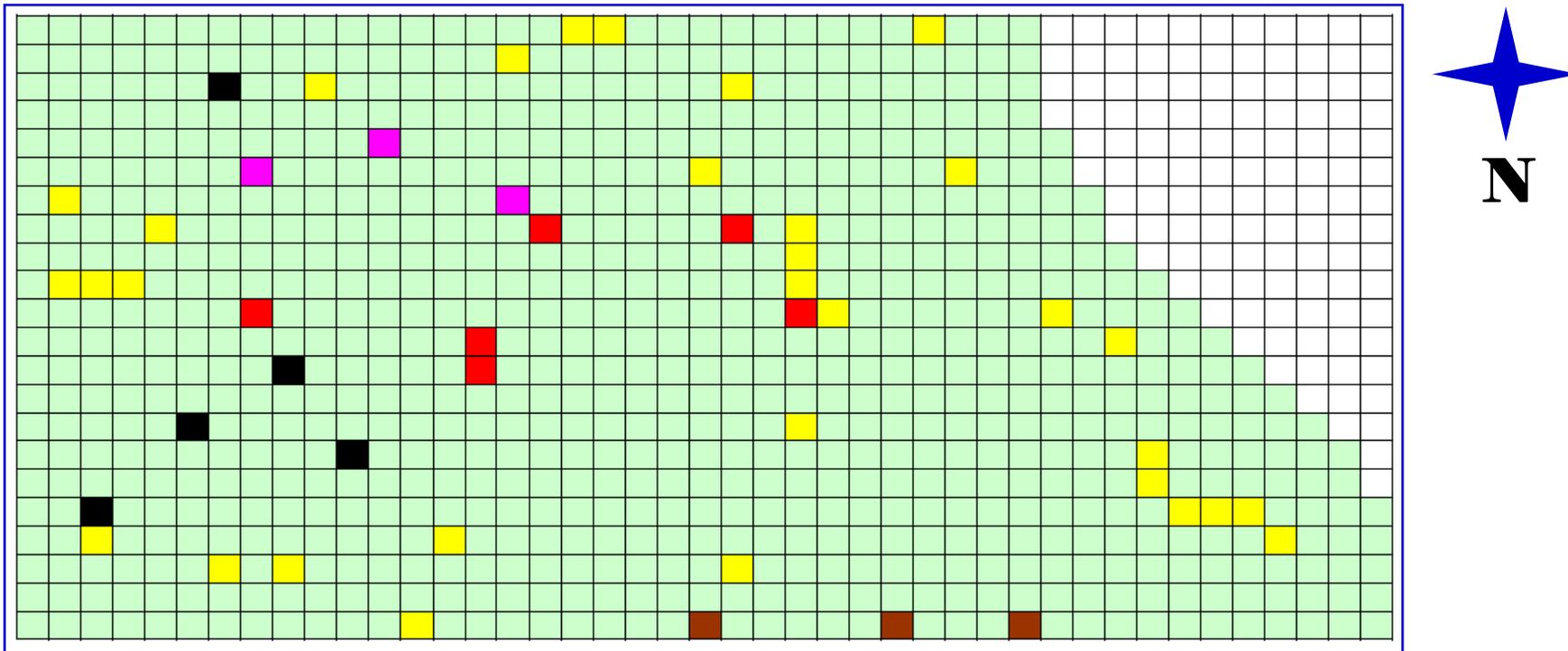
Figure 5.6 : Répartition géographique de différentes classes symptomatologiques dans le Verger **N°2** en 2009.



Verger N°3 / 845 arbres			
Année	2007	2008	2009
Classe "0"	494	140	146
Classe "1"	112	160	157
Classe "2"	84	87	59
Classe "3"	154	44	45
Classe "4"	1	414	438

Arbre sain
Dépérisement léger
Dépérisement unilatéral
Dépérisement total
Arbre arraché-remplacé
Sans plantation
Arbres coupés (Classe 4)

Figure 5.7 : Répartition géographique de différentes classes symptomatologiques dans le Verger **N°3** en 2009.



	Arbre sain
	Dépérisement léger
	Dépérisement unilatéral
	Dépérisement total
	Arbre arraché-remplacé
	Arbre de citronnier (sain)
	Sans plantation

Verger N°4 / 829 arbres			
Année	2007	2008	2009
Classe "0"	828	817	781
Classe "1"	0	9	34
Classe "2"	0	0	3
Classe "3"	1	3	6
Classe "4"	0	0	5

Figure 5.8 : Répartition géographique de différentes classes symptomatologiques dans le Verger **N°4** en 2009.

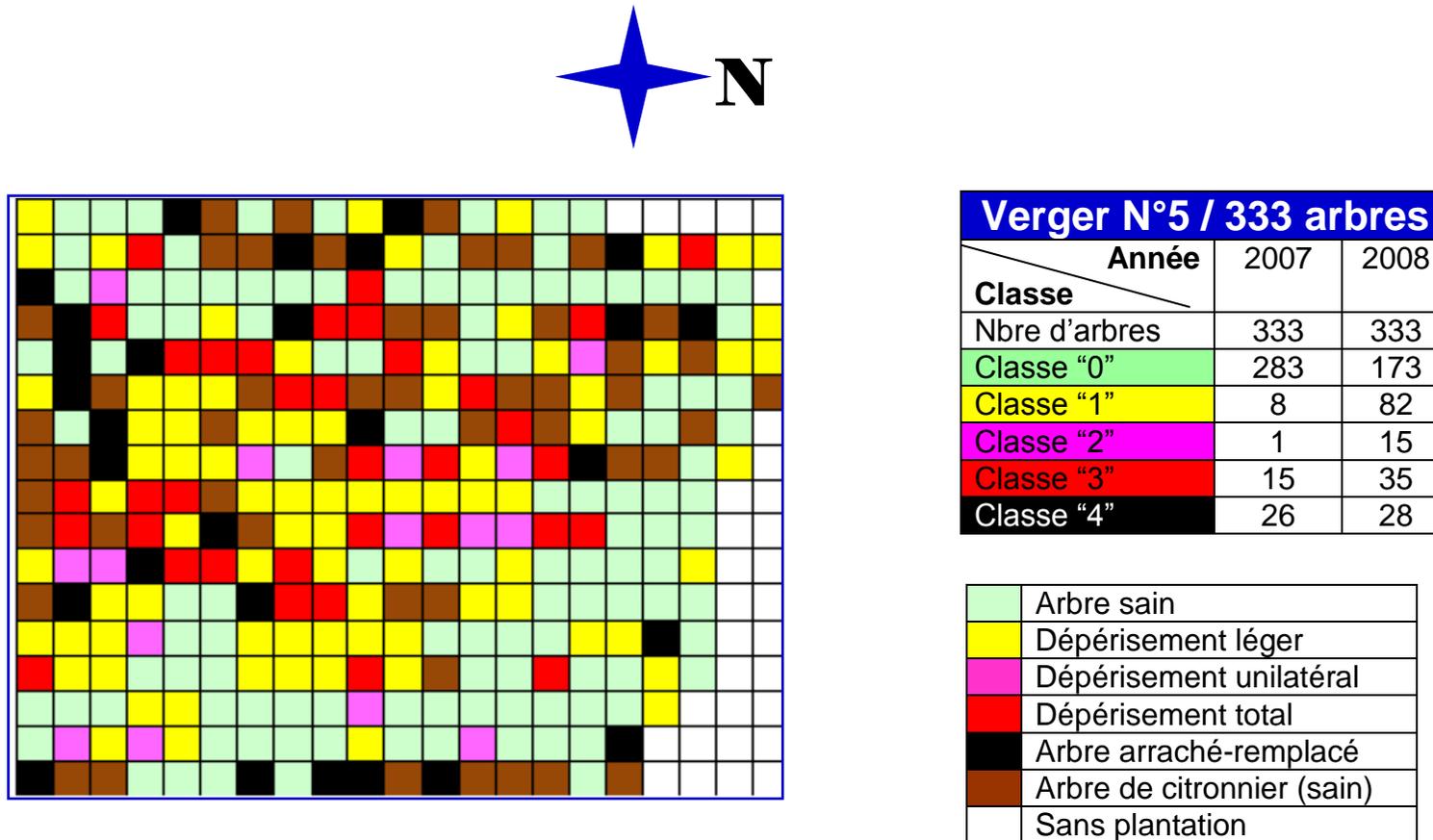


Figure 5.9 : Répartition géographique de différentes classes symptomatologiques dans le Verger **N°5** en 2008.

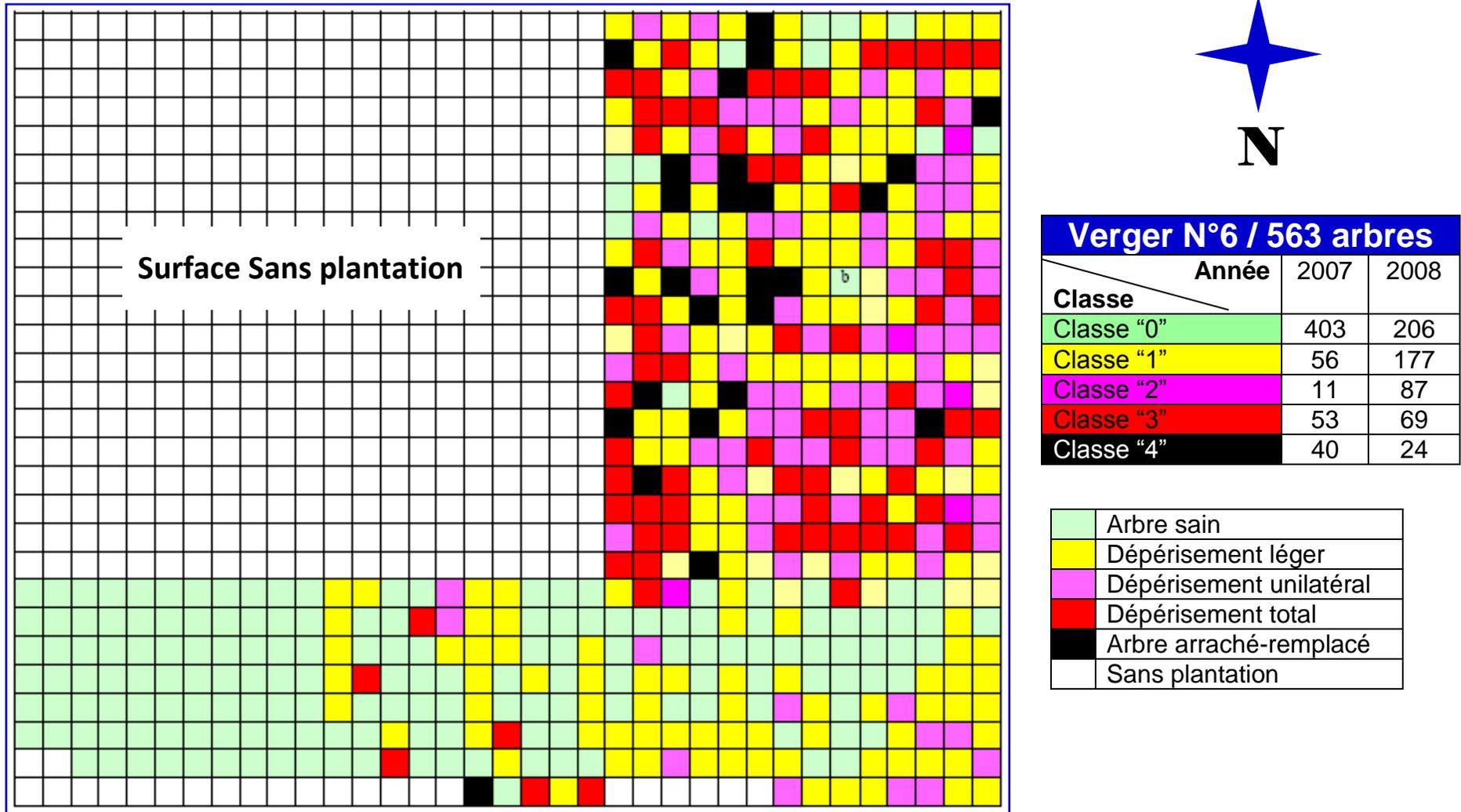
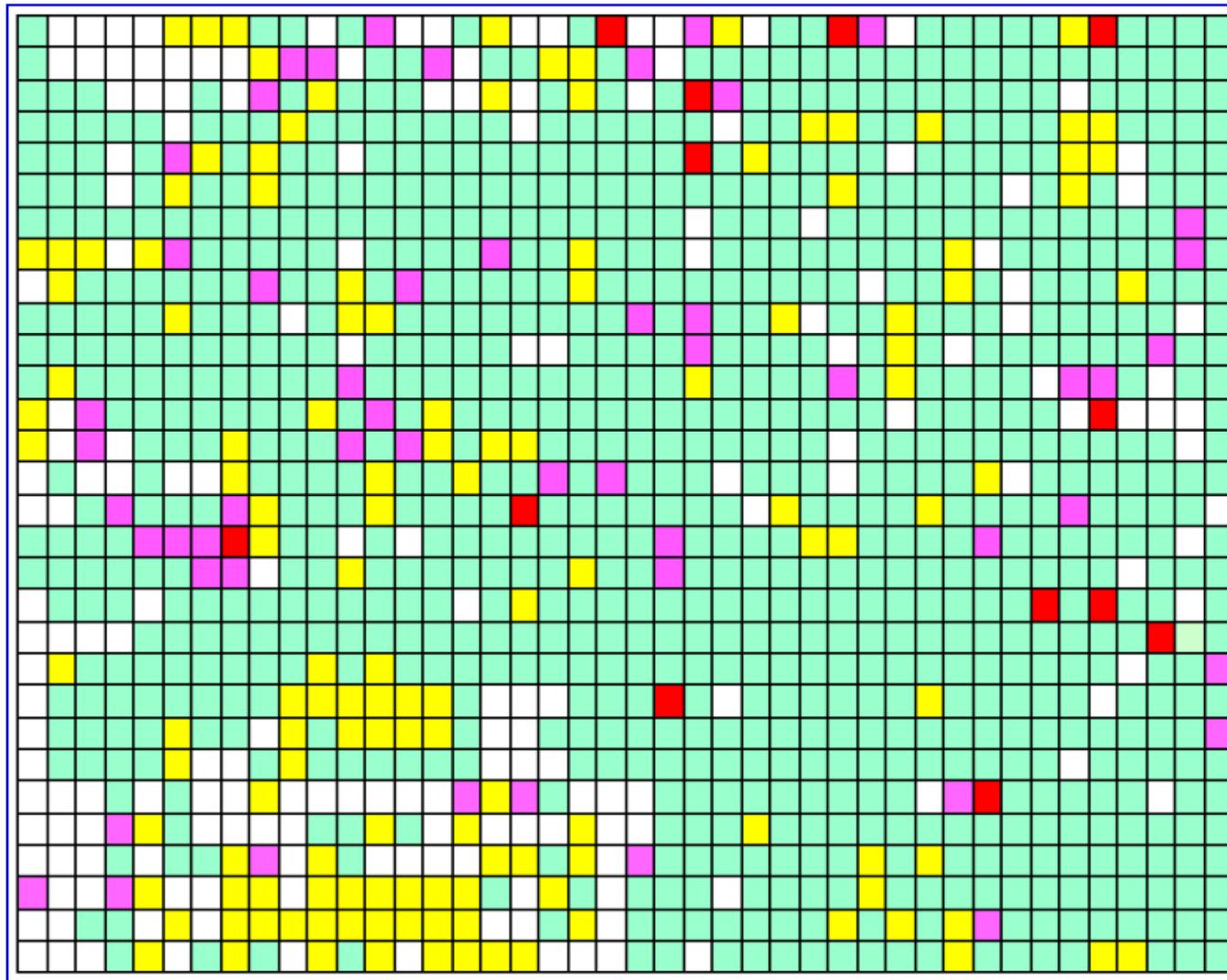


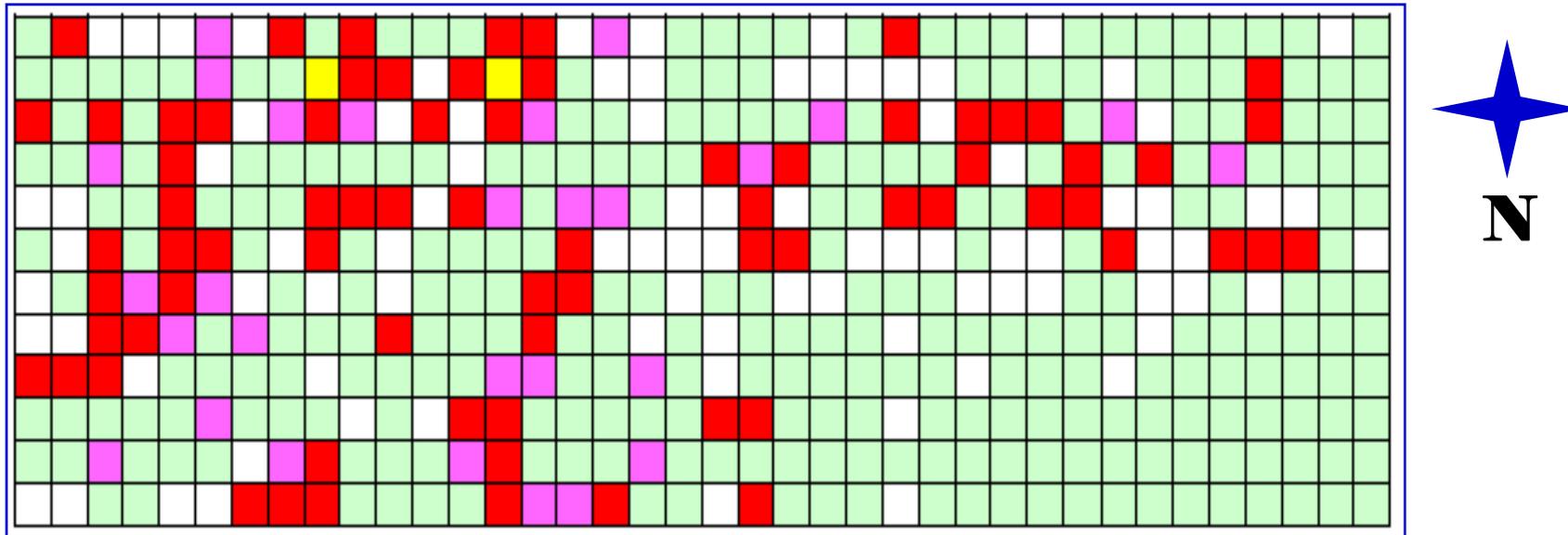
Figure 5.10 : Répartition géographique de différentes classes symptomatologiques dans le Verger **N°6** en 2008.



Verger N°7 / 1260 arbres	
Année	2008
Classe "0"	882
Classe "1"	137
Classe "2"	53
Classe "3"	13
Classe "4"	175

	Arbre sain
	Dépérisement léger
	Dépérisement unilatéral
	Dépérisement total
	Arbre arraché-remplacé

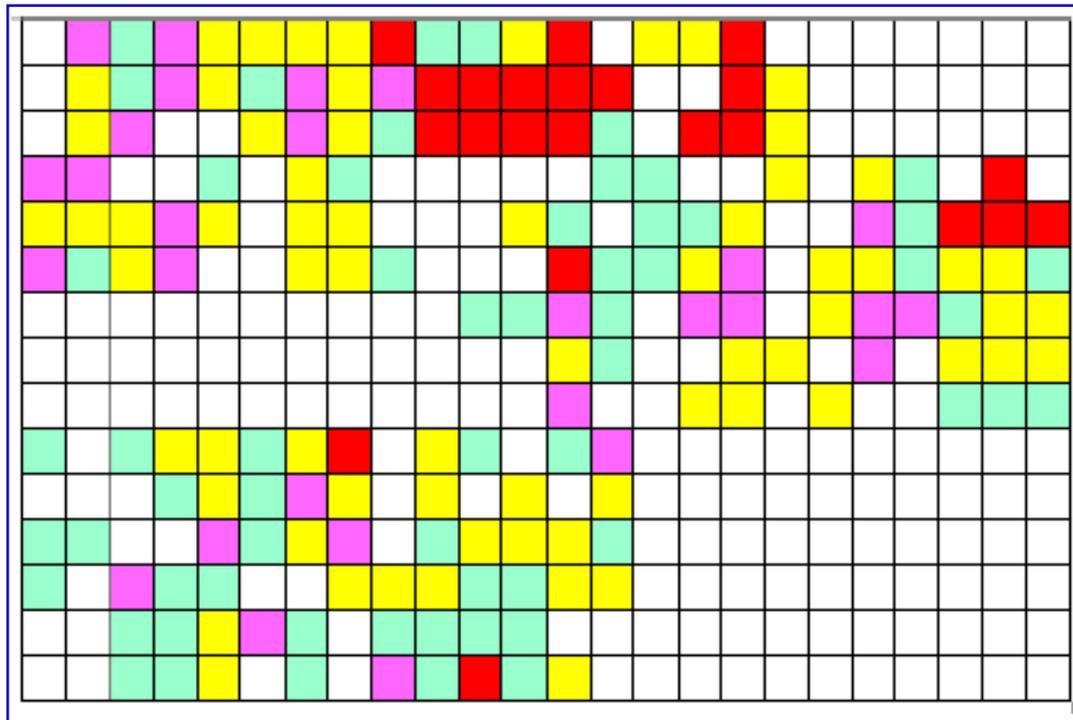
Figure 5.11 : Répartition géographique de différentes classes symptomatologiques dans le Verger **N°7** en 2008.



	Arbre sain
	Dépérisement léger
	Dépérisement unilatéral
	Dépérisement total
	Arbre arraché-remplacé

Verger N°8 / 456 arbres	
Année	2008
Classe	
Classe "0"	266
Classe "1"	2
Classe "2"	30
Classe "3"	72
Classe "4"	86

Figure 5.12 : Répartition géographique de différentes classes symptomatologiques dans le Verger **N°8** en 2008.



Verger N°9 / 252 arbres

Année	2008
Classe "0"	58
Classe "1"	69
Classe "2"	28
Classe "3"	21
Classe "4"	76

	Arbre sain
	Dépérisement léger
	Dépérisement unilatéral
	Dépérisement total
	Arbre arraché-remplacé

Figure 5.13 : Répartition géographique de différentes classes symptomatologiques dans le Verger **N°9** en 2008.

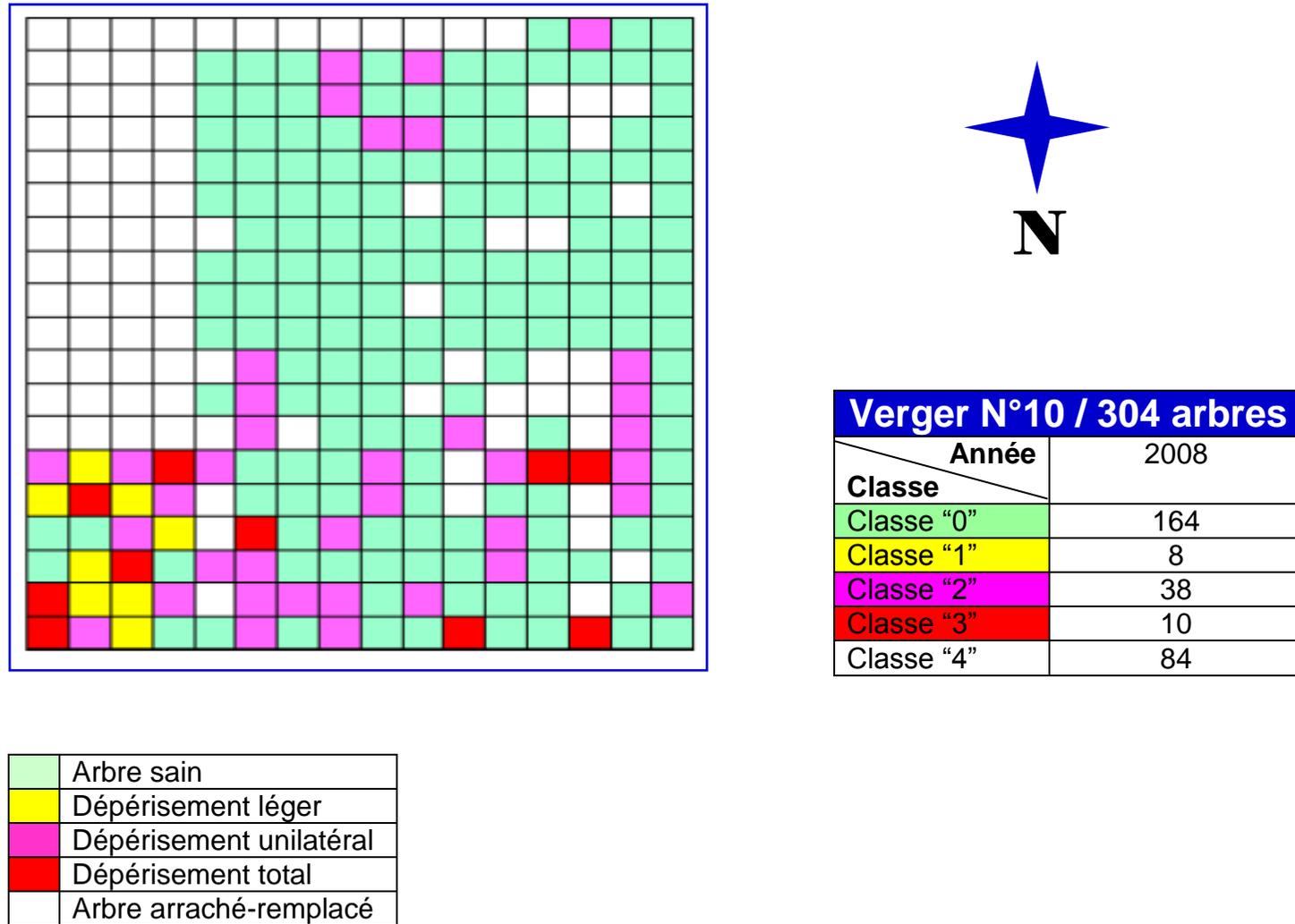


Figure 5.14 : Répartition géographique de différentes classes symptomatologiques dans le Verger **N°10** en 2008.

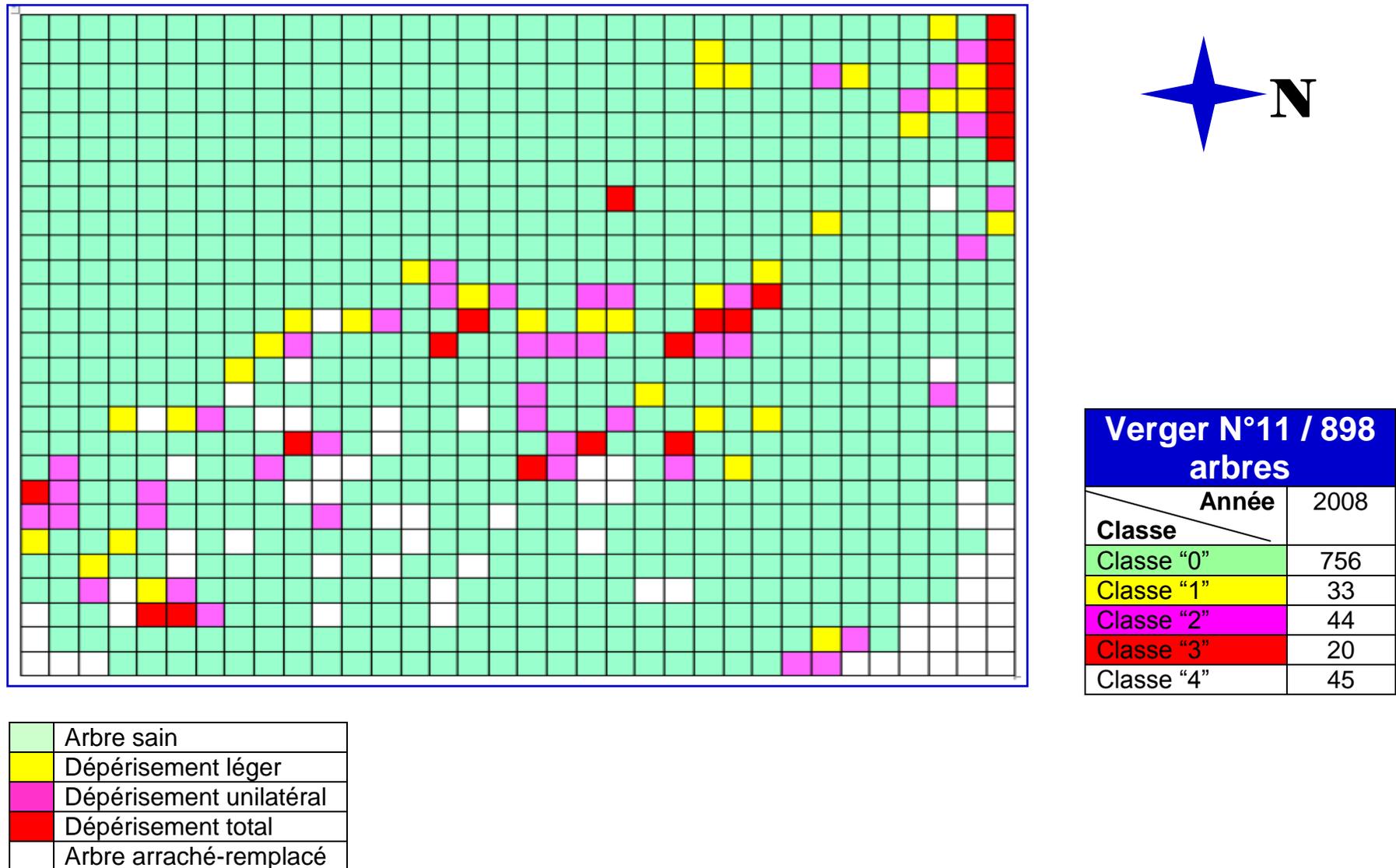


Figure 5.15 : Répartition géographique de différentes classes symptomatologiques dans le Verger **N°11** en 2008.

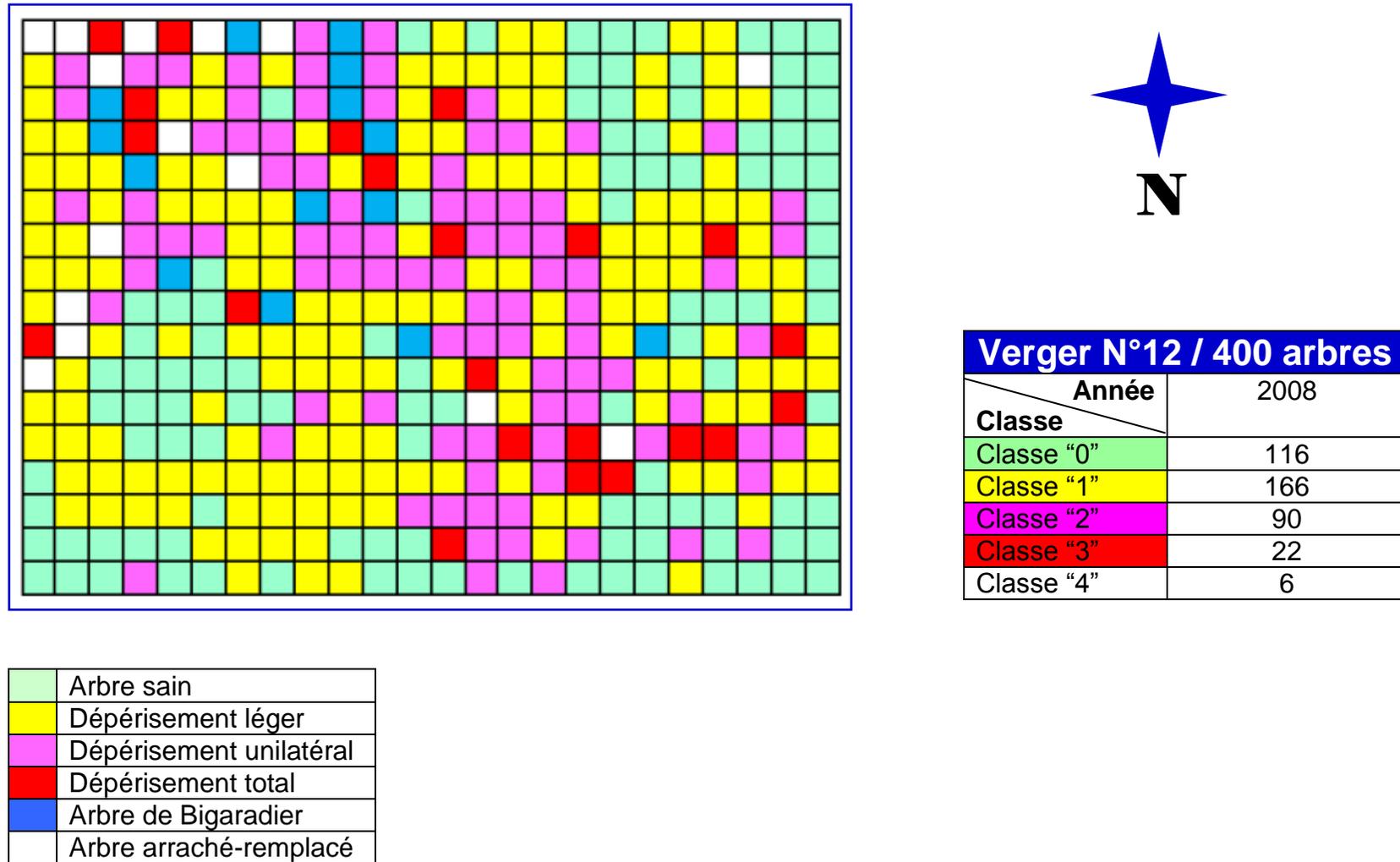


Figure 5.16 : Répartition géographique de différentes classes symptomatologiques dans le Verger **N°12** en 2008.

5.4. Estimation des paramètres épidémiologiques

5.4.1. Dans les six vergers de la commune de «Oued El-Alleug»

En se basant sur l'échelle d'évaluation des symptômes de dépérissement, les symptômes ont été classés par ordre de gravité et pour mieux comprendre l'évolution de la maladie, nous avons estimé sa diffusion, sa gravité et son incidence sur le potentiel de la production.

Nos prospections au niveau de la commune de « Oued El-Alleug » durant les trois campagnes agricoles consécutives sur les six vergers dont deux sont abandonnés, ont montré que la situation de la maladie est très grave et qu'elle est en progression continue.

Pour les anciens vergers V01, V02, et V03, la situation est alarmante. Nous avons noté une progression dans toutes les valeurs et au niveau de tous les vergers durant les trois ans, on a enregistré un taux d'infection entre 42,62 et 83,43%, une gravité entre 1,76 et 3,09 et une incidence entre 22,07 et 63,96%. Ces chiffres montrent sans ambiguïté la diffusion rapide de la maladie qui a atteint son maximum de 83,43% en 2008 dans le verger V03 à cause de l'opération d'arrachage envisagée par le propriétaire (Tableau 5.1, Figure 5.17).

Concernant le verger V04, le dépérissement est en progression chaque année, un taux d'infection de 0,12% a été enregistré en 2007, ce taux a été augmenté pour arriver 1,45% en 2008 puis 5,79% en 2009. L'incidence dans ce verger est très grave, Nous avons noté un taux de 2,35% en 2009 qui est très inquiétant pour un jeune verger (Tableau 5.1, Figure 5.17).

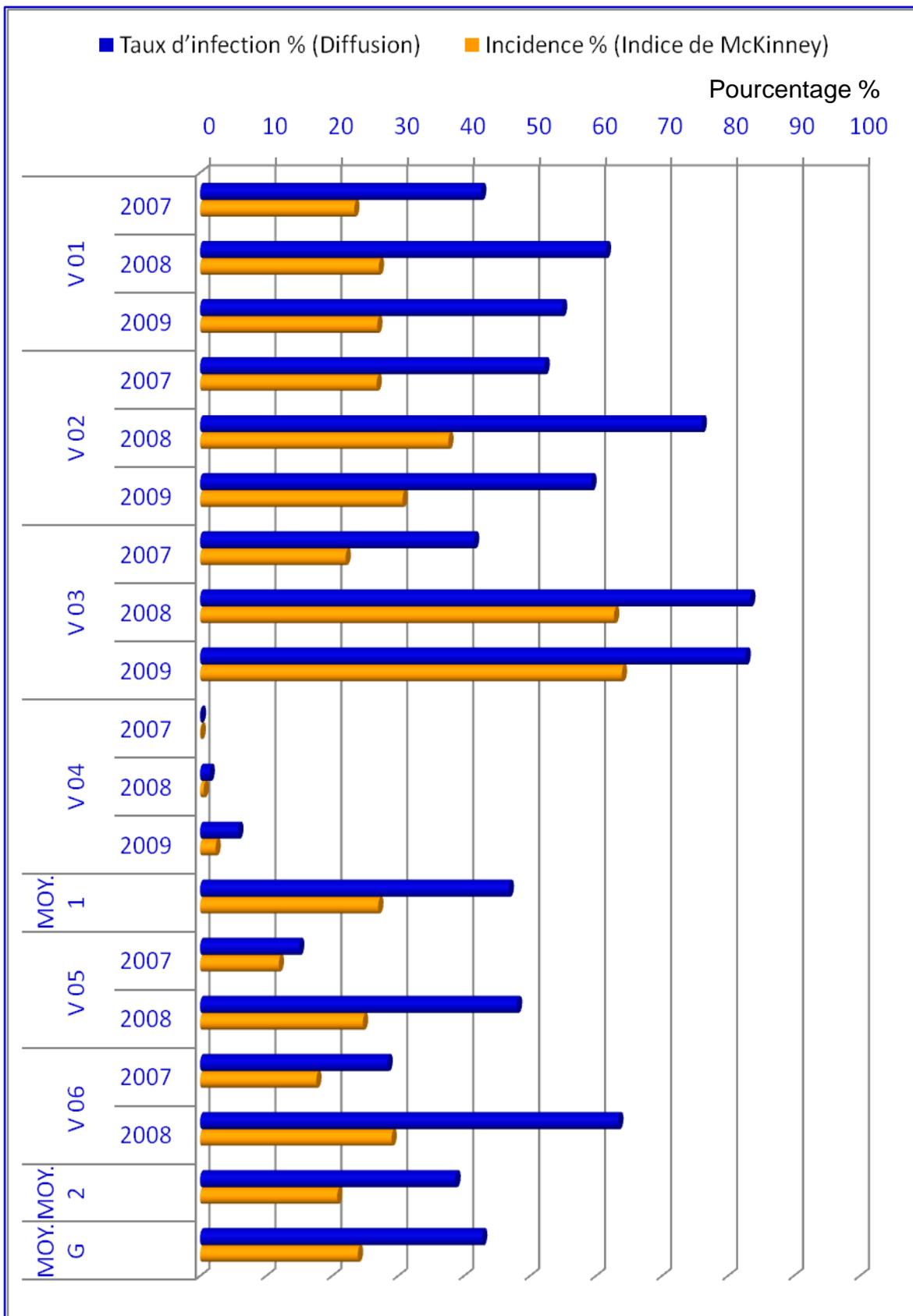
Dans le but d'étudier l'influence de mode de conduite sur le développement des symptômes du dépérissement, nous avons suivi deux vergers abandonnés dans cette région V05 et V06. Dans ces deux vergers les valeurs des trois paramètres sont moins importants comparés à ceux des autres quatre vergers ; le taux d'infection a été augmenté de 15,02% en 2007 à 48,05% en 2008 pour le verger V05, et de 28,42% à 63,41% pour V06, L'incidence pour les deux vergers est moins importante comparée à celle des autres vergers (Tableau 5.1, Figure 5.17).

Globalement on peut dire que le mode de conduite a un effet direct sur la diffusion des symptômes du dépérissement, cette hypothèse est confirmée par le pourcentage de diffusion obtenu pour les quatre vergers de 46,81% face à 38,73% pour les vergers abandonnés (Tableau 5.1, Figure 5.17).

Tableau 5.1 : Taux d'infection, Gravité et incidence dans les six vergers agrumicoles de la commune de « Oued El-Alleug »

Commune	verger	Année	Taux d'infection % (Diffusion)	Gravité (classe moyenne)	Incidence % (Indice de McKinney)	
"Oued El-Alleug"	V 01	2007	42,62	2,19	23,38	
		2008	61,53	1,76	27,11	
		2009	54,89	1,96	26,87	
	V 02	2007	52,24	2,05	26,78	
		2008	76,07	1,98	37,65	
		2009	59,34	2,07	30,69	
	V 03	2007	41,54	2,13	22,07	
		2008	83,43	3,01	62,78	
		2009	82,72	3,09	63,96	
	V 04	2007	0,12	3	0,09	
		2008	1,45	1,5	0,54	
		2009	5,79	1,63	2,35	
	MOYENNE			46,81	2,20	27,02
	V 05 *	2007	15,02	3,18	11,94	
		2008	48,05	2,06	24,7	
	V 06 *	2007	28,42	2,48	17,63	
		2008	63,41	1,83	29,04	
	MOYENNE			38,73	2,39	20,83
MOYENNE GENERALE			42,77 %	2,29	23,93 %	

*. Verger abandonné.



Moy 1 : moyenne de V01 à V04/ Moy 2 : moyenne de V05 et V06/ Moy.G : moyenne générale

Figure 5.17 : Illustration du taux d'infection et de l'incidence dans les six vergers agrumicoles de la commune de «Oued El-Alleug»

5.4.2. Dans la totalité des vergers étudiés

En plus des six vergers de la commune de « Oued El-Alleug », nous avons élargit nos prospections à d'autres six vergers dont quatre sont au niveau la commune de « Chebli », un verger aux Eucalyptus et un autre à Boufarik.

Concernant les vergers de « Oued El-Alleug », pendant les trois ans nous avons enregistré une moyenne de 42,77% du taux d'infection, 2,29 pour la gravité et 23,93% pour l'incidence. Ces moyennes signifient que la maladie se diffuse très rapidement et que le potentiel de la production est en régression continue (Tableau 5.2, Figure 5.18).

Pour les quatre vergers de la commune de « Chebli » V07, V08, V09, et V10, la situation est encore plus grave, les pourcentages maximaux ont été enregistré dans le verger V09 avec 76,98% pour le taux de d'infection et 48,81 pour l'incidence , la valeur de 3,27 pour la gravité maximale a été noté dans le verger V08. Les valeurs moyennes dans ces vergers sont supérieures à ceux des vergers de la région de « Oued El-Alleug » (Tableau 5.2, Figure 5.18).

Les pourcentages enregistrés dans le verger V11 de la commune des Eucalyptus reflètent une situation très alarmante, nous avons noté des taux importants pour les trois paramètres ; 15,81% pour la diffusion, 2,54 comme classe moyenne et 15,05% pour l'incidence du dépérissement (Tableau 5.2, Figure 5.18).

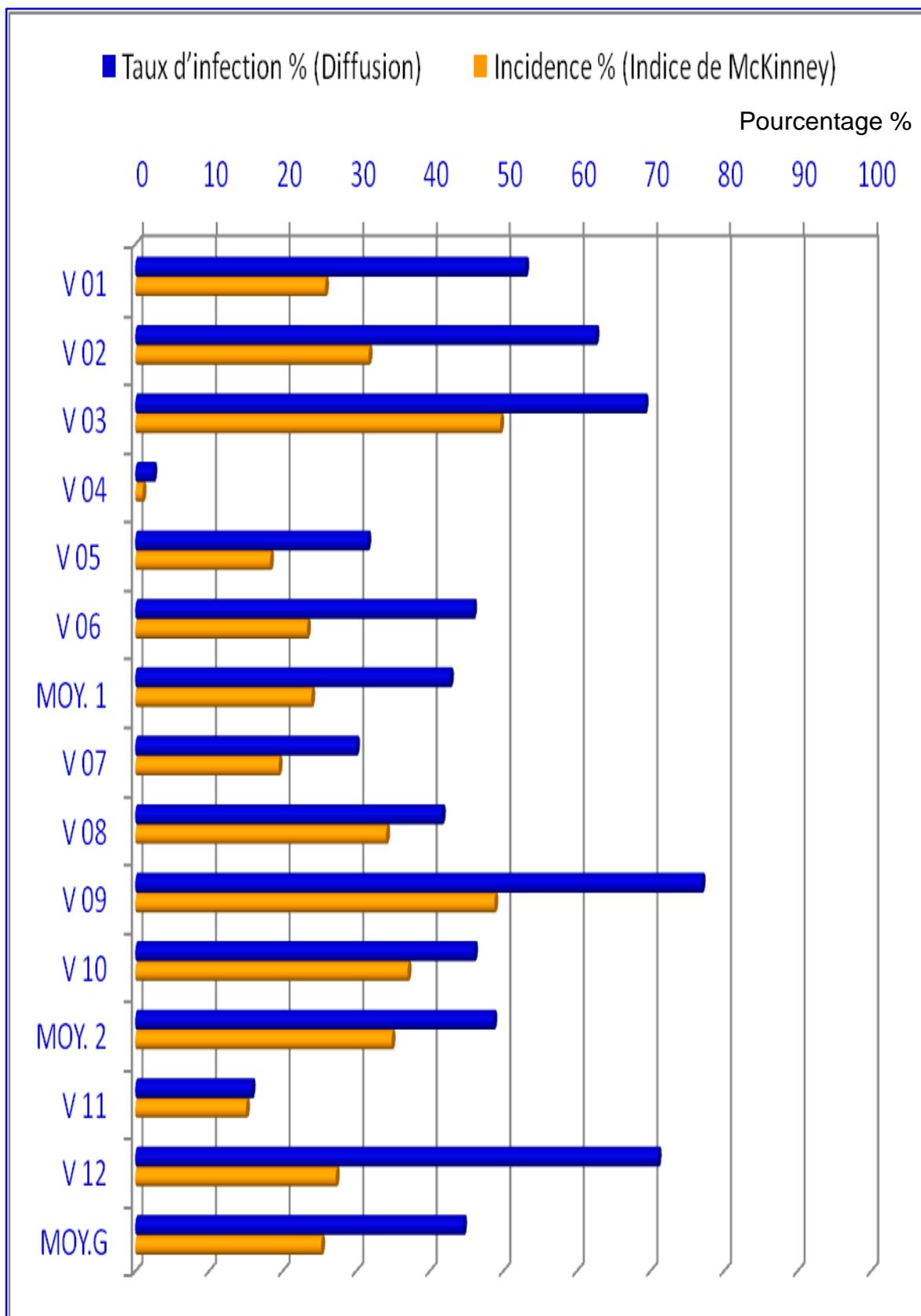
Pour le verger V12 de la commune de « Boufarik », nous avons enregistré des taux très inquiétants ; avec 71% pour le taux de diffusion du dépérissement et 27,25% pour son incidence sur la production (Tableau 5.2, Figure 5.18).

L'estimation globale de la situation de dépérissement dans les douze vergers étudiés, nous a permet d'enregistrer une moyenne générale du taux d'infection de 44,56%, une valeur moyenne de la classe du dépérissement de 2,32 et une incidence moyenne de 25,27%. Ces valeurs très inquiétantes montrent clairement que le dépérissement dans tous les vergers prospectés est en augmentation rapide, et celle-ci est proportionnelle avec sa gravité et son incidence (Tableau 5.2, Figure 5.18).

Tableau 5.2 : Taux d'infection, Gravité et incidence dans les douze vergers

Commune	verger	Taux d'infection % (Diffusion)	Gravité (classe moyenne)	Incidence % (Indice de McKinney)
“Oued El-Alleug”	V 01	53,01	1,97	25,79
	V 02	62,55	2,03	31,71
	V 03	69,23	2,74	49,6
	V 04	2,45	2,04	0,99
	V 05 *	31,54	2,62	18,32
	V 06 *	45,92	2,16	23,34
MOYENNE		42,77 %	2,29	23,93 %
“Chebli”	V 07	30	2,6	19,48
	V 08	41,67	3,27	34,1
	V 09	76,98	2,54	48,81
	V 10	46,05	3,21	37,01
MOYENNE		48,68 %	2,91	34,85 %
“Eucalyptus”	V 11	15,81	2,54	15,05
“Boufarik”	V 12	71	1,54	27,25
MOYENNE GENERALE		44,56 %	2,32	25,27 %

*. Verger abandonné.



Moy 1 : moyenne de V01 à V06/ Moy 2 : moyenne de V07 et V10/ Moy.G : moyenne générale

Figure 5.18 : Illustration globale du taux d'infection et de l'incidence dans les douze vergers agrumicoles prospectés.

5.5. Taux de dépérissement dans les douze vergers

Notre diagnostic symptomatologique réalisé sur un total de 7 771 arbres, figurant dans les douze vergers agrumicoles et occupant une superficie d'environ 25 ha ; a montré que 44,56% des arbres sont atteints par le dépérissement, ce qui correspond à 3 463 arbres dépéris dont 18,34% pour le dépérissement de la classe « 1 » soit 1425 arbres, 10,69% de la classe « 2 » soit 830 arbres, 5,79% de la classe « 3 » soit 450 arbres et 9,75% de la classe «4 » pour 758 arbres (Tableau 5.3, Figures 5.19 et 5.22).

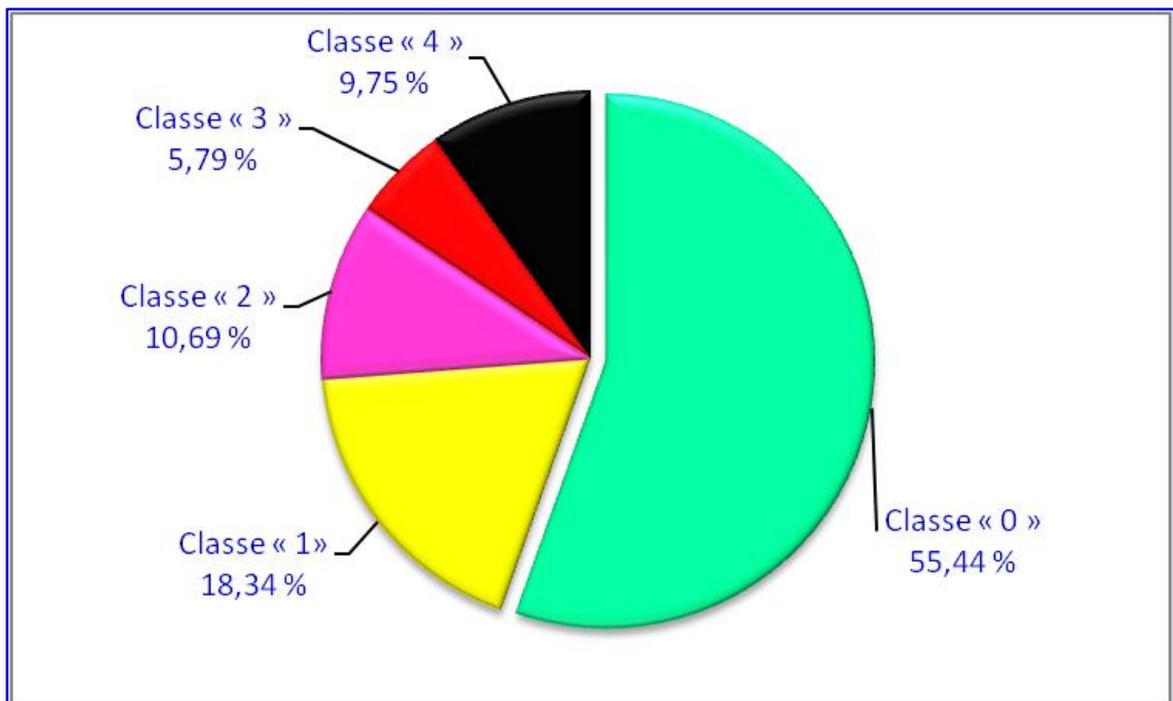


Figure.5.19 : situation générale des douze vergers agrumicoles selon les différentes classes du dépérissement.

Le pourcentage moyen du dépérissement de la classe « 1 » a atteint 17,86% pour les six vergers de « Oued El-Alleug », 10,33% pour les quatre vergers de « Chebli », 3,67% pour le verger des « Eucalyptus » et un taux de 41,5% pour le verger de « Boufarik » (Tableau 5.3, Figures 5.20, 5.21 et 5.22).

Pour le dépérissement de la classe « 2 », nous avons noté un taux moyen de 6,74% pour « Oued El-Alleug », 8,6% pour la région de « Chebli », un faible taux de 4,9% pour les « Eucalyptus » et un taux élevé de 22,5% pour « Boufarik » (Tableau 5.3, Figures 5.20, 5.21 et 5.22).

Concernant les taux obtenus dans le dépérissement de la classe « 3 », ils sont proches de ceux obtenus pour la classe « 2 », exception faite pour le verger de « Boufarik » où nous avons noté seulement 5,5% (Tableau 5.3, Figures 5.20, 5.21 et 5.22).

Pour le taux d'arrachage représenté par la classe « 4 », nous avons noté un taux moyen très élevé pour les vergers de « Chebli » avec 22,64%, suivit par 9,85% pour « Oued El-Alleug », 5,01% pour le verger des « Eucalyptus » et 1,5% pour le verger de « Boufarik » (Tableau 5.3, Figures 5.20, 5.21 et 5.22).

Tableau 5.3 : Taux de dépérissement dans les douze vergers agrumicoles.

Verger	Nbre d'arbres	Classe « 0 » %	Classe « 1 » %	Classe « 2 » %	Classe « 3 » %	Classe « 4 » %
V 01	603	46,99	26,76	9,23	10,17	6,85
V 02	1028	37,45	29,02	13,29	9,73	10,51
V 03	845	30,77	16,92	9,07	9,59	33,65
V 04	829	97,55	1,73	0,12	0,4	0,2
V 05 *	333	68,47	13,51	2,4	7,51	8,11
V 06 *	563	54,09	20,7	8,7	10,84	5,68
MOY %	4 201	57,24 %	17,86 %	6,74 %	8,32 %	9,85 %
V 07	1260	70	10,87	4,21	1,03	13,89
V 08	456	58,33	0,44	6,58	15,79	18,86
V 09	252	23,02	27,38	11,11	8,33	30,16
V 10	304	53,95	2,63	12,5	3,29	27,63
MOY %	2 272	51,33 %	10,33 %	8,6 %	7,11 %	22,64 %
V 11	898	84,19	3,67	4,9	2,23	5,01
V 12	400	29	41,5	22,5	5,5	1,5
TOTAL %	7 771	55,44 %	18,34 %	10,69 %	5,79 %	9,75 %

*. Verger abandonné.

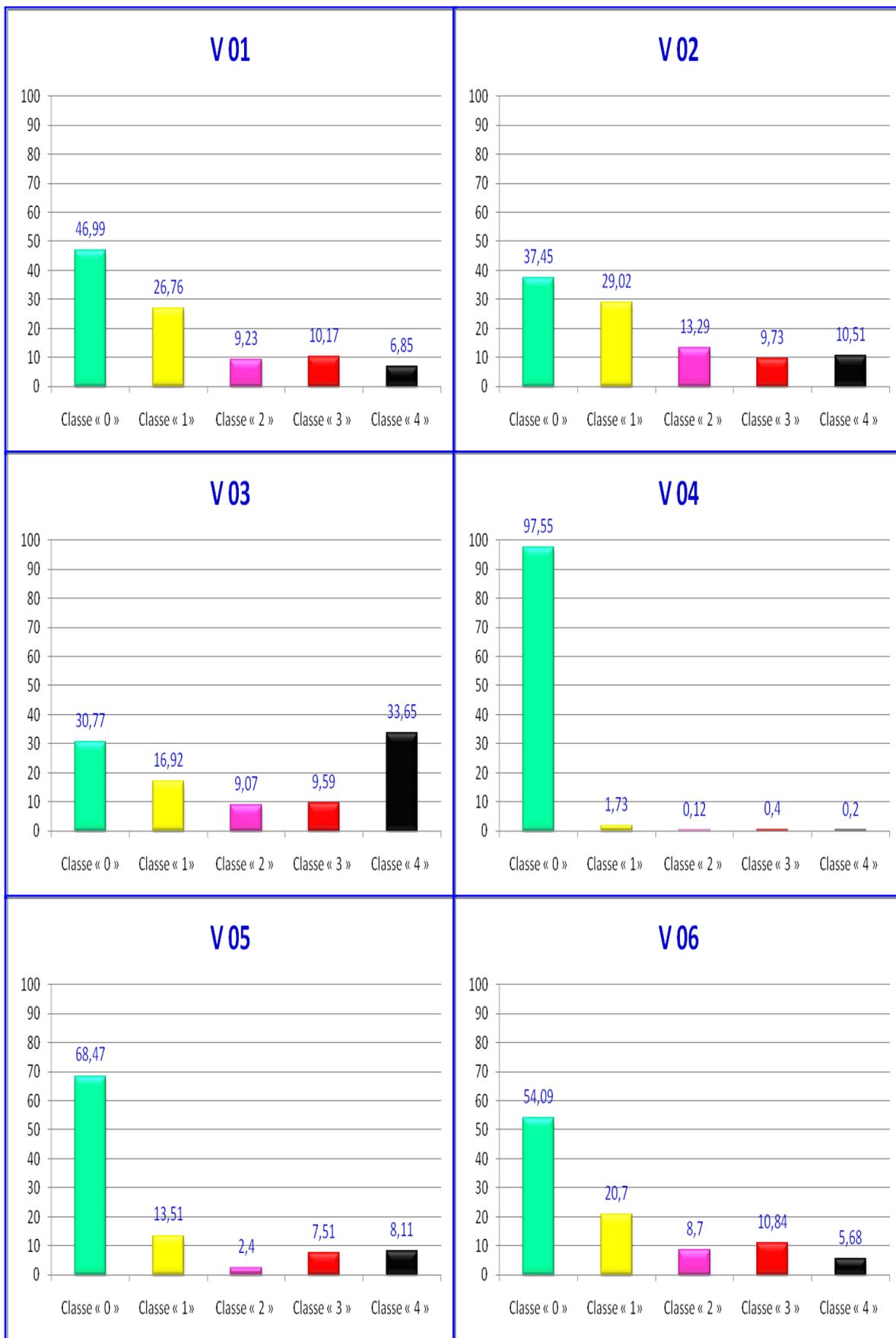


Figure.5.20 : situation détaillée des symptômes du dépérissement dans les six vergers de la commune de « Oued El-Alloug ».

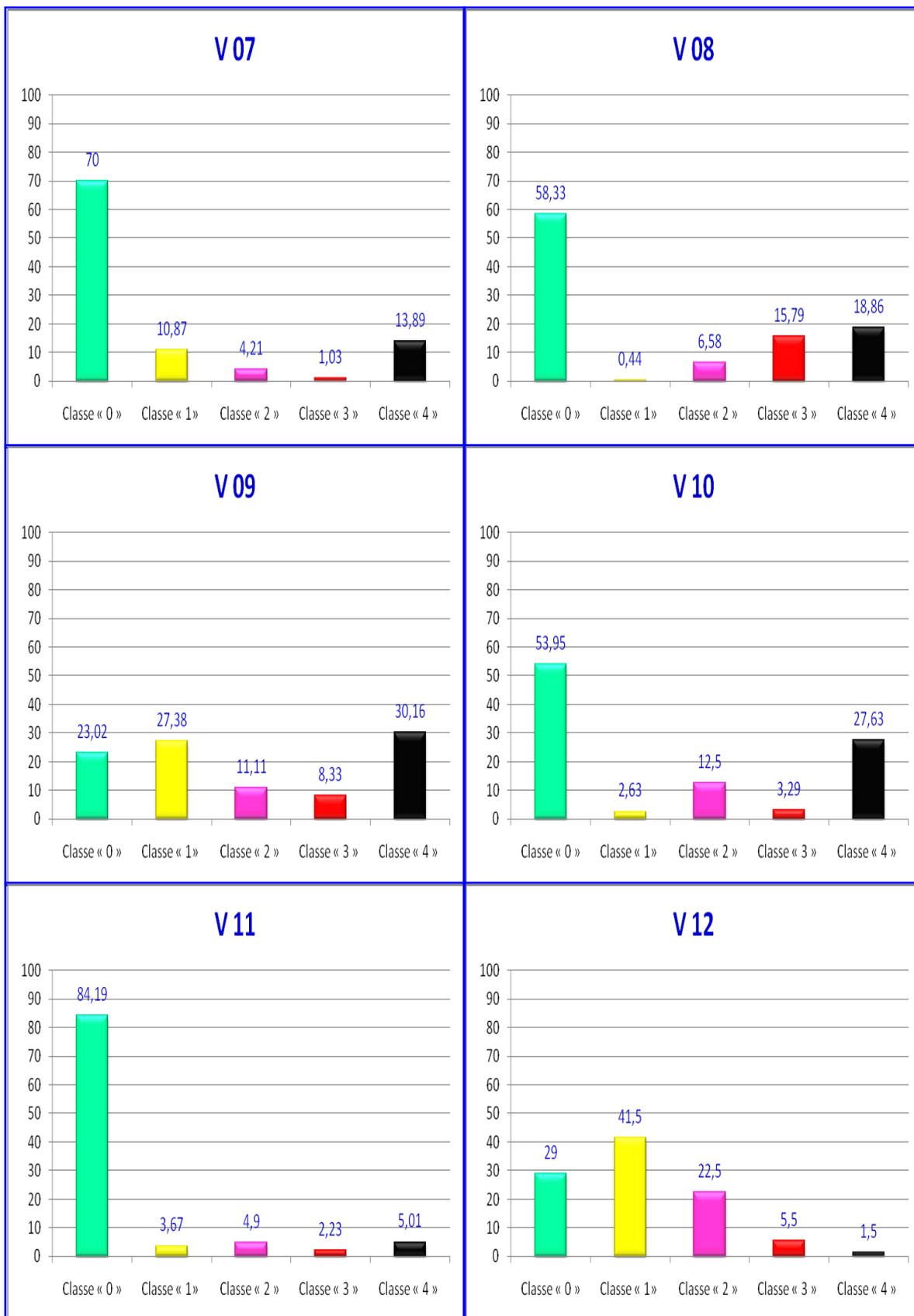
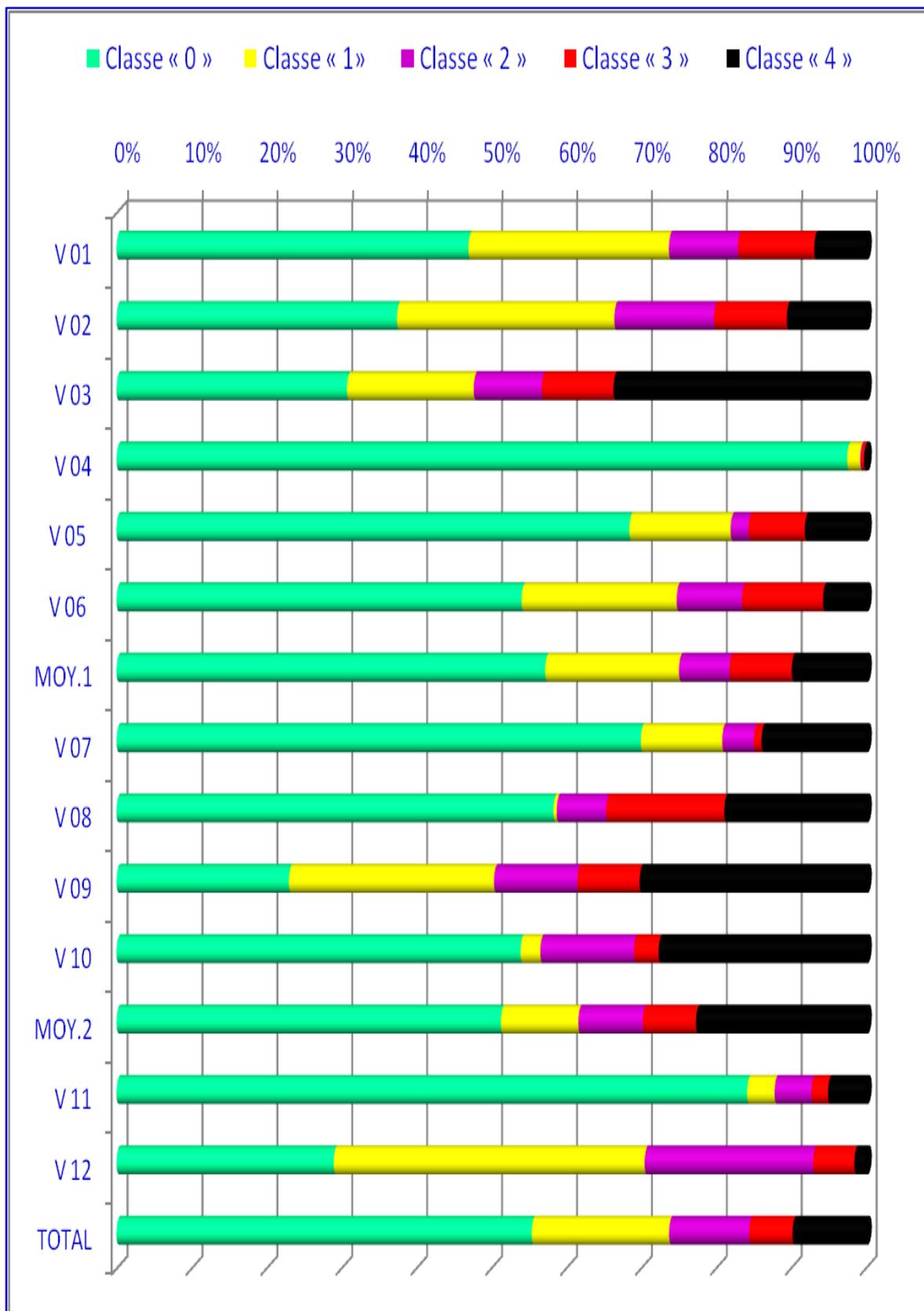


Figure 5.21 : situation détaillée des symptômes du dépérissement dans les quatre vergers de la commune de « Chebli », le verger des « Eucalyptus » et le verger de « Boufarik ».



Moy 1 : moyenne de V01 à V06/ Moy 2 : moyenne de V07 et V10

Figure 5.22 : Illustration globale du taux de dépérissement dans les douze vergers agrumicoles selon les différentes classes symptomatologiques.

5.6. Evolution du dépérissement dans les vergers de la commune de «Oued El-Alleug » entre 2007 et 2009

Le suivi du développement des symptômes du dépérissement au niveau des vergers de la commune de « Oued El-Alleug » pendant les trois années consécutives (2007, 2008 et 2009) a montré que le problème est en évolution continue. Cette progression se diffère d'un verger à un autre selon l'âge de l'arbre, l'état physiologique, le mode de conduite du verger et d'autres paramètres biotiques (Tableaux 5.4 et 5.5, Figures 5.23 et 5.24).

Pour le verger V 01, nous avons noté une évolution considérable pour les différentes classes de dépérissement, le taux d'arrachage a passé de 4,64% en 2007 à plus de 8 % en 2009 (Tableaux 5.4 et 5.5, Figures 5.23 et 5.24).

Concernant le V02, une évolution notable a été enregistré pour la classe « 1 » ; le taux a été évolué de 21,98% en 2007 à environ 30% en 2009 (Tableaux 5.4 et 5.5, Figures 5.23 et 5.24).

Pour ce qui est du verger V 03, nous avons noté une vraie catastrophe concernant le taux des arbres arrachés représenté par la Classe « 4 », ce taux a été évolué de 0,12% en 2007 à plus 48% en 2008 puis à 51,83% en 2009, parce que le propriétaire des vergers a envisagé un arrachage de la moitié de ce verger dans le but de le transformer en verger de pommier (Tableaux 5.4 et 5.5, Figures 5.23 et 5.24).

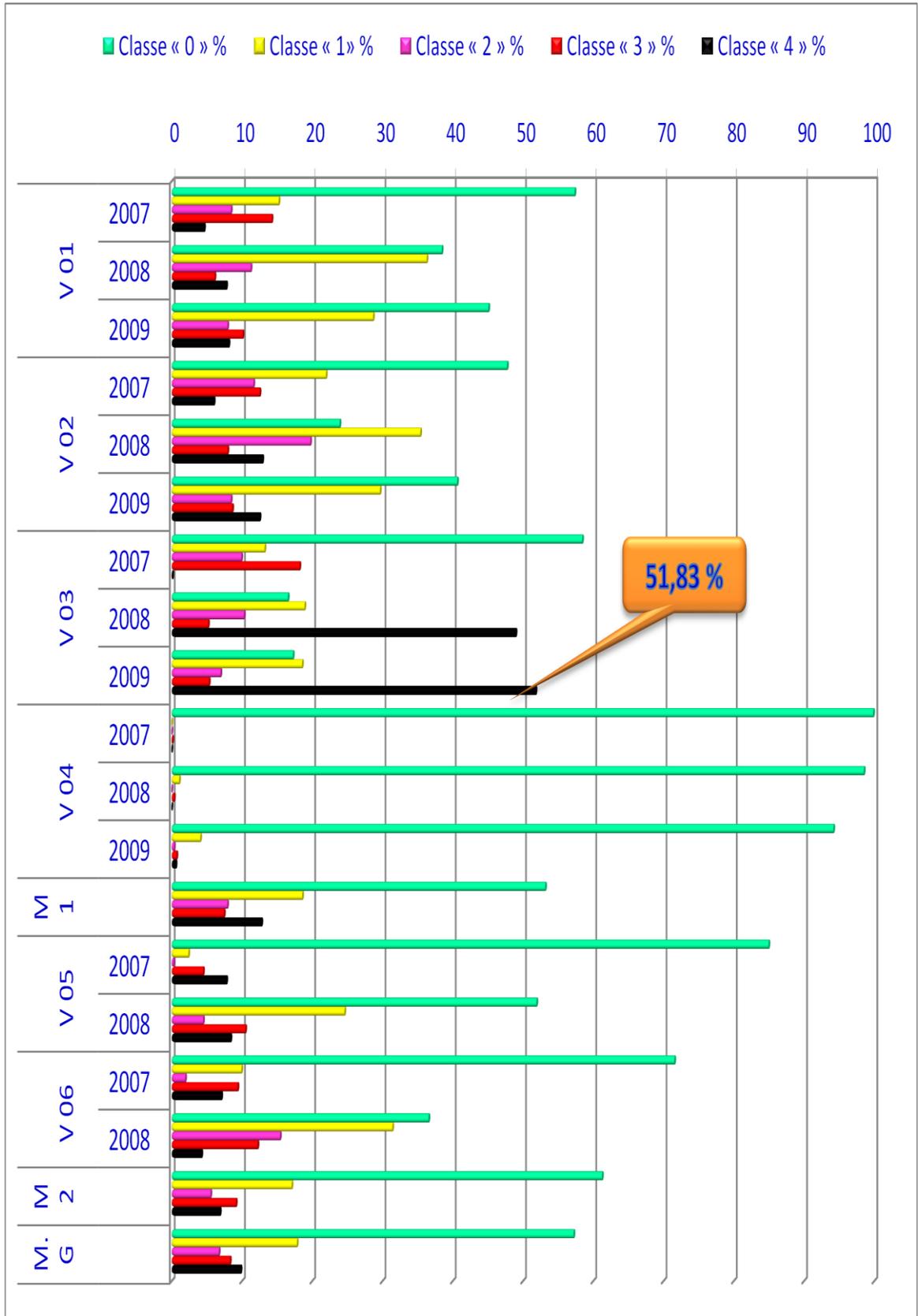
L'évolution du dépérissement dans le verger V 04 est moins important par rapport aux autres vergers, le dépérissement de la classe « 3 » est en progression constante avec un taux de 0,3% par chaque année (Tableaux 5.4 et 5.5, Figures 5.23 et 5.24).

Concernant les deux vergers abandonnés V 05 et V 06, nous avons noté une diminution du pourcentage des arbres sains avec plus de 30%, qui est expliquée par une évolution de plus de 21% pour le dépérissement de la classe « 1 » (Tableaux 5.4 et 5.5, Figures 5.23 et 5.24).

Tableau 5.4 : Comparaison des taux (%) de dépérissement entre 2007 et 2009

verger	Année	Classe « 0 » %	Classe « 1 » %	Classe « 2 » %	Classe « 3 » %	Classe « 4 » %
V 01	2007	57,38	15,25	8,45	14,26	4,64
	2008	38,48	36,31	11,27	6,14	7,79
	2009	45,11	28,69	7,96	10,12	8,13
V 02	2007	47,76	21,98	11,67	12,55	6,03
	2008	23,93	35,41	19,75	7,98	12,94
	2009	40,66	29,67	8,46	8,66	12,55
V 03	2007	58,46	13,25	9,94	18,22	0,12
	2008	16,57	18,93	10,3	5,21	48,99
	2009	17,28	18,58	6,98	5,33	51,83
V 04	2007	99,88	0	0	0,12	0
	2008	98,55	1,08	0	0,36	0
	2009	94,21	4,1	0,36	0,72	0,6
MOYENNE %		53,19 %	18,61 %	7,93 %	7,47 %	12,80 %
V 05 *	2007	84,98	2,4	0,3	4,5	7,8
	2008	51,95	24,62	4,5	10,51	8,4
V 06 *	2007	71,58	9,95	1,95	9,41	7,1
	2008	36,59	31,44	15,45	12,26	4,26
MOYENNE %		61,28 %	17,10 %	5,55 %	9,17 %	6,90 %
MOYENNE GLE %		57,23 %	17,85%	6,74 %	8,32 %	9,85 %

*. Verger abandonné.



Moy 1 : moyenne de V01 à V04/ Moy 2 : moyenne de V05 et V06/ Moy.G : moyenne générale

Figure 5.23 : Illustration globale de l'évolution du déperissement au niveau de la commune de « Oued El-Alloug » pendant trois années.

Tableau 5.5 : Détails de l'évolution du dépérissement pendant trois ans (2007, 2008 et 2009).

verger	Taux d'évolution	Classe « 0 » %	Classe « 1 » %	Classe « 2 » %	Classe « 3 » %	Classe « 4 » %
V 01	A	-18,91	21,06	2,82	-8,12	3,15
	B	6,64	-7,63	-3,32	3,98	0,34
	C	-6,14	6,72	-0,25	-2,07	1,75
V 02	A	-23,83	13,43	8,08	-4,57	6,91
	B	16,73	-5,74	-11,29	0,68	-0,39
	C	-3,55	3,85	-1,61	-1,95	3,26
V 03	A	-41,89	5,68	0,36	-13,01	48,87
	B	0,71	-0,35	-3,32	0,12	2,84
	C	-20,59	2,67	-1,48	-6,45	25,86
V 04	A	-1,33	1,09	0	0,24	0
	B	-4,34	3,01	0,36	0,36	0,6
	C	-2,84	2,05	0,18	0,3	0,3
MOYENNE %		-8,28 %	3,82 %	-0,79 %	-2,54 %	7,79 %
V 05 *	C	-33,03	22,22	4,2	6,01	0,6
V 06 *	C	-34,99	21,49	13,5	2,85	-2,84
MOYENNE %		-34,01 %	21,86 %	8,85 %	4,43 %	-1,12 %
MOYENNE GLE %		-21,14 %	12,84 %	4,03 %	0,95 %	3,34 %

A : Différence du taux de dépérissement entre 2007 et 2008

B : Différence du taux de dépérissement entre 2008 et 2009

C : Taux moyenne de la différence

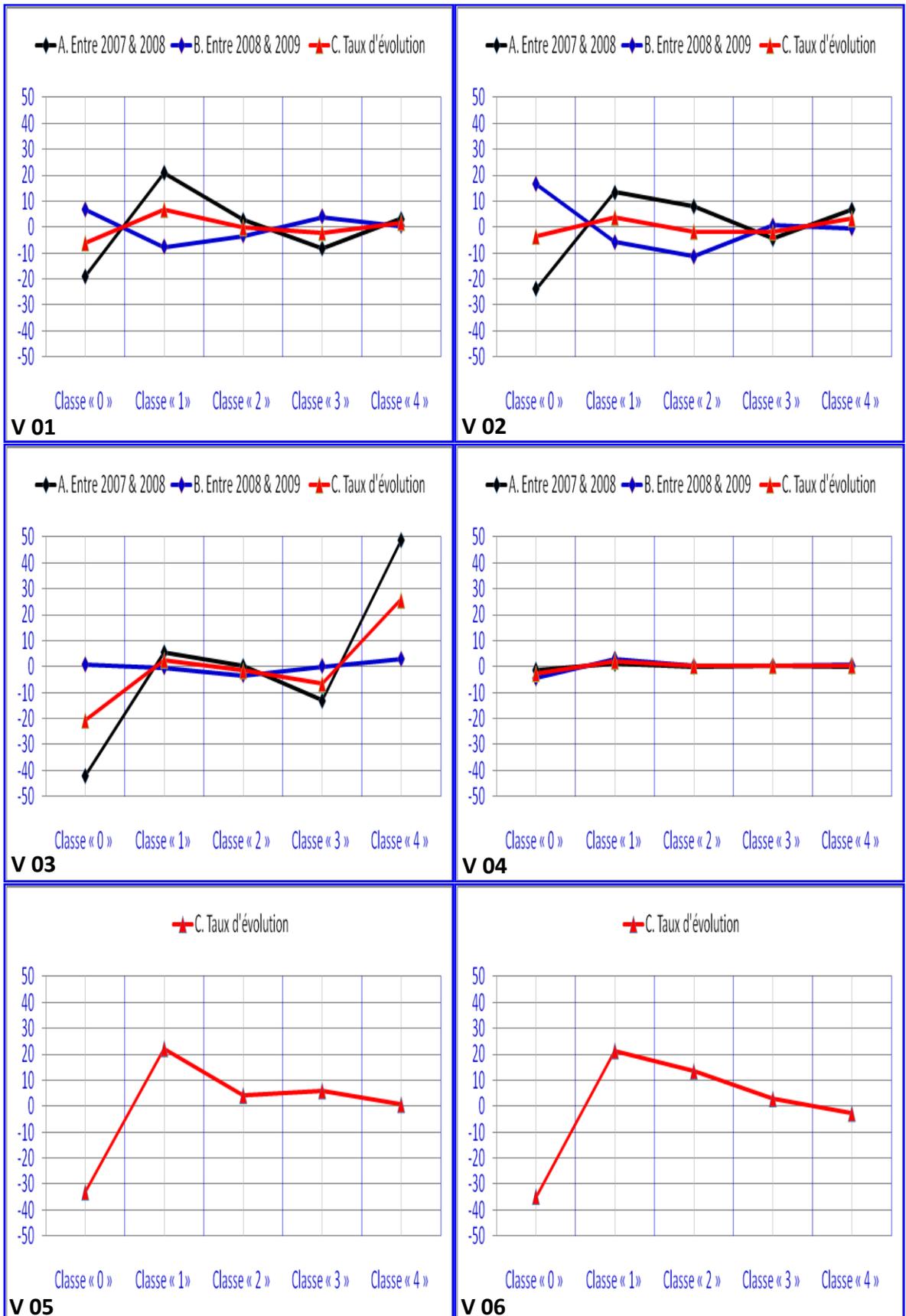


Figure 5.24 : situation détaillée de l'évolution du dépérissement dans les six vergers agrumicoles de la commune de « Oued El-Alloug ».

CHAPITRE 6

RESULTATS ETIOLOGIQUES

6.1. Caractérisation et identification des agents fongiques

6.1.1. Recensement quantitatif et qualitatif et fréquences des isolements fongiques

En effet, notre étude a été initiée en 2007 avec un large isolement pour pouvoir par la suite connaître la source de ces affections biotiques, au début nous avons fait des isolements à partir de différents organes de l'arbre (rameaux, tronc, racines) et à partir du sol, les résultats obtenus dans cette première étape ont montré que la majorité de la flore fongique isolée est d'origine souterraine (Tableaux 6.1 et 6.2, Figures 6.1 et 6.2).

En se basant sur les résultats obtenus durant la première année, nous avons concentré notre travail pour 2008 et 2009 sur la partie souterraine, en faisant des isolements à partir du sol et de racines des arbres dépéris et sains (Tableaux 6.3, 6.4, 6.5 et 6.6, Figures 6.3, 6.4, 6.5 et 6.6).

Les principaux genres fongiques isolés durant les trois années sont les suivants : *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytophthora*, *Geotrichum*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Rhizoctonia*.

La comparaison des fréquences des isolements fongiques selon les différentes classes du dépérissement et pendant les trois ans, ont mis en évidence une différence quantitative et qualitative très apparente entre les champignons identifiés dans la classe « 3 » (un maximum de 28,91% en 2009), la classe « 2 » (un maximum de 18,66% en 2008) et la classe « 1 » (un maximum de 15,64% en 2009), les faibles taux d'identifications ont été enregistrés dans le cas de la classe « 0 » (Tableau 6.7, Figure 6.7).

Globalement, nous avons noté dans la totalité de nos isolements, la forte dominance des isolats du genre *Fusarium* (Tableau 6.7, Figure 6.7).

Tableau 6.1: Recensement quantitatif-qualitatif et Fréquence des isollements fongiques à partir du bois en 2007 selon les différentes classes du dépérissement.

Classes Genres	Classe « 0 »			Classe « 1 »			Classe « 2 »			Classe « 3 »			TOTAL %
	Racines	Tronc	Rameaux	Racines	Tronc	Rameaux	Racines	Tronc	Rameaux	Racines	Tronc	Rameaux	
<i>Fusarium</i>	6*	0	0	11	0	0	17	7	0	30	8	0	34,35%
	2,61** %			4,78%			10,43%			16,52%			
<i>Geotrichum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	4,78%
	0%			0%			0%			4,78%			
<i>Cladosporium</i>	0	0	0	0	0	1	0	6	0	0	3	1	4,78%
	0%			0,43%			2,61%			1,74%			
<i>Verticillium</i>	0	0	0	1	2	0	4	4	0	7	3	0	9,13%
	0%			1,30%			3,48%			4,35%			
<i>Alternaria</i>	0	0	0	7	1	0	6	0	1	2	0	0	7,39%
	0%			3,48%			3,04%			0,87%			
<i>Phytophthora</i>	0	0	0	0	0	0	8	0	0	6	0	0	6,09%
	0%			0%			3,48%			2,61%			
<i>Colletotrichum</i>	0	0	0	2	1	0	5	3	0	10	2	0	10 %
	0%			1,30%			3,48%			5,22%			
<i>Rhizoctonia</i>	2	0	0	0	0	0	5	0	0	7	3	0	7,39%
	0,87%			0%			2,17%			4,35%			
<i>Botrytis</i>	0	0	0	0	0	0	4	4	0	5	1	0	6,09%
	0%			0%			3,48%			2,61%			
<i>Non identifiés</i>	1	0	0	7	0	0	5	0	0	10	0	0	10 %
	0,43%			3,04%			2,17%			4,35%			
TOTAL %	9			33			79			109			230***
	3,91%			14,35%			34,35%			47,39%			100 %

*. Nombre d'isolats

** . Fréquence d'isolement

***. Nombre total d'isolats

Tableau 6.2 : Recensement quantitatif-qualitatif, et Fréquence d'isolements des champignons d'origine tellurique en 2007 selon les différentes classes du déperissement.

Classes Genres	Classe « 0 »		Classe « 1 »		Classe « 2 »		Classe « 3 »		TOTAL %
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	
<i>Fusarium</i>	7*	6,73**	5	4,81	7	6,73	14	13,46	31,73
<i>Phytophthora</i>	0	0	1	0,96	3	2,88	2	1,92	5,77
<i>Verticillium</i>	0	0	0	0	0	0	2	1,92	1,92
<i>Geotrichum</i>	1	0,96	1	0,96	0	0	2	1,92	3,85
<i>Cladosporium</i>	4	3,85	3	2,88	6	5,77	6	5,77	18,27
<i>Alternaria</i>	1	0,96	1	0,96	0	0	4	3,85	5,77
<i>Botrytis</i>	1	0,96	3	2,88	0	0	1	0,96	4,81
<i>Helminthosporium</i>	0	0	0	0	0	0	4	3,85	3,85
<i>Graphium</i>	4	3,85	3	2,88	2	1,92	1	0,96	9,62
<i>Ulocladium</i>	0	0	0	0	0	0	1	0,96	0,96
<i>Paleomyces</i>	1	0,96	1	0,96	1	0,96	0	0	2,88
<i>Gliocladium</i>	0	0	0	0	0	0	1	0,96	0,96
<i>Non identifiés</i>	1	0,96	3	2,88	0	0	6	5,77	9,62
TOTAL %	20	19,23 %	21	20,19 %	19	18,27 %	44	42,31 %	104***

*. Nombre d'isolats

** . Fréquence d'isolement

*** . Nombre total d'isolats

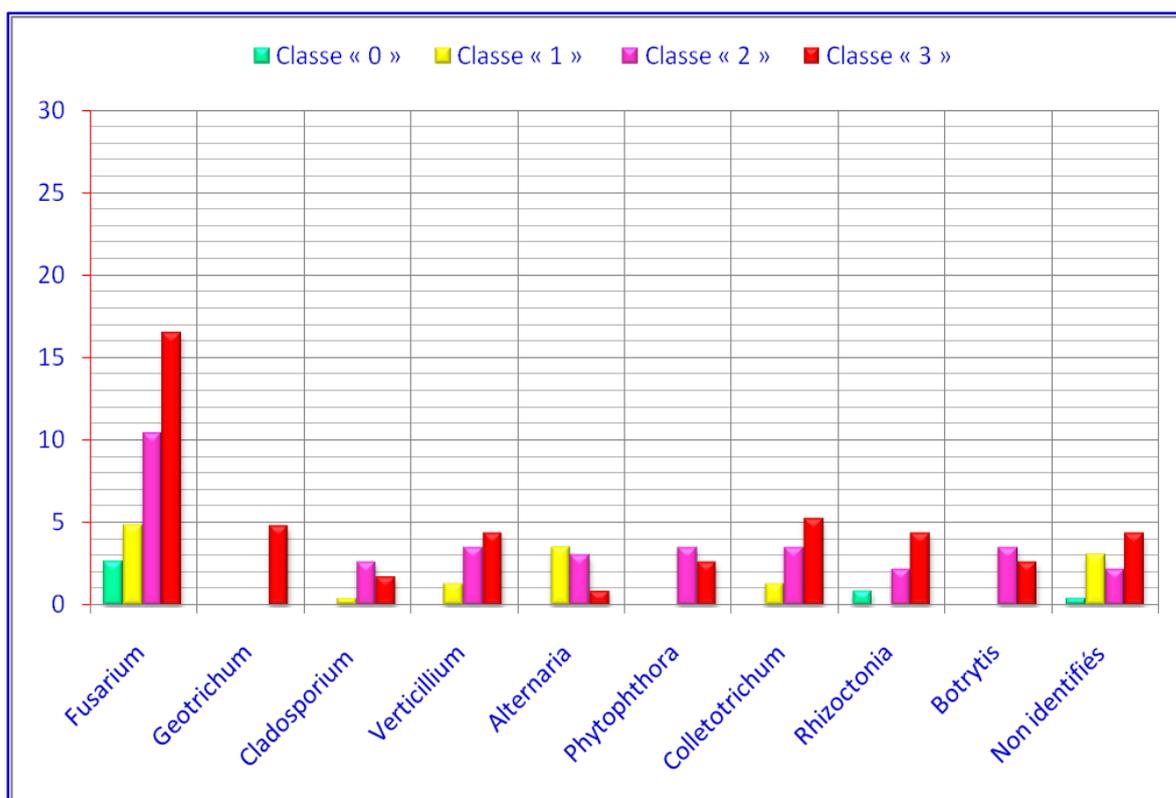


Figure 6.1 : Fréquence des isoléments fongiques à partir du bois en 2007

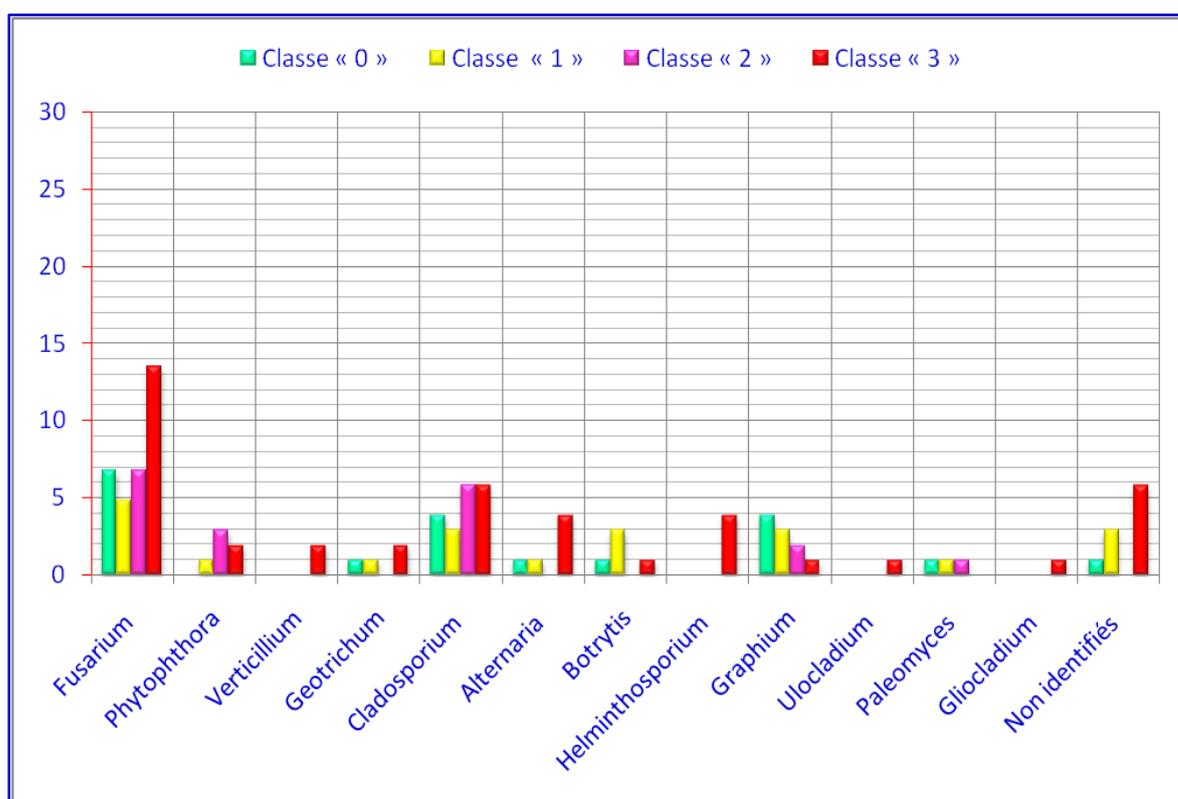


Figure 6.2 : Fréquence d'isoléments des champignons d'origine tellurique en 2007

Tableau 6.3 : Recensement quantitatif-qualitatif et Fréquence des isollements fongiques à partir de racines et du sol en 2008 selon les différentes classes du dépérissement.

Classes Genres	Classe « 0 »			Classe « 1 »			Classe « 2 »			Classe « 3 »			TOTAL %
	Racines	Sol de Rhizosphère	Sol de Rhizoplan	Racines	Sol de Rhizosphère	Sol de Rhizoplan	Racines	Sol de Rhizosphère	Sol de Rhizoplan	Racines	Sol de Rhizosphère	Sol de Rhizoplan	
<i>Fusarium</i>	9*	8	13	12	14	12	11	27	15	8	24	25	62,67
	10,56** %			13,38 %			18,66 %			20,07 %			
<i>Geotrichum</i>	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,06
	1,06 %			0 %			0 %			0 %			
<i>Cladosporium</i>	0	3	2	0	13	4	0	9	11	2	7	15	23,23
	1,76 %			5,98 %			7,04 %			8,45 %			
<i>Alternaria</i>	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2	1	1,76
	0 %			0,35 %			0,35 %			1,06 %			
<i>Phytophthora</i>	0	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	1,76
	0 %			0 %			1,76 %			0 %			
<i>Nigrospora</i>	1	0	0	0	0	1	0	1	3	0	5	3	4,93
	0,35 %			0,35 %			1,41 %			2,81 %			
<i>Basipetospora</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	1,41
	0 %			0 %			1,41 %			0 %			
<i>Rhizoctonia</i>	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	1,41
	0,35 %			0,35 %			0 %			0,7 %			
<i>Botrytis</i>	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1,06
	0,35 %			0,35 %			0,35 %			0 %			
<i>Non identifiés</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0,71
	0 %			0 %			0,7 %			0 %			
TOTAL %	41			59			90			94			284***
	14,44 %			20,77 %			31,69 %			33,1 %			100 %

*. Nombre d'isolats

** . Fréquence d'isolement

*** . Nombre total d'isolats

Tableau 6.4 : Fréquence d'isolement de chaque espèce de *Fusarium*, par région et par classe de dépérissement par rapport au pourcentage globale en 2008.

Espèces	Fréquence d'isolement par région		Fréquence d'isolement par classe		TOTAL* %
	Région	Fréquence	Classe	Fréquence	
<i>Fusarium oxysporum</i>	Oued El- Alleug	3,94 %	Classe « 0 »	1,68 %	25,36 %
			Classe « 1 »	0,57 %	
			Classe « 2 »	1,12 %	
			Classe « 3 »	0,57 %	
	Chebli	0 %	Classe « 0 »	0 %	
			Classe « 1 »	0 %	
			Classe « 2 »	0 %	
			Classe « 3 »	0 %	
	Boufarik	21,41 %	Classe « 0 »	3,94 %	
			Classe « 1 »	6,75 %	
			Classe « 2 »	7,90 %	
			Classe « 3 »	2,82 %	
<i>Fusarium solani</i>	Oued El- Alleug	14,04 %	Classe « 0 »	1,68 %	20,78 %
			Classe « 1 »	3,93 %	
			Classe « 2 »	5,63 %	
			Classe « 3 »	2,81 %	
	Chebli	6,73 %	Classe « 0 »	0,56 %	
			Classe « 1 »	3,37 %	
			Classe « 2 »	2,81 %	
			Classe « 3 »	0 %	
	Boufarik	0 %	Classe « 0 »	0 %	
			Classe « 1 »	0 %	
			Classe « 2 »	0 %	
			Classe « 3 »	0 %	
<i>Fusarium sp</i>	Oued El- Alleug	27,51 %	Classe « 0 »	5,06 %	53,87 %
			Classe « 1 »	8,98 %	
			Classe « 2 »	8,98 %	
			Classe « 3 »	4,48 %	
	Chebli	17,97 %	Classe « 0 »	1,12 %	
			Classe « 1 »	1,12 %	
			Classe « 2 »	7,31 %	
			Classe « 3 »	8,43 %	
	Boufarik	8,39 %	Classe « 0 »	1,68 %	
			Classe « 1 »	1,12 %	
			Classe « 2 »	1,68 %	
			Classe « 3 »	3,93 %	
TOTAL* %		100 %		100 %	100 %

*. La valeur 100% correspond à 62,67% (le % de *Fusarium spp* en 2008).

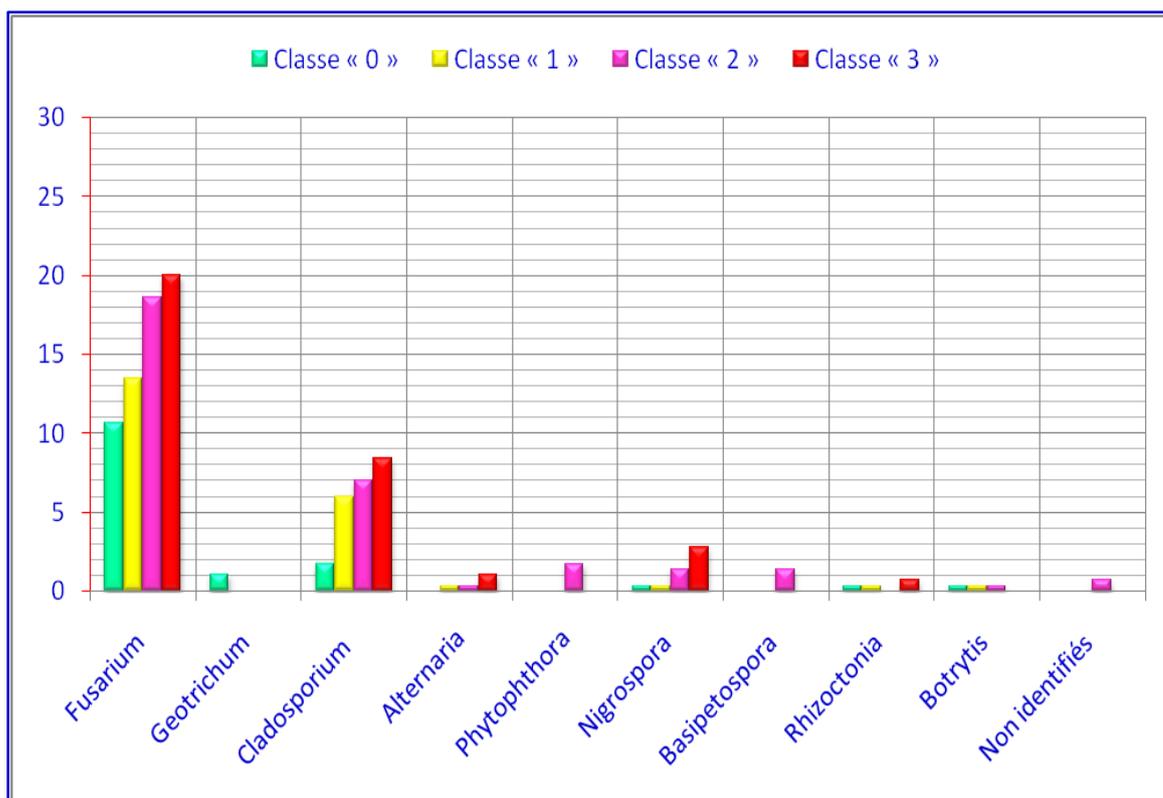


Figure 6.3 : Fréquence des isollements fongiques à partir de racines et du sol en 2008

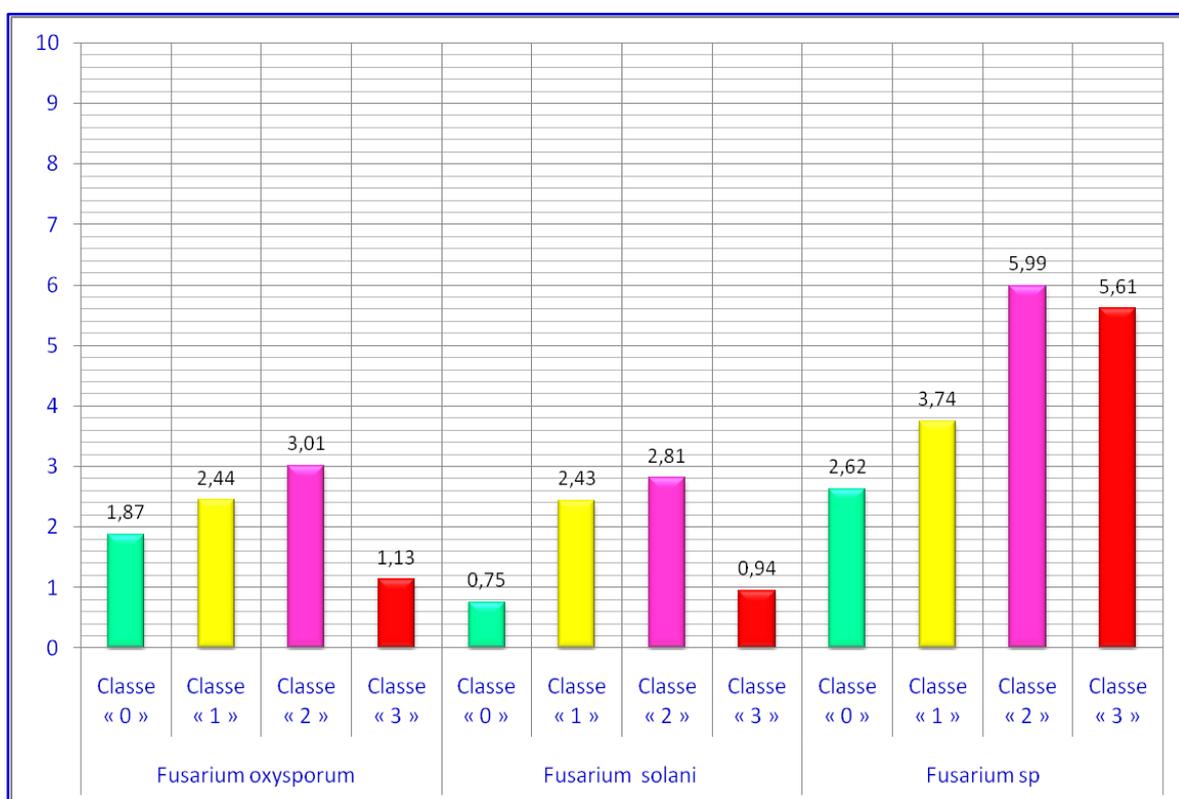


Figure 6.4 : Fréquence d'isollements des espèces de *Fusarium* à partir de racines et du sol en 2008.

Tableau 6.5 : Recensement quantitatif-qualitatif et Fréquence des isollements fongiques à partir de racines et du sol en 2009 selon les différentes classes du dépérissement.

Classes Genres	Classe « 0 »		Classe « 1 »		Classe « 2 »		Classe « 3 »		TOTAL %
	Racines	Sol	Racines	Sol	Racines	Sol	Racines	Sol	
<i>Fusarium</i>	18*	7	21	12	23	13	44	17	73,46 %
	11,85** %		15,64 %		17,06 %		28,91 %		
<i>Cladosporium</i>	0	0	2	5	0	2	2	3	6,64 %
	0 %		3,32 %		0,95 %		2,37 %		
<i>Phytophthora</i>	0	0	0	5	3	2	0	2	5,69 %
	0 %		2,37 %		2,37 %		0,95 %		
<i>Verticillium</i>	0	0	0	0	3	0	0	8	5,21 %
	0 %		0 %		1,42 %		3,79 %		
<i>Alternaria</i>	0	0	2	0	2	1	3	0	3,79 %
	0 %		0,96 %		1,42 %		1,42 %		
<i>Rhizoctonia</i>	0	0	0	0	2	0	0	5	3,32 %
	0 %		0 %		1,95 %		2,37 %		
<i>Geotrichum</i>	0	0	0	0	0	2	2	0	1,90 %
	0 %		0 %		0,95 %		0,95 %		
TOTAL %	27 11,85 %		47 22,27 %		53 25,12 %		86 40,76 %		211*** 100 %

*. Nombre d'isolats

** . Fréquence d'isolement

*** . Nombre total d'isolats

Tableau 6.6 : Fréquence d'isolement de chaque espèce de *Fusarium*, dans la région de « Oued El-Alleug », par classe de dépérissement par rapport au pourcentage globale en 2009.

Espèces	Fréquence d'isolement par région	Fréquence d'isolement par classe			TOTAL* %
		Classe	Nb	%	
<i>Fusarium oxysporum</i>	Oued El-Alleug	Classe « 0 »	4	2,58%	5,16 %
		Classe « 1 »	0	0%	
		Classe « 2 »	2	1,29%	
		Classe « 3 »	2	1,29%	
<i>Fusarium solani</i>	Oued El-Alleug	Classe « 0 »	0	0%	23,87 %
		Classe « 1 »	13	8,39%	
		Classe « 2 »	11	7,10%	
		Classe « 3 »	13	8,39%	
<i>Fusarium sp</i>	Oued El-Alleug	Classe « 0 »	21	13,55%	70,97 %
		Classe « 1 »	22	14,19%	
		Classe « 2 »	21	13,55%	
		Classe « 3 »	46	29,68%	
TOTAL* %	100 %		155	100 %	100 %

*. La valeur 100% correspond à 73,46% (le % de *Fusarium* spp en 2009).

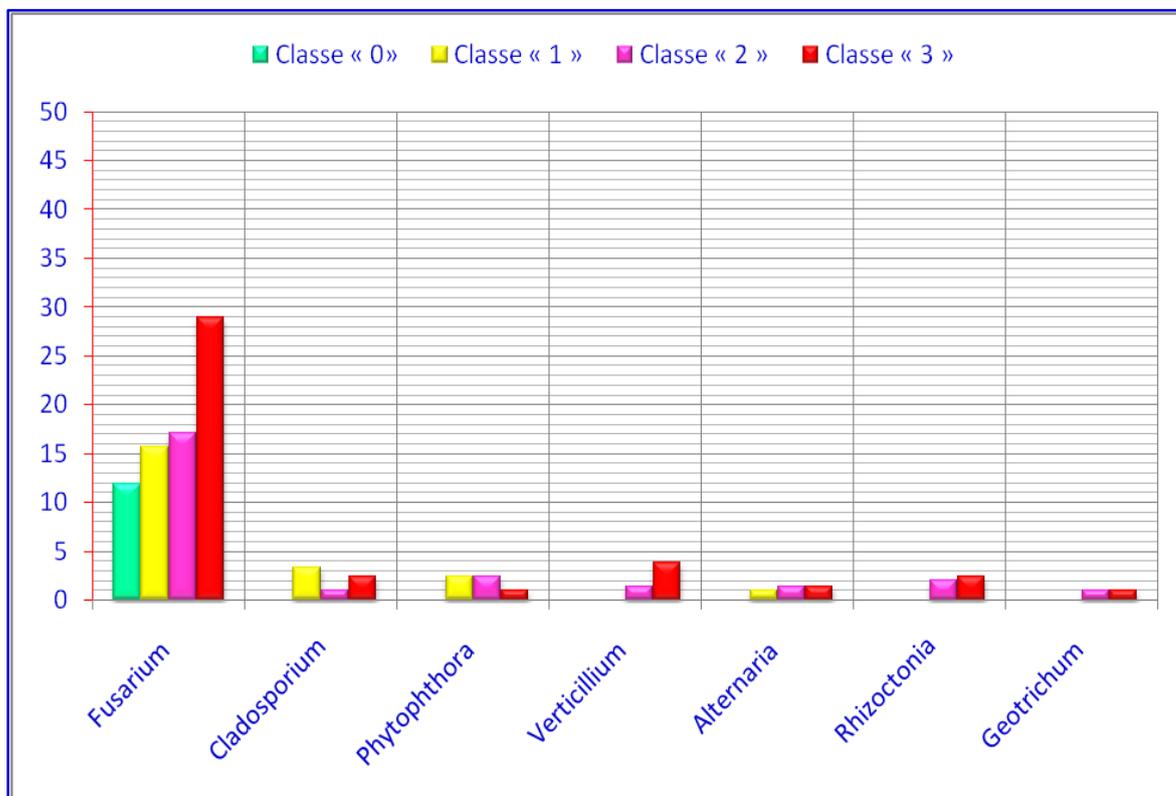


Figure 6.5 : Fréquence des isollements fongiques à partir de racines et du sol en 2009

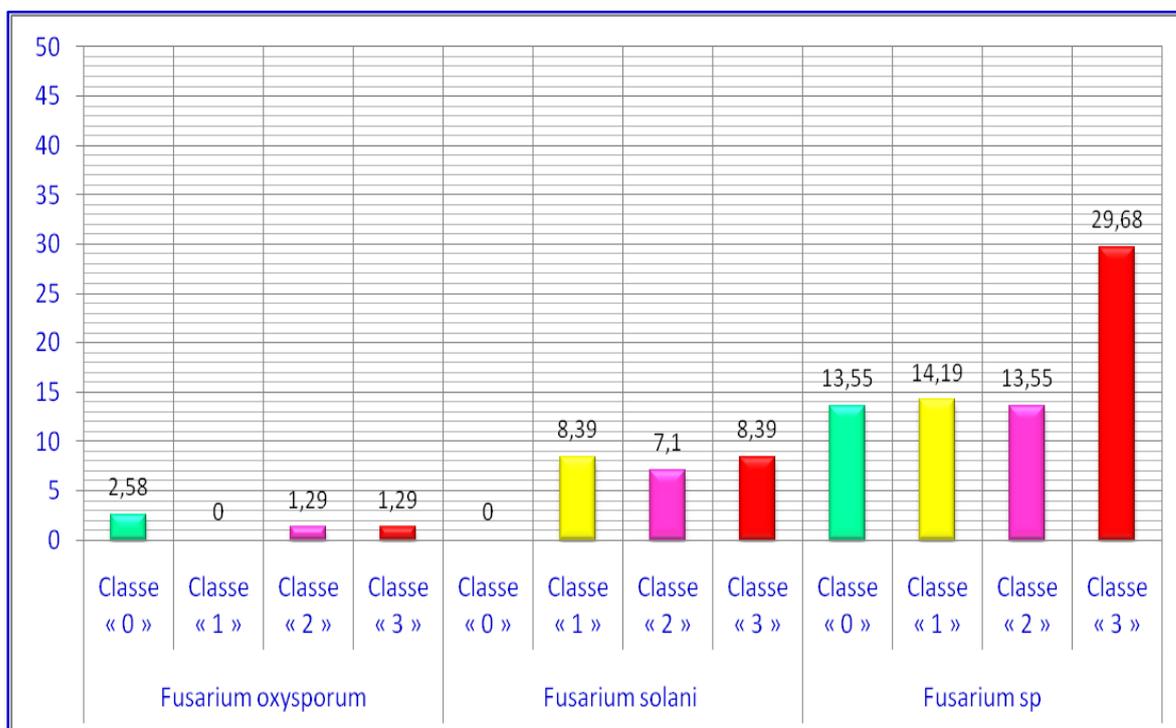


Figure 6.6 : Fréquence d'isollements des espèces de *Fusarium* à partir de racines et du sol en 2009.

Tableau 6.7 : Fréquence d'isolement des principaux genres fongiques isolés durant les trois années, 2007, 2008, et 2009

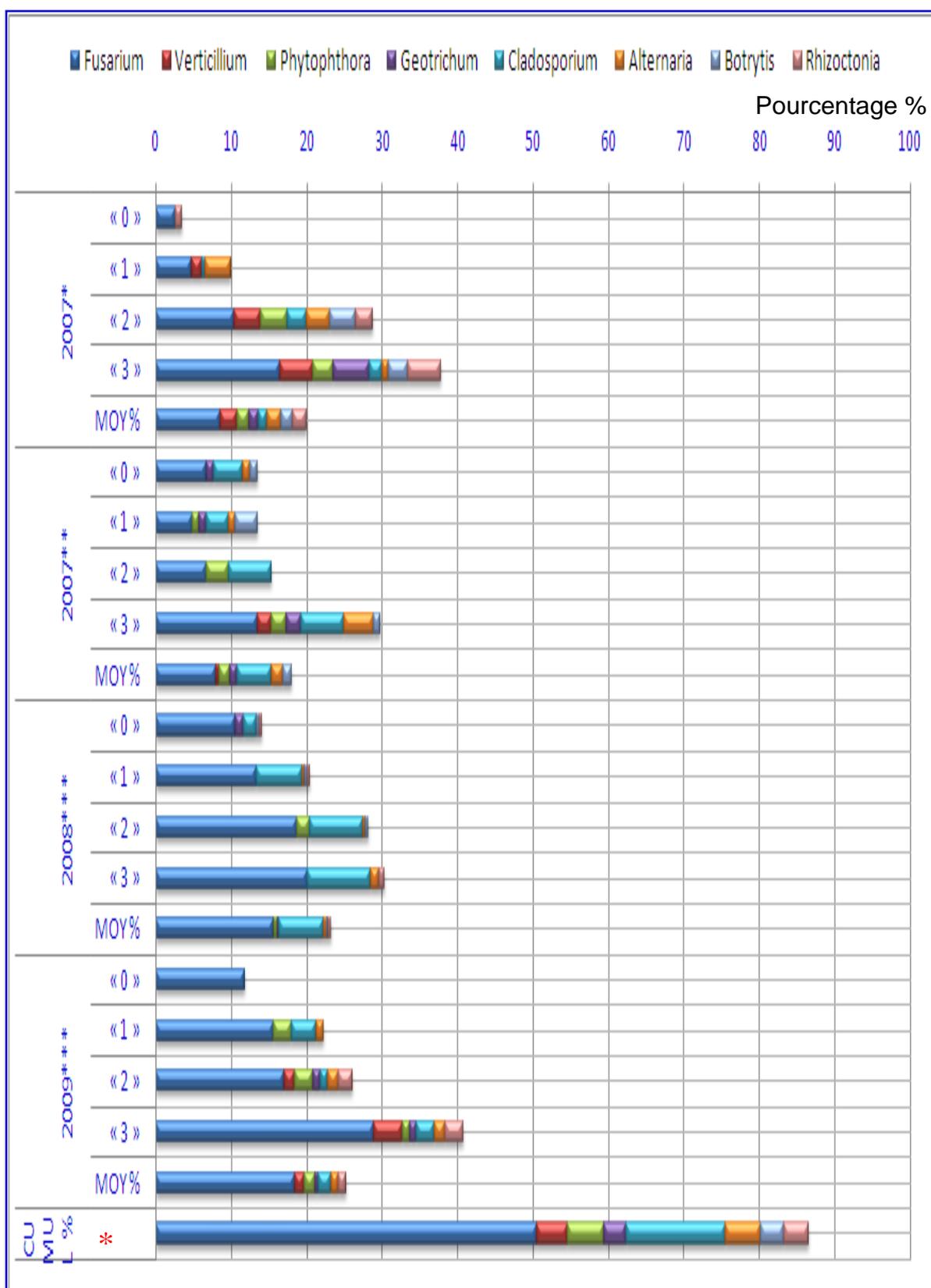
Années	Genres	Fusarium	Verticillium	Phytophthora	Geotrichum	Cladosporium	Alternaria	Botrytis	Rhizoctonia	TOTAL %
	Classes									
2007 [*]	« 0 »	2,61	0	0	0	0	0	0	0,87	20 %
	« 1 »	4,78	1,30	0	0	0,43	3,48	0	0	
	« 2 »	10,43	3,48	3,48	0	2,61	3,04	3,48	2,17	
	« 3 »	16,52	4,35	2,61	4,78	1,74	0,87	2,61	4,35	
	MOY %	8,59	2,28	1,52	1,2	1,2	1,85	1,52	1,85	
2007 ^{**}	« 0 »	6,73	0	0	0,96	3,85	0,96	0,96	0	18,02 %
	« 1 »	4,81	0	0,96	0,96	2,88	0,96	2,88	0	
	« 2 »	6,73	0	2,88	0	5,77	0	0	0	
	« 3 »	13,46	1,92	1,92	1,92	5,77	3,85	0,96	0	
	MOY %	7,93	0,48	1,44	0,96	4,57	1,44	1,20	0	
2008 ^{***}	« 0 »	10,56	0	0	1,06	1,76	0	0,35	0,35	23,23 %
	« 1 »	13,38	0	0	0	5,98	0,35	0,35	0,35	
	« 2 »	18,66	0	1,76	0	7,04	0,35	0,35	0	
	« 3 »	20,07	0	0	0	8,45	1,06	0	0,7	
	MOY %	15,67	0	0,44	0,27	5,81	0,44	0,26	0,35	
2009 ^{***}	« 0 »	11,85	0	0	0	0	0	0	0	25,26 %
	« 1 »	15,64	0	2,37	0	3,32	0,96	0	0	
	« 2 »	17,06	1,42	2,37	0,95	0,95	1,42	0	1,95	
	« 3 »	28,91	3,79	0,95	0,95	2,37	1,42	0	2,37	
	MOY %	18,37	1,30	1,42	0,48	1,66	0,95	0	1,08	
CUMUL %		50,55	4,07	4,83	2,9	13,23	4,68	2,99	3,28	86,51

⊛. Pourcentage cumulé des principaux genres seulement

*. Isolement à partir de racines, tronc, et rameaux.

** . Isolement à partir du sol.

***. Isolement à partir de racines et sol.



*. Pourcentage cumulé de chaque genre fongique

Figure 6.7 : Illustration globale de la fréquence d'isolement des principaux genres fongiques selon les différentes classes symptomatologiques durant les trois années 2007, 2008 et 2009.

6.1. 2. Caractères microscopiques et macroscopiques des principaux champignons isolés

6.1. 2.1. *Fusarium* spp

- ✓ Caractères macroscopiques :
 - Couleur : blanche ; rose ; jaune clair ; violet ; orange ; grisâtre.
 - Aspect : cotonneux ; ras ; aérien.
 - Forme : régulière ; colonie arrondies régulière.
 - NB : la couleur blanchâtre se transforme avec le temps en d'autres couleurs suivants les espèces [130, 131]
- ✓ Caractères microscopiques :
 - Conidies : sont hyalines et variables ; les macros conidies ont pluri cellulaires, légèrement courbées aux extrémités ; les micros conidies sont unicellulaires d'une forme ovoïde ; la morphologie des microconidies, la forme et la position des chlamydozoïdes sont des critères importants de détermination de *Fusarium*.
 - Conidiophores : simples ou ramifiés chaque ramification se termine par une phialide (chez quelque espèces plusieurs phialides).
 - Mycélium : cloisonné ; ramifié ; hyalin [130, 131].

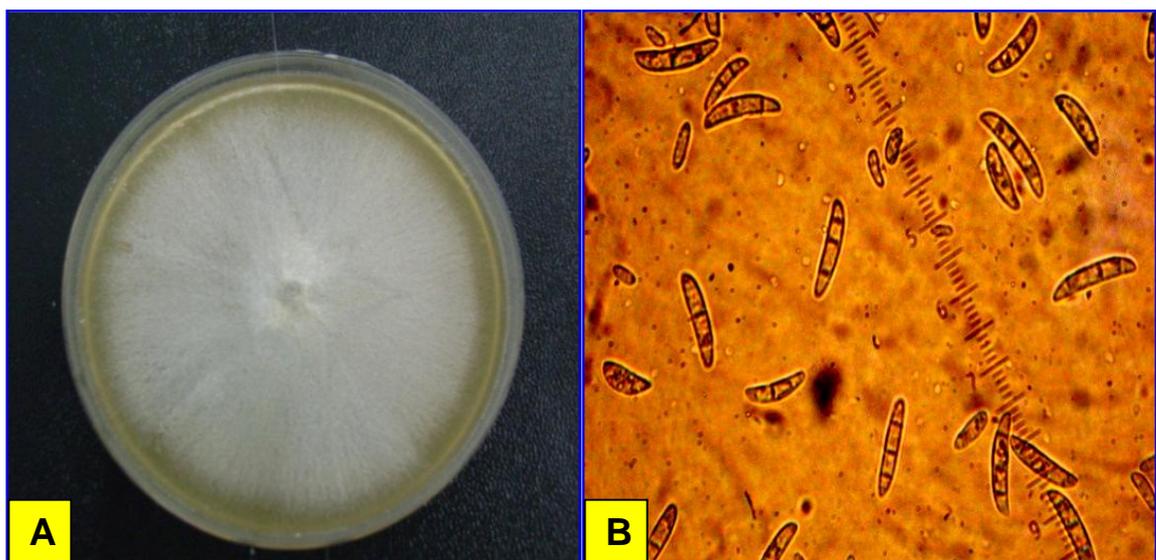


Figure 6.8 : Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de *Fusarium* spp

6.1. 2.2. *Fusarium oxysporum*

- ✓ **Caractères macroscopiques :**
 - Couleur : blanc au centre et violet aux revers, rose, rouge violacé.
 - Aspect : ras, aérien, subaérien, cotonneux.
 - Forme : régulière [131].
- ✓ **Caractères microscopiques:**
 - Mycélium : mycélium septé de 3 à 4 μm de diamètre.
 - Conidiophores : courts et plus ou moins ramifiés
 - Conidies : Le nombre des macroconidies (25 à 55) μm est plus important que les microconidies (5 à 12 μm) [131].

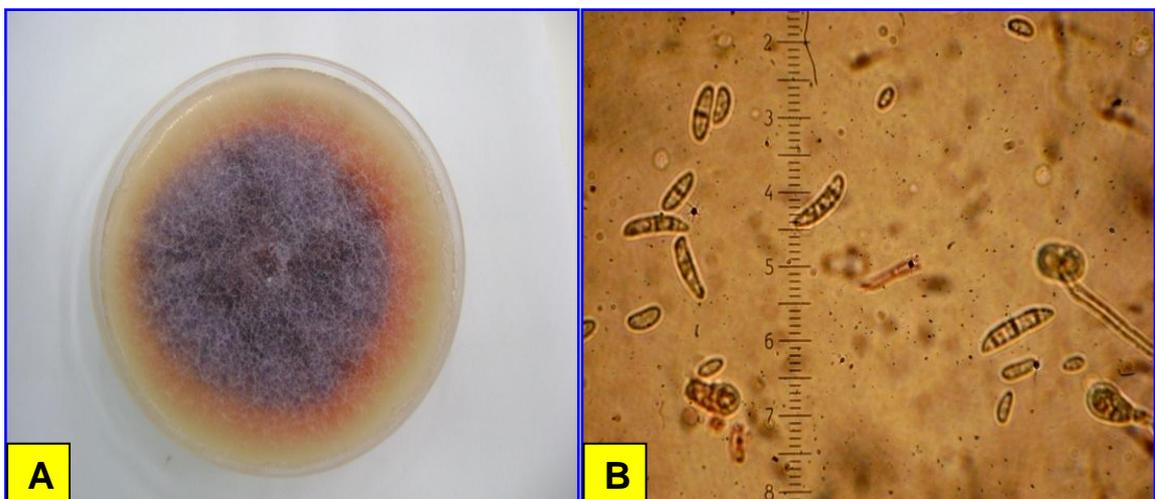


Figure 6.9 : Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de *Fusarium oxysporum*

6.1. 2.3. *Fusarium solani*

- ✓ **Caractères macroscopiques :**
 - Couleur : crème à brunâtre avec des tâches verdâtres, alternance entre le blanc et le noir.
 - Aspect : aérien, sub- aérien et ras
 - Forme : régulière ou irrégulière [131].
- ✓ **Caractères microscopiques:**
 - Mycélium: Mycélium septé, 3 à 4 μm de diamètre.
 - Conidiophores : se terminent parfois par des phialides, peuvent être très longs mais sont généralement peu ramifiés.
 - Conidies : Présence des microconidies (8 à 15 μm) et des macroconidies (25 à 50), arquées présentant 1 à 8 logettes [131].



Figure 6.10 : Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de *Fusarium solani*.

6.1. 2.4. *Phytophthora* sp

✓ **Caractères macroscopiques:**

- Couleur : colonies blanchâtres.
- Aspect : subaérien.
- Forme : régulière [130].

✓ **caractères microscopiques :**

- Mycélium : hyalin ; hyphes très ramifier.
- Conidies : citriforme, arrondies ou allongés, présentant une papille [130].

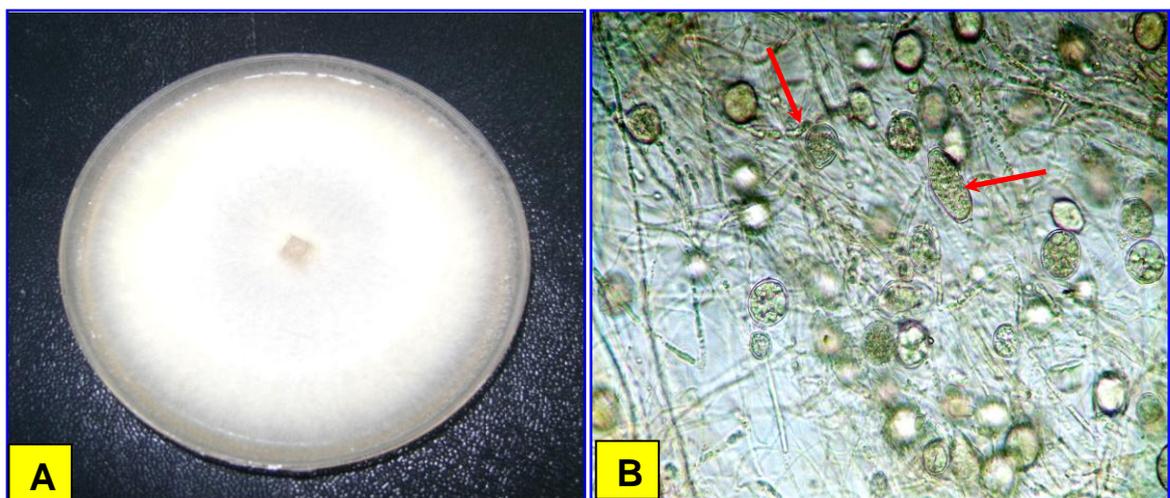


Figure 6.11 : Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de *Phytophthora* sp

6.1. 2.5. *Verticillium* sp

✓ **Caractères macroscopiques :**

- Couleur : blanchâtre.
- Aspect : cotonneux ; subaérien.
- Forme : régulière [130].

✓ **Caractères microscopiques :**

- Mycélium : cloisonné; ramifié; hyalin.
- Conidiophores : verticillés.
- Conidies : ovoïdes ou cylindriques [130].

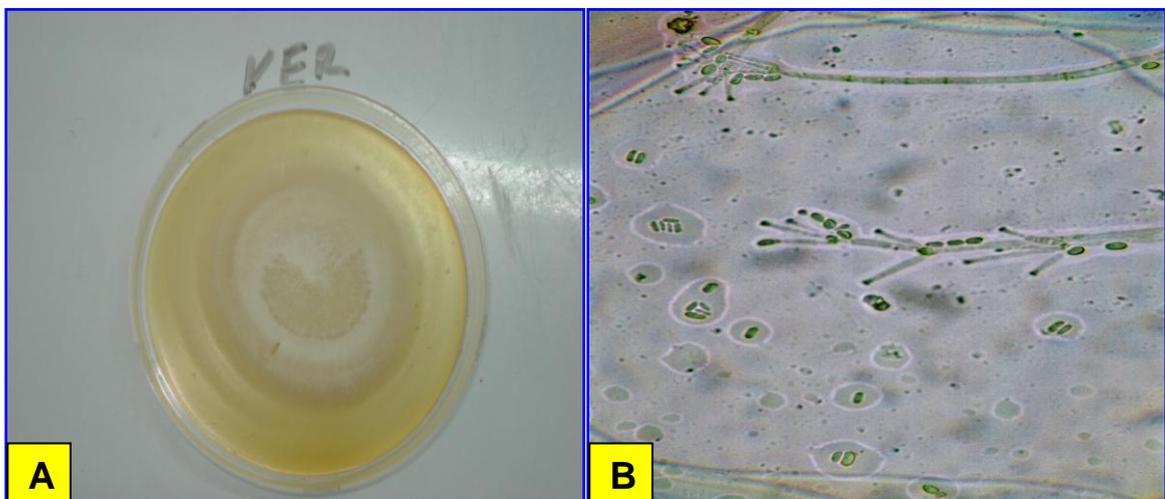


Figure 6.12 : Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de *Verticillium* sp

6.1. 2.6. *Botrytis* sp

✓ **Caractères macroscopiques :**

- Couleur : vert grisâtre,
- Aspect : aérien,
- Forme : irrégulier couvrant la surface de la boîte [130].

✓ **Caractères microscopiques :**

- Conidies : les cellules apicales sont arrondies et large portant des grappes de conidies (blastoconidie) globuleuses sur des stigmates,
- Conidiophores : sont dressés ou flexueux, lisses, marron, ramifiés,
- Mycélium : grimpant, ramifié, cloisonné, coloré [130].

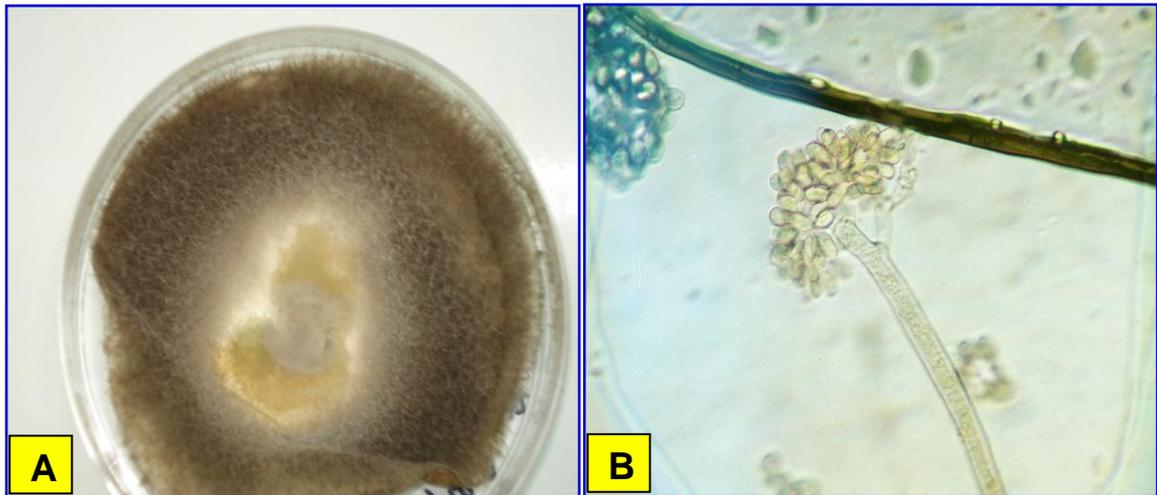


Figure 6.13: Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de *Botrytis* sp

6.1. 2.7. *Rhizoctonia* sp

✓ Caractéristiques macroscopiques :

- La couleur : marron jaunâtre,
- L'aspect : cotonneux aérien,
- La forme : régulière [130].

✓ Caractères microscopiques :

- Mycélium : stérile, pas de conidie, cloisonné ; coloré, ramifié, marron ou noir, avec des formes variables ; petit ; cellules allongées [130].

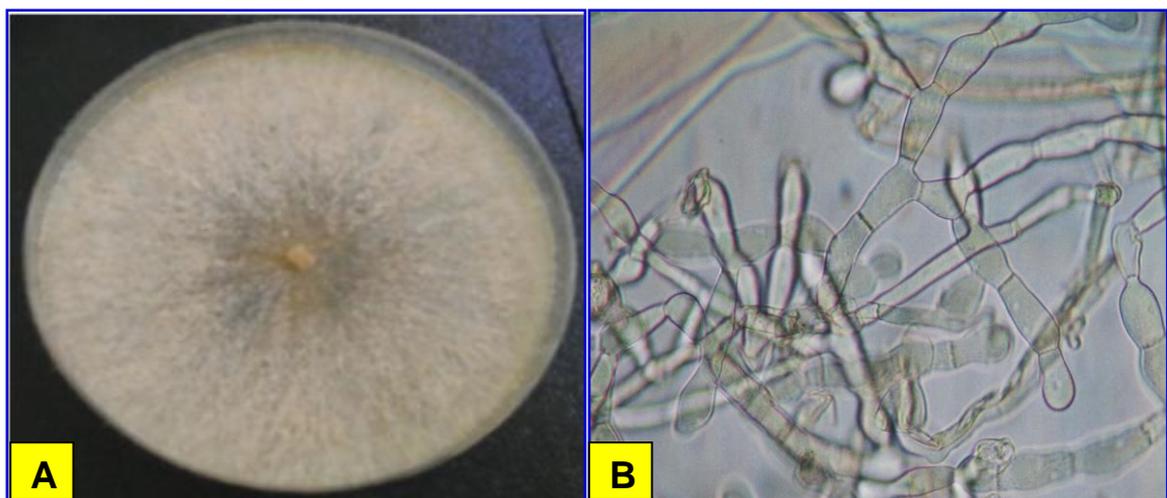


Figure 6.14 : Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de *Rhizoctonia* sp

6.1. 2.8. *Geotrichum sp*

- ✓ **Caractéristiques macroscopiques :**
 - La couleur : blanchâtre,
 - L'aspect : poudreux crémeux, ras à subaérien,
 - La forme : arrondie, régulières [130].
- ✓ **Caractères microscopiques :**
 - Conidies : hyalines unicellulaires cylindrique,
 - Conidiophores : sont absents
 - Mycélium : hyalin, cloisonné [130].

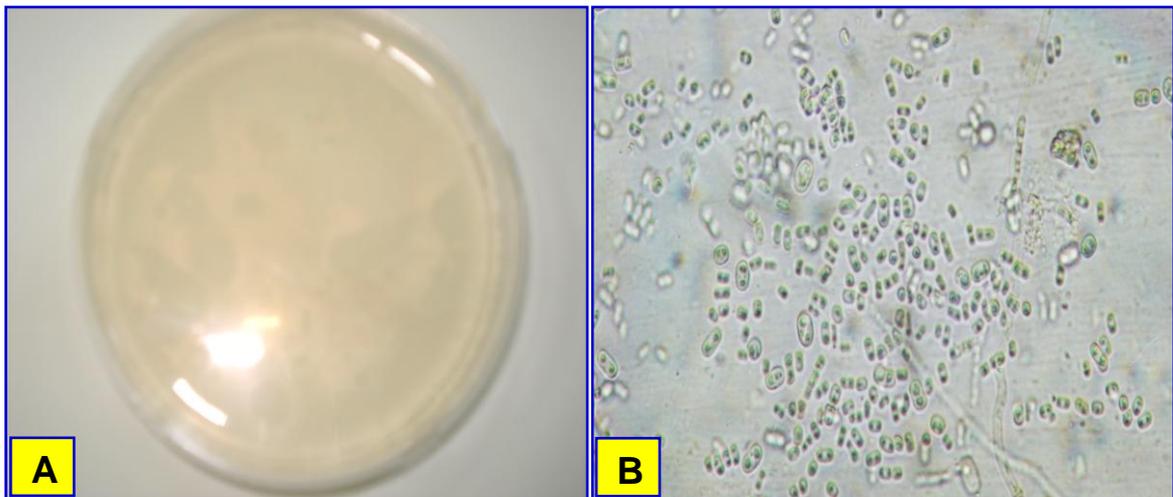


Figure 6.15 : Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de *Geotrichum sp*

6.1. 2.9. *Cladosporium sp*

- ✓ **Caractéristiques macroscopiques :**
 - La couleur : vert olivâtre,
 - L'aspect : poudreux mamelonné,
 - La forme : irrégulière [130].
- ✓ **Caractères microscopiques :**
 - Conidies : (blastoconidie) solitaires ou en chaînes, ramifié ; uni ou pluricellulaires, elles sont sombres d'une forme et taille variantes ; ovoïdes à cylindriques et irrégulières.
 - Conidiophores : ne présentent pas de ramification, ils sont longs, sombres droits ; groupés ou solitaires.
 - Mycélium : grimpant, cloisonné, moins coloré [130].

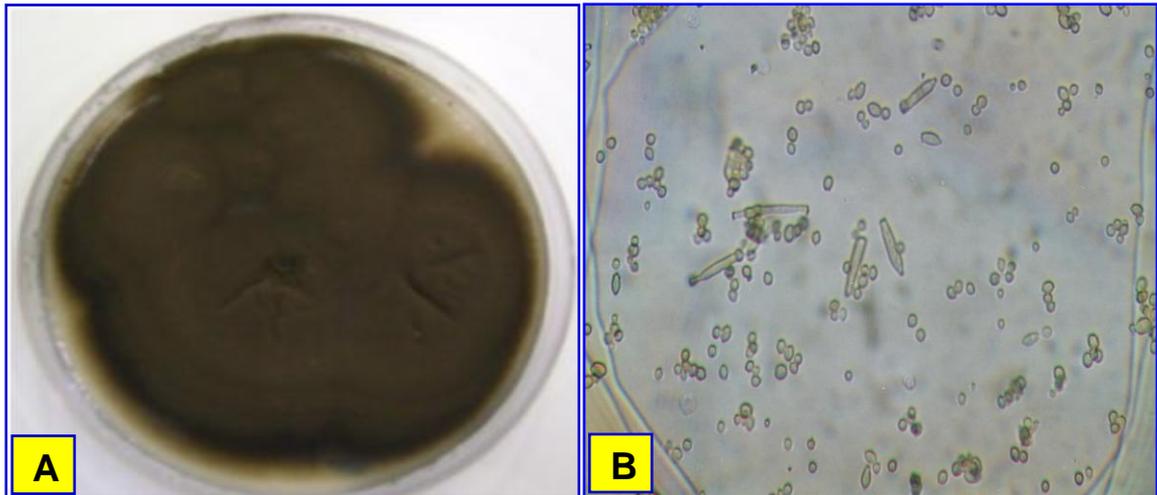


Figure 6.16 : Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de *Cladosporium* sp

6.1. 2.10. *Alternaria* sp

✓ **Caractéristiques macroscopiques :**

- La couleur : verdâtre à noirâtre,
- L'aspect : cotonneux,
- La forme : Présente des colonies, arrondies régulières [130].

✓ **Caractères microscopiques :**

- Conidies : solitaires ou groupées ovoïdes, cylindriques ou piriformes ; arrondies à la base ; lisse, verruqueuses atténuées à leur sommet, elles sont muriformes.
- Conidiophores : sont solitaires ou fascicules, portant une chaîne simple ou ramifiée de conidies.
- Mycélium : sombre, ramifié, cloisonnée [130].

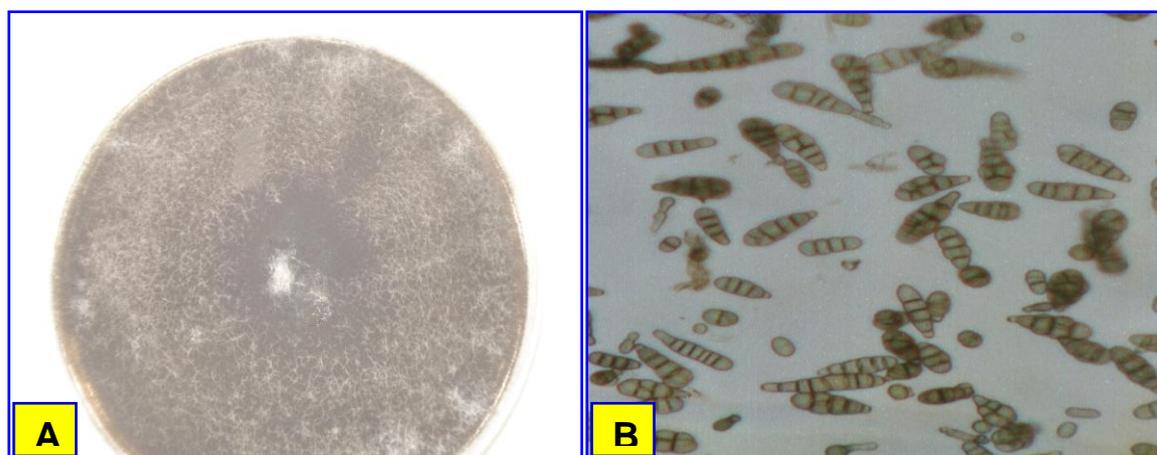


Figure 6.17 : Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) d'*Alternaria* sp

6.1. 2.11. *Colletotrichum* sp

✓ **Caractéristiques macroscopiques :**

- La couleur : gris noirâtre avec des acervules et de la cire de couleur noire,
- L'aspect : cotonneux,
- La forme : Présente des colonies arrondies, régulières [130].

✓ **Caractères microscopiques :**

- Conidies : cylindrique ellipsoïdes,
- Conidiophores : simples, allongés, courts [130].



Figure 6.18 : Forme microscopique (10X40) de *Colletotrichum* sp

6.1. 2.12. *Ulocladium* sp

✓ **Caractéristiques macroscopiques :**

- La couleur : noirâtre,
- L'aspect : cotonneux,
- La forme : Présente des colonies régulières [130].

✓ **Caractères microscopiques :**

- Conidies: sombres globuleuses réticulées,
- Conidiophores: sombres; flexueux; ramifiés,
- Mycélium: grimpant; étendu; ramifié [130].

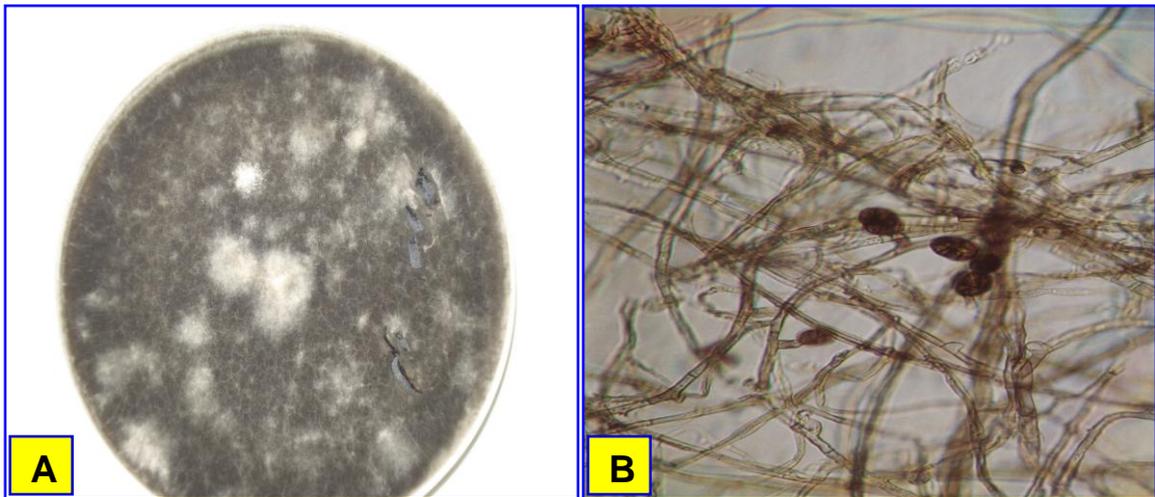


Figure 6.19: Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de « *Ulocladium* sp »

6.1. 2.13. *Helminthosporium* sp

✓ **Caractéristiques macroscopiques :**

- La couleur : vert à noirâtre,
- L'aspect : dense régulièrement velouté,
- La forme : colonies régulières [130].

✓ **Caractères microscopiques :**

- Conidies: allongées ou cylindriques; lisses; la majorité présentent les 2 extrémités arrondies ou parfois pointues
- Conidiophores: groupés; dressés et droits; parfois étendus; cloisonnés; de couleur marron verdâtre.
- Mycélium: le mycélium sombre, cloisonné [130].

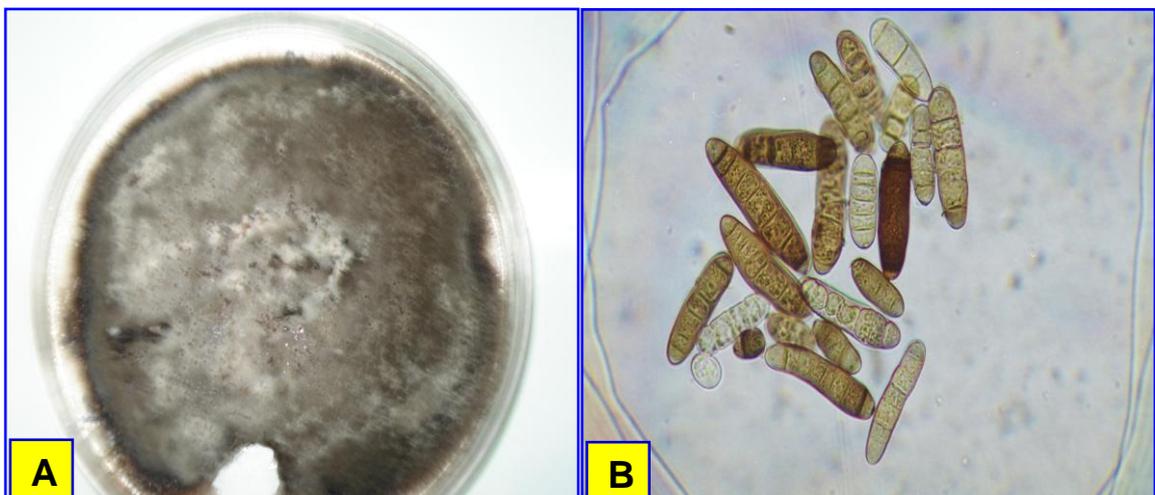


Figure 6.20: Forme macroscopique (A) et microscopique (10X40) (B) de *Helminthosporium* sp

CHAPITRE 7

DISCUSSION GENERALE

La discussion de nos résultats se base essentiellement sur les conclusions préliminaires et partielles obtenues à partir de notre diagnostic symptomatologique pour l'ensemble des vergers prospectés, durant les trois ans et sur les principaux isollements fongiques effectués au niveau de laboratoire.

Sur le terrain les symptômes observées, même en indiquant des situations de dépérissement et de mortalité des arbres, il est difficile de se prononcer sur l'étiologie de notre dépérissement de façon claire et précise, du fait qu'il y a d'une part une confusion entre différentes descriptions symptomatologiques correspondant à des maladies de différentes origines (virale, bactériennes, mycoplasmiqes et fongiques), et d'autre part la complexité dans le développement et l'expression des symptômes.

L'ensemble des travaux réalisés sur le dépérissement des arbres fruitiers d'une manière générale et principalement sur les citrus attribuent les causes de ce genre d'affections à trois groupes d'hypothèses [125, 132] :

- ✓ « 1 » Attaque de la plante par des organismes pathogènes (Champignons, bactéries ou virus) favorisé par l'affaiblissement de l'arbre dû à la présence de l'horizon asphyxiant (Origine biotique du dépérissement).
- ✓ « 2 » Asphyxie du système racinaire, (Origine purement physiologique du dépérissement).
- ✓ « 3 » Intoxication de l'arbre par production au niveau des racines de composés phytotoxiques minéraux ou organiques résultant d'une activité anaérobie anormale de la microflore rhizosphérique.

Il est à signaler que plusieurs cas de dépérissement d'arbre fruitiers et forestiers ont été attribuées à des causes abiotique, tels que la salinité du sol, les pluies acides, l'interaction « climat parasites et pollution atmosphérique », cette théorie explique la perte de vigueur des arbres par l'action de facteurs climatiques et écologiques qui sensibilisent les arbres aux invasions par des agents de maladies parasitaires. Interviendraient notamment la sécheresse, le froid hivernal et les baisses rapides de température [133].

Une autre théorie en 1987 mis en évidence le transport à distance d'insecticides organophosphorés (Malathion, Diazinon) et d'herbicides par les brouillards acides dans le Maryland et Californie, suggèrent la possibilité d'effets phytotoxiques lorsque les gouttelettes se déposent sur les surfaces des végétaux et concentrent les substances transportées, lesquelles pénétreraient dans les plantes en y provoquant des dégâts [134].

Une autre théorie associée le dépérissement à une alimentation azotée déséquilibrée, les apports d'azote sous forme de dépôts assimilables par les racines et les feuilles, provenant des oxydes d'azote (NO_x) émis dans l'atmosphère (notamment par les gaz d'échappement des voitures), perturbe le cycle nutritif normal des arbres. D'autre part, l'apport excessif d'azote prolonge la durée de la végétation, retarde la lignification et accroît les dégâts de gel à l'automne [135].

Dans notre analyse nous n'avons pas pris en considération l'origine anthropique (pollution), du fait que les affections en question sont localisées dans des sites et vergers délimités.

Pour les maladies d'origines abiotiques, pour la plupart du temps les symptômes se limitent à des jaunissements généralisés (chlorose de la partie aérienne) et ils sont répartis sous forme de plages occupant de très larges surfaces, en plus leur vitesse d'avancement est relativement faible comparée à celle des maladies d'origine biotique. Alors que dans notre cas, sur l'ensemble des vergers prospectés, nous avons constaté une grande rapidité et une répartition non homogène des symptômes et cela nous a orienté de penser à la cause

biotique du dépérissement et d'étudier l'influence des travaux culturales sur la vitesse d'avancement de la maladie [102, 115, 126, 30].

Au cours de nos différentes et nombreuses prospections, dans le but de diagnostiquer ce problème de dépérissement, nous avons observé de graves symptômes sur les différentes parties de l'arbre, dessèchement et chute du feuillage suivi d'un dépérissement des rameaux qui se progresse à l'intérieur de l'arbre et abouti par la suite à sa mort totale. La deuxième hypothèse n'a pas pris en considération la répartition spatiale et temporelle en se basant sur des cas de dépérissement.

Une carence ou un excès d'un élément minéral peut occasionnellement causer un dépérissement, mais vu que la propagation des symptômes est très rapide et elle se fait également par les outils de taille, c'est à dire l'origine de ces affections ne serait pas une carence ou un excès d'un élément minérale.

Notre enquête sur terrain et la nature des symptômes observés, leur expression, développement et propagation, met en évidence la cause **biotique**.

Le symptôme de dépérissement unilatéral est considéré comme symptôme typique des trachéomycoses d'origine tellurique, et de ce fait la probabilité que ce dépérissement est principalement la conséquence d'une trouble physiologique ou d'une asphyxie racinaire est écartée et donc les deux dernières hypothèses précédemment cités sont éliminées.

Sur le terrain les symptômes observées, même en indiquant des situations de dépérissement et de mortalité des arbres, il est difficile de se prononcer sur l'étiologie de notre dépérissement de façon claire et précise, du fait qu'il y a d'une part une confusion entre différentes descriptions symptomatologiques correspondant à des maladies de différente origines (virale, bactériennes et fongiques) et d'autre part la complexité dans le développement et l'expression des symptômes.

Les symptômes constatés lors de nos prospections se présentent en deux modes de dépérissement ;

- ✓ le mode foudroyant sur les arbres âgés de 5 à 15 ans, débute par des symptômes de jaunissement et d'enroulement foliaires touchant les extrémités de l'arbre puis le dépérissement total de l'arbre en l'espace de deux à trois mois ;
- ✓ Le mode progressif sur les arbres plus de 15 ans, commence par un jaunissement généralisé accompagné par des chancres sur le tronc, des suintements gommeux et parfois un dépérissement unilatéral, aboutissant à la fin au dépérissement total de l'arbre en l'espace de 2 à 5 ans.

En se basant sur le mode d'évolution des symptômes et sur le comportement épidémiologique du dépérissement nous avons constaté qu'il y a deux répartitions différentes :

- ✓ Sur l'arbre dont nous avons classé son état en cinq classes ; la classe « 0 » pour dire que l'arbre est sain, les classes « 1 », « 2 » et « 3 » pour les différents niveaux du dépérissement et la classe « 4 » comme un seuil maximal qui correspond à un arbre arraché ou remplacé.
- ✓ Sur la culture dont nous avons suivi la progression des symptômes sous forme de tables montrant la répartition spatiale des symptômes en se basant sur notre échelle d'évaluation symptomatologique.

La sévérité des maladies d'origine tellurique est généralement conditionnée par les variations physico-chimiques du milieu édaphique, qui peuvent agir directement sur la population de l'agent pathogène ou interagir selon des combinaisons capables de favoriser ou d'inhiber le développement de la maladie [133].

En effet, nous pouvons dire, que la densité d'inoculum augmente avec certains paramètres du milieu surtout la teneur en argile et le limon fin, qui pourraient constituer des facteurs favorables, en présence d'irrigation, pour l'installation et le développement d'une flore fongique tellurique [133].

En plus de la présence de deux modes de dépérissement, en général nous avons constaté une répartition non homogène (hétérogène) des symptômes de dépérissement et cela pour les différents vergers prospectés, notamment les

vergers de la commune de « Oued El-Alleug », cette différence dans la répartition est due essentiellement à deux types de facteurs ; des facteurs physiologiques qui sont en relation avec l'âge et l'état nutritionnelle de l'arbre, et des facteurs pédoclimatiques qui sont en relation avec l'environnement de l'arbre.

Concernant les trois vergers de la commune de « Oued El-Alleug », V01, V02 et V03, le dépérissement est localisé au centre (les différentes classes du dépérissement) puis la contamination se propage vers la périphérie, cela veut dire que la maladie évolue rapidement dans le temps et dans l'espace (les zones infectées). Pour ces trois vergers nous avons enregistré les plus graves valeurs de diffusion et d'incidence (tableau 5.1 et 5.2, figure 5.17 et 5.18). Le comportement épidémiologique du dépérissement au niveau de ces vergers confirme que la dissémination de la maladie est favorisé par les techniques culturales telles que l'irrigation et la taille, ces deux dernières ont un rôle important dans la dissémination de la maladie.

Pour le verger V04, C'est le verger le plus jeune, un seul cas de dépérissement de la classe « 3 » a été enregistré durant la première prospection en 2007, pour les deux années après nous avons noté une évolution continue du dépérissement (tableau 5.1, figure 5.17), il est à noter que ce verger ne subit pas trop d'entretien par les techniques culturales qui peuvent favoriser la dissémination de la maladie.

En ce qui concerne les vergers V07, V08, V09, V10, V11 et V12 la répartition de la maladie se fait sous forme de plages à la périphérie, puis la contamination suit la direction d'irrigation, aussi il y a une infection sectorielle sur certains arbres (par secteurs), cela justifie la transmission par les outils de la taille (sécateur) car la désinfection des outils n'est pas respectée.

Concernant les vergers abandonnés (V05 et V06), Ces deux dernières présente un taux de contamination moindre que les autres vergers, car ces vergers sont laissés à l'abandon, sans entretien, ni irrigation, ni les travaux de taille, ni des traitements phytosanitaires, nous pouvons exclure ces différentes opérations dans la transmission de la maladie. Le sol et les eaux des pluies

peuvent être incriminés dans la transmission de la maladie. Il ne faut pas oublier l'action probable des organismes et microorganismes du sol.

Les résultats de diffusion et de la gravité du dépérissement dans l'ensemble des vergers, **confirment la probabilité de la cause biotique** et l'implication des travaux culturales dans la dissémination de la maladie.

Comme nous avons détaillé dans la partie bibliographique, plusieurs agents biotiques (virus, bactéries ou champignons) sont capables de causer le dépérissement progressif ou brutal de l'arbre, et en raison de la grande confusion entre les symptômes induits par ces agents phytopathogènes, nous avons procédé à l'analyse des symptômes observés au niveau des vergers prospectés, en fonction de leur apparition et leur évolution, pour établir des liens éventuels avec d'autres maladies virales, bactériennes, fongiques ou autres connues sur les agrumes.

Il existe des maladies de dépérissement d'origine virale (Tristeza, Psorose), à viroïdes (Cachexie, Exocortis) et même bactérienne (Stubborn) qui ont causés des dégâts considérable dans les pays du bassin méditerranéen, mais l'absence de symptômes typiques de ces maladies dans les vergers agrumicoles prospectés, nous a laissé de penser beaucoup plus aux symptômes induits par des champignons d'origine tellurique (*Phytophthora* spp, *Fusarium* spp) [30].

7.1. Possibilité d'origine virale

✓ **Tristeza (CTV)**

La tristeza (CTV) 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, des dizaines de millions d'arbres ont été détruits, notamment en Amérique du Nord et du Sud et dans certains pays méditerranéens [30].

Les arbres greffés sur bigaradier présentent des signes de dépérissement, défoliation, rabougrissement et souvent déclin total. Le virus induit une nécrose des tissus conducteurs de la sève au niveau du point de greffe, ce qui arrête le passage de la sève élaborée et provoque la mort des racines. Les cellules des

rayons médullaires du bois se lignifient et des symptômes tels que striures inversées (inverse pitting), dessins polygonaux, des ponctuations apparaissent. Ces symptômes ne sont cependant pas spécifiques de la tristeza et peuvent aussi être induits par *Spiroplasma citri* (stubborn des agrumes) [30].

Même si nous avons rencontré parfois des états de chlorose, défoliation et rabougrissement, mais en raison que les vergers prospectés sont âgés de plus de 50 ans (exception du V04), et que certains souches du CTV ont été rencontrée sur des jeunes plants juste après le greffage ; d'autre part l'absence des symptômes typiques de la tristeza (stem pitting, éclaircissement de nervures), pour ces raisons ; nous avons écarté la possibilité d'implication de cette virose [30].

✓ **Psorose (CPsV)**

La psorose est très répandue sur les agrumes des pays de l'Afrique du nord, le symptôme typique de la psorose-A sur champ se manifeste par des lésions écailleuses sur le tronc de l'arbre, et la coloration rougeâtre interne du bois. Dans un travail non publié fait par Roistacher et Calavan, Il a été observé qu'un arbre d'Oranger doux (*Citrus sinensis*) âgé de 50 ans ne montre aucun symptôme d'écaillage sur champ, produit des arbres descendants avec plus de 60% présentent le symptôme d'écaillage sur tronc [30, 28, 56, 58, 59, 60].

Du fait que la plupart des espèces de citrus et cultivars sont des porteurs asymptomatiques du virus, et l'absence de symptômes typiques de cette virose dans tous les vergers prospectés, nous a permis d'écarté la possibilité de son implication.

✓ **Cachexie (CCaVd) et Exocortis (CEVd)**

La cachexie et l'exocortis sont des maladies à viroïde qui affectent sévèrement plusieurs porte-greffes et variétés d'agrumes, un grand nombre de variétés sont asymptomatique et presque toute les variétés greffées sur "le bigaradier" sont asymptomatique ce qui a favorisé la propagation de ces maladies dans le monde entier par la transmission mécanique (matériel de propagation infecté, outils de greffage et de la taille).

Pour la cachexie, la production de gomme est le symptôme typique sur les variétés et les porte-greffes de mandarine et ses hybrides, le symptôme typique sur champ induit par *Citrus exocortis viroid* (CEVd) c'est une sévère exfoliation de l'écorce sur le porte-greffe trifoliolate (*Poncirus trifoliata*) ou Rangpur lime (*Citrus limonia*) accompagné par différent degrés de rabougrissement de l'arbre [30, 61, 62, 63, 67, 68].

L'absence de symptômes typiques de ces maladies dans nos vergers, et vu que le bigaradier est le porte greffe utilisé dans la totalité des vergers prospectés, c'est un porte-greffe asymptotique pour les maladies à viroïdes. Pour cela nous avons écarté la possibilité de l'implication de ce genre de maladies dans l'expression des symptômes du dépérissement [28, 29, 30].

7.2. Possibilité de causes bactériennes

✓ **Stubborn des agrumes**

Les symptômes du stubborn se développent lentement mais au terme de leur évolution, ils aboutissent souvent à la mort de l'arbre, la gravité de cette maladie est d'autant plus grande qu'on la rencontre le plus souvent accompagnée de la psorose. Les arbres atteints sont plus ou moins rabougris, Les pousses peuvent être anormalement groupées et le développement de bourgeons axillaires peut entraîner l'apparition de balais de sorcières. Cette maladie est présente en Algérie avec son vecteur *Circulifer tenellus*, le deuxième vecteur *Neoliturus haematoceps*, n'est pas présent [30, 70, 71].

En l'absence de symptômes typiques de cette maladie comme le ballai de sorcière, marbrure des feuilles et l'inversions de la couleur des fruits, Il est difficile d'impliquer cette maladie comme cause de dépérissement dans nos vergers.

✓ **Huanglongbing (HLB) ou Greening**

Cette maladie est due à une bactérie située exclusivement dans les tubes criblés du phloème des plantes atteintes, Il existe trois formes de HLB causées par trois espèces différentes ; *Candidatus Liberibacter asiaticus* (pour les pays asiatiques, en Floride, et au Brésil), *Candidatus Liberibacter africanus* (dans les pays africains), et *Candidatus Liberibacter americanus* (au Brésil), ces trois formes se distinguent par la température, l'humidité et l'altitude. Les arbres atteints

peuvent avoir une croissance libre, un rabougrissement, dépérissement des rameaux, feuillage jaune peu dense et une chute importante des fruits [30, 78].

Vu l'absence de symptômes typiques de cette maladie, et l'absence du vecteur de la forme africaine dans notre pays ou dans les pays voisins, nous oriente vers la non implication de cette maladie dans le dépérissement.

✓ **Chlorose Variégée des Agrumes (CVA)**

Les symptômes de la CVA commencent généralement par une chlorose qui s'apparente à une carence en zinc et se manifeste sur un secteur de l'arbre. La face inférieure de la feuille présente une lésion renflée gommeuse tandis que la face supérieure est atteinte d'une chlorose jaune correspondante. Puis la maladie se répand, les nouvelles feuilles raccourcissent, la plupart pointant vers le haut. Les rameaux dépérissent, la taille du fruit diminue considérablement et son écorce devient dure. La teneur en sucre du fruit infecté est supérieure à celle du fruit non contaminé et il parvient plus vite à maturité [30, 89].

Vu que la bactérie est transmissible par plusieurs espèces d'insectes piqueurs-suceurs communs dans les zones de production d'agrumes du Brésil, et jusqu'à maintenant, la CVA s'est limitée au Brésil. Le développement et l'évolution de symptômes dans nos vergers écartent cette origine.

✓ **Chancre bactérien des agrumes**

L'agent causal de cette maladie, la bactérie *Xanthomonas campestris* pv. *Citri* provoque des taches et des lésions sur les feuilles, les tiges et le fruit. Les premières lésions apparaissent sous la forme de petites taches chlorotiques qui se transforment, en s'élargissant, en lésions présentant des centres nécrosés entourés d'un halo chlorotique. Les lésions anciennes ont souvent l'aspect du liège [30, 93, 94, 95].

Cette maladie n'est pas présente en Algérie (EPPO), et leurs symptômes sont très spécifiques ; dans notre étude de trois années consécutives nous n'avons pas rencontré ce genre de symptômes et la probabilité de son implication est totalement écartée.

Sur la base du diagnostic symptomatologique sur terrain, sur l'évolution spatiale et temporelle des symptômes de dépérissement, ainsi que sur l'analyse comparative avec les autres maladies, nous avons écarté les deux possibilités de causes virales et bactériennes.

7.3. Possibilité de causes fongiques

Vu que les vergers d'étude se situent dans la plaine de Mitidja caractérisée par un taux d'humidité extrêmement important dans les périodes hivernales et printanières où les conditions de développement des agents pathogènes sont très favorables, et Sur la base des résultats épidémiologiques et étiologiques obtenus, nos soupçons s'orientent plus vers l'implication de certaines maladies fongiques d'origine tellurique.

A partir de notre enquête et suivi sur terrain, nous pouvons dire que les travaux culturels tels que l'irrigation et la taille, constituent un facteur important dans la propagation des symptômes du dépérissement.

Les résultats du diagnostic sur terrain dans tous les vergers prospectés ont révélés la présence de deux champignons sous forme de fructifications macroscopiques sur le tronc et les branches charpentières. La recherche bibliographique et les communications réalisées avec plusieurs professeurs dans le monde (Tjamos, E / Grèce, Ippolito, A / Italie et Roistacher, C.N / USA), montrent qu'il s'agit de signes typiques de *Ganoderma* spp et *Fomitiporia mediterranea* qui sont capables de causer le dépérissement (Figure 5.4) [136, 137].

Pour *Ganoderma* spp, c'est un champignon de la classe des Basidiomycètes, l'agent causal de la pourriture de cœur des arbres fruitiers «*Ganoderma* root rot» ou «Heart rot» [137]:

- ✚ Les tissus du bois affectés meurent et montrent une coloration marron ;
- ✚ Le bois devient soft et il se décompose ;
- ✚ La partie aérien de l'arbre commence à se dépérir ;
- ✚ Dans un stade avancé, les fructifications du champignon apparaissent sur la base du tronc ;
- ✚ Finalement, il aboutit à la mort total de l'arbre.

Concernant *Fomitiporia mediterranea*, c'est un Basidiomycètes également, il cause le dépérissement de plusieurs espèces d'agrumes après un jaunissement généralisé du feuillage et une chute rapide des feuilles [138].

La présence de signes typiques de ces deux champignons (*Ganoderma* et *Fomitiporia*) dans nos vergers, nous a permis de les classer parmi les causes directes du dépérissement.

Nos observations macroscopiques et microscopiques réalisées sur des milieux de culture standards ont permis de constater la présence des caractéristiques des basidiomycètes (présence du mycélium sans aucune fructification, ainsi que l'odeur d'un carpophage), en l'absence de milieu spécifique permettant d'observer des caractéristiques microscopiques, taxonomiques, il nous est impossible d'en parler sur l'identification exacte de ces agents pathogènes.

L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude montre clairement la présence d'une population fongique très importante dominée toujours par les espèces de *Fusarium* suivi par les genres *Verticillium* et *Phytophthora*. La fréquence d'isolement de ces agents était très importante pour le dépérissement de la classe « 3 ». Nous avons enregistré une relation proportionnelle entre le taux d'isolement des champignons et l'évolution dans la classe du dépérissement.

Les principaux genres fongiques isolés durant les trois ans sont les suivants : *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytophthora*, *Geotrichum*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Botrytis* et *Rhizoctonia*.

✓ ***Phytophthora* spp**

Le diagnostic symptomatologique sur terrain durant les trois années consécutives confirme la présence de symptômes typique de la gommose à *Phytophthora* exprimé par la présence des exsudations de gommages, souvent accompagnés avec un rougissement et un sévère écaillage du tronc ; Les isolements au niveau de laboratoire ont révélés la présence du genre *Phytophthora*, pour cela nous pouvons additionner cette maladie parmi les causes directes du dépérissement dans nos vergers.

Le champignon responsable de la gommose est localisé à la base des charpentières et surtout au niveau du collet ; il provoque un craquellement de l'écorce avec exsudation de gomme abondant au printemps et en automne, et entraîne un flétrissement annonçant la mort de l'arbre.

Vu que cette grave maladie est due principalement à deux champignons ; *Phytophthora nicotianae* et *Phytophthora citrophthora*, nous avons contacté des spécialistes qui nous ont orienté à la présence de ces deux espèces dans nos isollements de laboratoire [30, 101, 102, 103, 104, 105, 108, 109, 110].

Bien que dans la majorité des vergers, les arbres sont greffée sur des porte-greffes résistants à la gommose (le porte-greffe Bigaradier), mais cette maladie a causé de graves dommages dans les vergers prospectés parce que, le point de greffage de la variété sur le porte-greffe se trouve trop près du sol et les irrigations sont mal conduites. S'ajoute à çà l'utilisation d'arbres non certifiés [30].

Durant notre diagnostic sur terrain, nous avons remarqué qu'après l'arrachage d'un arbre dépéris, les arbres transplantés à nouveau n'arrivent pas à se développer ; ils montrent un jaunissement et un flétrissement du feuillage puis ils meurent pendant un temps très court (max 1 mois). L'association de ce grave symptôme à ce stade avec les autres symptômes de dépérissement des arbres âgés plus de 50 ans et en se basant sur les genres fongiques isolés (*Fusarium* spp, *Verticillium*, *Phytophthora* spp et *Rhizoctonia*), nous pouvons attribuer ce dépérissement aux trachéomycoses et nous pensons à la présence de deux maladies : le «Damping-off» et la pourriture racinaire induit par les différentes espèces du genre *Phytophthora* [104, 105, 106, 107, 109].

✓ ***Fusarium* spp**

La dominance écrasante des espèces de *Fusarium* dans les isollements fongiques réalisée, nous a laissé de penser à l'implication obligatoire et directe de ce champignon tellurique dans la causalité du dépérissement (tableau 6.4 et 6.6).

La pourriture sèche de racines (dry root rot) semble être la plus grave maladie fongique d'origine tellurique, elle est causée par *Fusarium solani*, l'écorce de la racine est désagrégée, la pourriture se localise au-dessous du collet de l'arbre, l'écorce est d'abord molle, puis elle devient dure, les feuilles jaunissent, se

dessèchent plus ou moins rapidement et tombent, les racines montrent une pourriture sèche limitée dans la partie basale du tronc [109, 111, 112].

Notre diagnostic symptomatologique sur terrain et les isollements de laboratoire montre clairement la présence de symptômes typiques de la pourriture sèche (figure 5.3) avec son agent causal *Fusarium solani*, et de ce fait cette maladie est fortement impliquée comme cause directe de ce dépérissement [139, 140].

Plusieurs recherches ont montrées l'influence de *Fusarium solani* sur la densité de population de *Phytophthora* dans la rhizosphère. Quand *F. solani* colonise la rhizosphère, il réduit la densité de *Phytophthora parasitica* jusqu'à 53% [141]. Pour cela nous pouvons dire que les fréquences des isollements obtenus reflètent la présence relative des ces genres fongiques dans le sol.

✓ ***Armillaria mellea* et *Rosellinia necatrix***

Les symptômes causés par ces deux champignons se confondent souvent avec ceux de la gommose, de la pourriture sèche et des accidents résultant de l'excès d'eau. En l'absence de symptômes typiques de ces agents de pourriture, leurs rôle dans le dépérissement est écarté [101, 111, 112].

✓ **Mal secco**

Cette maladie fongique est causée par *Deuterophoma tracheiphila*, il est particulièrement grave sur citronnier, bien qu'il puisse attaquer d'autres espèces d'agrumes comme par exemple le clémentinier. Au niveau des vergers prospectés, les arbres de citronnier ne présentent aucun symptôme de cette maladie, pour cela nous avons écarté son implication [113].

7.4. Citrus Blight

Sur la base des symptômes observés sur le terrain tels que : défoliation, dessèchement des brindilles, jaunissement généralisé, le dépérissement unilatéral ; et la confirmation de la présence de *Fusarium solani* dans les isollements réalisés, nous avons pensé à la similitude de notre cas avec différents travaux de recherche sur l'étiologie de cette maladie [140].

La cause du blight n'est pas encore connue, selon plusieurs experts de l'EPPO, les symptômes du Blight sont assez semblables à ceux des maladies de dépérissement vasculaire, et la mise en cause des champignons de dépérissement vasculaire seraient en accord avec le concept d'un agent systémique transmis par le sol [124].

Cependant ils n'ont pas identifié de pathogène de dépérissement vasculaire typique, malgré des affirmations initiales concernant des hyphes associées aux occlusions vasculaires [140].

Ils ont aussi suggéré que le citrus blight était associé à une pourriture des racines secondaires ou nécrose des racines principales, provoquées par *Fusarium solani* [142].

Graham *et al.* (1983) ont trouvé que *F. solani* n'infectait les racines principales que des arbres déjà dépéris, ce qui suggère que la nécrose racinaire est plus une conséquence qu'une cause du citrus blight [143].

Nemec *et al.*, ont isolé des souches pathogènes de *F. solani* à partir de lésions de racines secondaires et ont réinoculé des racines avec succès, ce qui a provoqué l'apparition sur les plantes de symptômes ressemblant au citrus blight. Ils ont détecté des toxines naphthazarines produites par *F. solani* dans les racines et les branches d'arbres présentant des symptômes de citrus blight, ce qui suggère un mécanisme par lequel la pourriture fusarienne pourrait provoquer le citrus blight. Cependant on trouve aussi des lésions racinaires provoquées par *F. solani* sur des arbres ne présentant pas le citrus blight ou affectés par d'autres organismes nuisibles (par exemple des nématodes), et les toxines peuvent aussi être trouvées dans ces arbres [139, 144].

L'infection des racines d'agrumes par *F. solani* pourrait donc ne pas être une cause suffisante du citrus blight et d'autres facteurs doivent être simultanément en cause (sols peu profonds, nutrition, mauvais drainage) [145].

CONCLUSION

Ces dernières années la zone de la Mitidja a connu une forte attaque de dépérissement des agrumes qui touche l'ensemble des vergers agrumicoles, ce dépérissement cause des pertes économiques très inquiétantes. Plusieurs cas similaires ont été signalés à travers le monde. Les études réalisées à travers les zones agrumicoles dans le monde ; même si l'implication de certaines maladies a été nettement identifiée, telles que la Tristeza en Espagne, le mal secco en Italie, beaucoup de situations n'ont pas trouvé de réponse précise. Le cas du Citrus Blight en Floride (USA) à nos jours ce dépérissement devient un véritable problème très inquiétant, et aucune réponse n'a été apportée à ce sujet d'une manière claire et précise.

Notre travail apporte une contribution partielle à la question encore posée du phénomène de dépérissement des agrumes dans la région de la Mitidja. Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que le problème du dépérissement est en progression continue, en diminuant considérablement le potentiel de la production et en augmentant la possibilité pour d'autres maladies de s'installer facilement.

L'estimation globale de la situation de dépérissement dans les douze vergers étudiés, nous a permis d'enregistrer une moyenne générale du taux d'infection de **44,56%**, représentant un indice de gravité de **2,32** sur une échelle de quatre degrés, ayant comme conséquence une incidence de **25,27%**.

Nous avons mis en évidence l'existence d'une relation proportionnelle entre le mode de conduite (notamment la taille et l'irrigation) et la diffusion des foyers du dépérissement. Cette hypothèse est confirmée par le grand pourcentage de diffusion enregistré dans les quatre vergers en production à « Oued El-Alleug », avec **46,81%**, face à **38,73%** pour les vergers abandonnés (sans conduite culturale).

Le diagnostic symptomatologique réalisé sur un total de 7771 arbres, figurant dans les douze vergers agrumicoles et occupant une superficie d'environ 25 ha, a montré que 3463 des arbres (44,56%) sont atteints par le dépérissement : 1425 arbres (18,34%) par le dépérissement de la classe « 1 », 830 arbres (10,69%) de la classe « 2 », 450 arbres (5,79%) de la classe « 3 » et 758 arbres (9,75%) de la classe « 4 ».

Les opérations d'isolements fongiques effectuées avec des échantillons de sol et de bois (rameaux et racines) ont permis d'isoler une population fongique très diversifiée, représentée principalement par les genres fongiques suivants : *Fusarium* (50,55%), *Phytophthora* (4,83%), *Verticillium* (4,07%), *Geotrichum* (2,9%), *Cladosporium* (13,23%), *Alternaria* (4,68), *Botrytis* (2,99%) et *Rhizoctonia* (3,28%). Nous avons noté une nette dominance de la flore fusarienne avec 50,55%, composée de 7,31% pour *Fusarium oxysporum*, 11,35% pour *Fusarium solani* et 31,89% pour *Fusarium* spp. Nous avons enregistré une relation proportionnelle entre le taux d'isolement des champignons et l'évolution de la classe du dépérissement. Les plus grandes fréquences d'isolement ont été enregistrées avec le dépérissement de la classe « 3 ».

A l'issue de notre travail, il se dégage que le dépérissement des agrumes est en effet un problème complexe qui ne trouve pas son origine dans une cause unique, mais plutôt la conjugaison de plusieurs facteurs biotiques (causes directes). Les résultats épidémiologiques et étiologiques obtenus, confirment que les causes directes fortement impliquées dans le dépérissement des agrumes au niveau des vergers prospectés, sont des **causes biotiques** représentées principalement par des agents fongiques d'origines telluriques suivants : *Phytophthora* spp (gommose parasitaire et chancre du collet), *Fusarium solani* (pourriture sèche), *Ganoderma* sp (pourriture racinaire) et *Fomitiporia mediterranea* (pourriture du tronc).

L'affirmation de l'origine exacte de cette maladie, ne pourra être vérifiée que par des études beaucoup plus détaillées de chaque facteur présumé stimulant ou ayant un rôle direct ou indirect dans l'apparition et la propagation de cette grave affection.

Cette étude mérite d'être poursuivie par d'autres travaux plus poussés qui incluraient l'élargissement des prospections à toutes les zones agrumicoles du pays, en suivant notre échelle d'évaluation dans la classification des symptômes du dépérissement et l'approfondissement de la recherche en utilisant des méthodes immunologiques (ELISA) et moléculaires (PCR et RT-PCR).

En fin, pour prévenir le risque de la présence de ce genre d'affections épidémiques dans nos vergers et assurer une bonne production agrumicole, nous recommandons d'établir des études pédologiques qui peuvent influencer la gamme d'agents fongiques telluriques mise en évidence par notre étude, notamment la flore fusarienne.

En plus des campagnes de sensibilisation et de vulgarisation auprès des agrumiculteurs, sur les opérations de prophylaxie, de prévention et de surveillance, **l'établissement d'un programme national de certification** des agrumes, pour satisfaire les besoins des agrumiculteurs avec des plants sains, indemnes de maladies et de provenance connue, devient indispensable.

Appendices

Appendice A

LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

APS : la société Américaine de phytopathologie

ARN : Acide ribonucléique

C°: Degré Celsius

CcaVd: *Citrus cachexia viroïd*

CEVd: *Citrus exocortis viroïd*

CPsV: *Citrus psorosis virus*

CTV: *Citrus tristeza virus*

CVA : Chlorose Variéguée des Agrumes

DAS-ELISA: Double antibody sandwich ELISA

ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent assay

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations

HLB : Huanglongbing (Greening)

INRA : Institut national de la recherche agronomique

IOCV: l'organisation internationale des virologistes de citrus

Mt : millions de tonnes

OEPP: l'organisation européenne et méditerranéenne de la protection des plantes

PNDA : Le programme national du développement agricole (Algérie)

Qx : Quintaux

RT-PCR: real time polymerase chain reaction

S-PAGE : sequential-Polyacrylamide gel electrophoresis

TAS-ELISA: Triple Antibody Sandwich ELISA

Appendice B

Récapitulatif des superficies, productions, rendements et taux d'accroissements de 2001 à 2006 [22, 23].

	2001			2002			Taux d'accroissement		
	Sup.	Prod.	Rdt	Sup.	Prod.	Rdt	%		
	ha	qx	qx/ha	ha	qx	qx/ha	Sup.	Prod.	Rdt
Oranges	32.700	3.270.830	118,7	36.430	3.624.900	128,6	11	11	8
Mandarines	1.970	193.520	101,3	2.180	215.360	113,9	11	11	12
Clémentines	10.230	907.350	96,6	10.120	949.330	102,5	-1	5	6
Citrons	3.640	316.440	116,3	3.880	389.660	138,2	7	23	19
Pomélos	100	11.460	114,6	100	15.340	166,7	0	34	45
TOTAL	48.640	4.699.600	112,8	52.710	5.194.590	122,9	8	11	9
	2002			2003			Taux d'accroissement		
	Sup.	Prod.	Rdt	Sup.	Prod.	Rdt	%		
	ha	qx	qx/ha	ha	qx	qx/ha	Sup.	Prod.	Rdt
Oranges	36.430	3.624.900	128,6	40.100	3.893.720	135,2	10	7	5
Clémentines	10.120	949.330	102,5	10.290	1.033.510	111,2	2	9	9
Mandarines	2.180	215.360	113,9	2.180	253.070	135,3	0	18	19
Citrons	3.880	389.660	138,2	3.970	401.670	138,5	2	3	0
Pomélos	100	15.340	166,7	100	17.330	188,4	0	13	13
TOTAL	52.710	5.194.590	122,9	56.640	5.599.300	130,4	7	8	6
	2003			2004			Taux d'accroissement		
	Sup.	Prod.	Rdt	Sup.	Prod.	Rdt	%		
	ha	qx	qx/ha	ha	qx	qx/ha	Sup.	Prod.	Rdt
Oranges	40.100	3.893.720	135,2	42.603	4.171.500	143,8	6	7	6
Clémentines	10.290	1.033.510	111,2	10.357	1.142.500	123,1	1	11	11
Mandarines	2.180	253.070	135,3	2.190	300.210	141,9	0	19	5
Citrons	3.970	401.670	138,5	4.122	459.190	150,4	4	14	9
Pomélos	100	17.330	188,4	96	17.710	190,4	-4	2	1
TOTAL	56.640	5.599.300	130,4	59.368	6.091.110	139,8	5	9	7
	2004			2005			Taux d'accroissement		
	Sup.	Prod.	Rdt	Sup.	Prod.	Rdt	%		
	ha	qx	qx/ha	ha	qx	qx/ha	Sup.	Prod.	Rdt
Oranges	42.603	4.171.500	143,8	45.492	4.352.360	146,6	7	4	2
Clémentines	10.357	1.142.500	123,1	10.096	1.098.920	119,4	-3	-4	-3
Mandarines	2.190	300.210	141,9	1.924	334.220	181,9	-12	11	28
Citrons	4.122	459.190	150,4	4.520	473.050	149,6	10	3	-1
Pomélos	96	17.710	190,4	94	15.510	166,8	-2	-12	-12
TOTAL	59.368	6.091.110	139,8	62.126	6.274.060	142,6	5	3	2
	2005			2006			Taux d'accroissement		
	Sup.	Prod.	Rdt	Sup.	Prod.	Rdt	%		
	ha	qx	qx/ha	ha	qx	qx/ha	Sup.	Prod.	Rdt
Oranges	45.492	4.352.360	146,6	45.834	4.744.530	153,7	1	9	5
Clémentines	10.096	1.098.920	119,4	10.466	1.238.935	130	4	13	9
Mandarines	1.924	334.220	181,9	2.140	321.975	154,4	11	-4	-15
Citrons	4.520	473.050	149,6	4.365	472.710	144	-3	0	-4
Pomélos	94	15.510	166,8	97	25.300	269,1	3	63	61
TOTAL	62.126	6.274.060	142,6	62.902	6.803.450	148,4	1	8	4
NB: en ce qui concerne l'arboriculture et le vignoble, Les rendements sont calculés par rapport aux superficies et aux arbres en rapport									

Appendice C

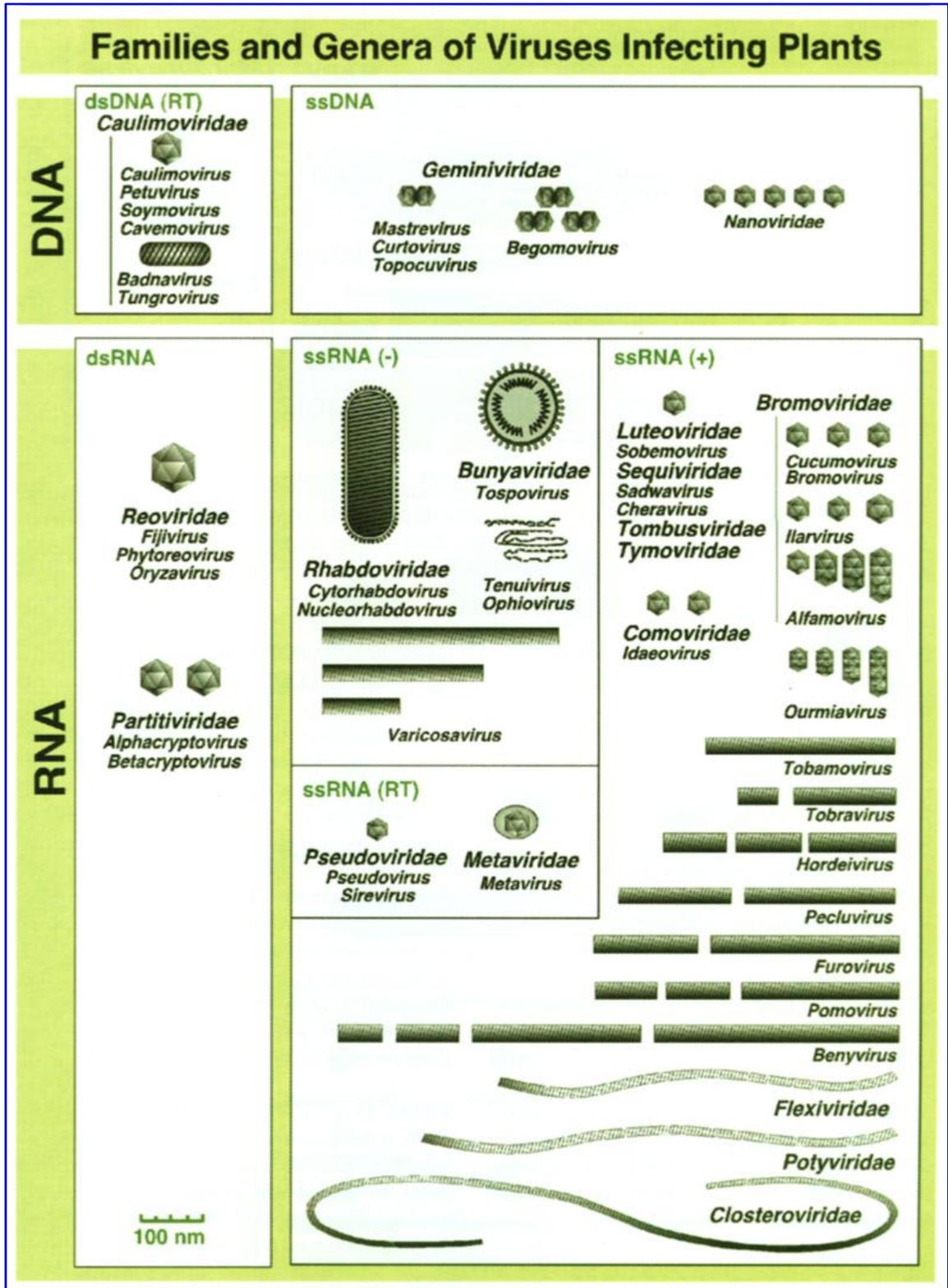
Classification actuelle des virus de plantes selon le septième rapport de l'organisation internationale de taxonomie des virus « ICTV »

Genome Type	Family	Genus *	Type species	
ssDNA	<i>Geminiviridae</i>	<i>Mastrevirus</i>	<i>Maize streak virus</i>	
		<i>Curtovirus</i>	<i>Beet curly top virus</i>	
		<i>Topocuvirus</i>	<i>Tomato pseudo-curly top virus</i>	
		<i>Begomovirus</i>	<i>Bean golden mosaic virus</i>	
		—	<i>Nanovirus</i>	<i>Subterranean clover stunt virus</i>
Reverse transcribing	<i>Caulimoviridae</i>	<i>Caulimovirus</i>	<i>Cauliflower mosaic virus</i>	
		'SbCMV-like'	<i>Soybean chlorotic mottle virus</i>	
		'CsVMV-like'	<i>Cassava vein mosaic virus</i>	
		'PVCV-like'	<i>Petunia vein clearing virus</i>	
	<i>Pseudoviridae</i>	<i>Badnavirus</i>	<i>Commelina yellow mottle virus</i>	
		<i>Pseudovirus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae Ty1 virus</i>	
		<i>Metaviridae</i>	Metavirus	<i>Saccharomyces cerevisiae Ty3 virus</i>
dsRNA	<i>Reoviridae</i>	<i>Phytoreovirus</i>	<i>Wound tumour virus</i>	
		<i>Fijivirus</i>	<i>Fiji disease virus</i>	
		<i>Oryzavirus</i>	<i>Rice ragged stunt virus</i>	
	<i>Partitiviridae</i>	<i>Alphacryptovirus</i>	<i>White clover cryptic virus 1</i>	
		<i>Betacryptovirus</i>	<i>White clover cryptic virus 2</i>	
	—	<i>Varicosavirus</i>	<i>Lettuce big-vein virus</i>	
Negative-sense ssRNA	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Cytorhabdovirus</i>	<i>Lettuce necrotic yellows virus</i>	
	—	<i>Nucleorhabdovirus</i>	<i>Potato yellow dwarf virus</i>	
	<i>Bunyaviridae</i>	<i>Tospovirus</i>	<i>Tomato spotted wilt virus</i>	
	—	<i>Tenuivirus</i>	<i>Rice stripe virus</i>	
	—	Ophiovirus	<i>Citrus psorosis virus</i>	
Positive-sense ssRNA	<i>Sequiviridae</i>	<i>Sequivirus</i>	<i>Parsnip yellow fleck virus</i>	
		<i>Waikavirus</i>	<i>Rice tungro spherical virus</i>	
	<i>Comoviridae</i>	<i>Comovirus</i>	<i>Cowpea mosaic virus</i>	
		<i>Nepovirus</i>	<i>Tobacco ringspot virus</i>	
		<i>Fabavirus</i>	<i>Broad bean wilt virus 1</i>	
	<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	<i>Potato virus Y</i>	
		<i>Rymovirus</i>	<i>Ryegrass mosaic virus</i>	
		<i>Bymovirus</i>	<i>Barley yellow mosaic virus</i>	
		<i>Macluravirus</i>	<i>Maclura mosaic virus</i>	
		<i>Ipomovirus</i>	<i>Sweet potato mild mottle virus</i>	
		Tritimovirus	<i>Wheat streak mosaic virus</i>	
		<i>Luteoviridae</i>	<i>Luteovirus</i>	<i>Barley yellow dwarf virus—PAV</i>

		<i>Polerovirus</i>	<i>Potato leafroll virus</i>
		<i>Enamovirus</i>	<i>Pea enation mosaic virus — 1</i>
	<i>Tombusviridae</i>	<i>Tombusvirus</i>	<i>Tomato bushy stunt virus</i>
		<i>Carmovirus</i>	<i>Carnation mottle virus</i>
		<i>Necrovirus</i>	<i>Tobacco necrosis virus A</i>
		<i>Machlomovirus</i>	<i>Maize chlorotic mottle virus</i>
		<i>Dianthovirus</i>	<i>Carnation ringspot virus</i>
		<i>Avenavirus</i>	<i>Oat chlorotic stunt virus</i>
		<i>Aureusvirus</i>	<i>Pothos latent virus</i>
		<i>Panicovirus</i>	<i>Panicum mosaic virus</i>
	<i>Bromoviridae</i>	<i>Bromovirus</i>	<i>Brome mosaic virus</i>
		<i>Cucumovirus</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i>
		<i>Alfamovirus</i>	<i>Alfalfa mosaic virus</i>
		<i>Ilarvirus</i>	<i>Tobacco streak virus</i>
		<i>Oleavirus</i>	<i>Olive latent virus 2</i>
	<i>Closteroviridae</i>	<i>Closterovirus</i>	<i>Beet yellows virus</i>
		<i>Crinivirus</i>	<i>Lettuce infectious yellows virus</i>
	—	<i>Sobemovirus</i>	<i>Southern bean mosaic virus</i>
	—	<i>Marafivirus</i>	<i>Maize rayado fino virus</i>
	—	<i>Umbravirus</i>	<i>Carrot mottle virus</i>
	—	<i>Tobamovirus</i>	<i>Tobacco mosaic virus</i>
	—	<i>Tobravirus</i>	<i>Tobacco rattle virus</i>
	—	<i>Hordeivirus</i>	<i>Barley stripe mosaic virus</i>
	—	<i>Furovirus</i>	<i>Soil-borne wheat mosaic virus</i>
	—	<i>Pomovirus</i>	<i>Potato mop-top virus</i>
	—	<i>Pecluvirus</i>	<i>Peanut clump virus</i>
	—	<i>Benyvirus</i>	<i>Beet necrotic yellow vein virus</i>
	—	<i>Ourmiavirus</i>	<i>Ourmia melon virus</i>
	—	<i>Idaeovirus</i>	<i>Raspberry bushy dwarf virus</i>
	—	<i>Capillovirus</i>	<i>Apple stem grooving virus</i>
	—	<i>Trichovirus</i>	<i>Apple chlorotic leaf spot virus</i>
	—	<i>Vitivirus</i>	<i>Grapevine virus A</i>
	—	<i>Tymovirus</i>	<i>Turnip yellow mosaic virus</i>
	—	<i>Carlavirus</i>	<i>Carnation latent virus</i>
	—	<i>Potexvirus</i>	<i>Potato virus X</i>
	—	<i>Allexivirus</i>	<i>Shallot virus X</i>
	—	<i>Foveavirus</i>	<i>Apple stem pitting virus</i>
Viroids	<i>Pospiviroidae</i>	<i>Pospiviroid</i>	<i>Potato spindle tuber viroid</i>
		<i>Hostuviroid</i>	<i>Hop stunt viroid</i>
		<i>Cocadviroid</i>	<i>Coconut cadang-cadang viroid</i>
		<i>Apscaviroid</i>	<i>Apple scar skin viroid</i>
		<i>Coleviroid</i>	<i>Coleus blumei viroid 1</i>
	<i>Avsunviroidae</i>	<i>Avsunviroid</i>	<i>Avocado sunblotch viroid</i>
		<i>Pelamoviroid</i>	<i>Peach latent mosaic viroid</i>
*Names in bold text are of taxa newly named and/or described in the 7th ICTV Report.			

Appendice D

Illustration de différentes familles et genres qui infectent les plantes [ICTV] (Les virus des plantes sont groupés dans un seul ordre, 19 familles, 88 genres)



Appendice E

Le questionnaire

Enquête sur le dépérissement des agrumes

- ✓ Date :.....
- ✓ Verger exploité par :
- ✓ Localisation géographique du verger :.....
- ✓ Précédent cultural :
- ✓ Année de plantation :.....
- ✓ Porte-greffe utilisé :.....
- ✓ Variétés :.....
- ✓ Ecartement entre les rangs :.....
- ✓ Ecartement sur les rangs :.....
- ✓ Mode de conduite :.....
- ✓ Date habituelle de la taille :.....
- ✓ La parcelle a-t-elle subit un changement du mode de conduite :.....

Appendice F

Milieu de culture PDA

(Potato Dextrose Agar) (Rapilly, 1968) [129]

Composition du milieu :

- ✓ Pomme de terre 200g
- ✓ Dextrose 20g
- ✓ Agar (sigma) 20g
- ✓ Eau distillée 1000ml
- ✓ pH 6,8 et Autoclavage pendant 20 minutes à 120°C.

BNPRA-HMI selon Masago *et al*, [129]

Milieu de culture sélectif pour l'isolement de

Phytophthora Citrophthora & *Phytophthora Nicotianae*

Autoclaver 1 l de milieu PDA, et ajouter au milieu tiède :

Bénomyl	10 mg
Quintozène	25 mg
Nystatine	25 mg
Rifampicine	10 mg
Ampicilline	500 mg
Hymexazol	25 à 50 mg

Références bibliographiques

1. Khan, I.A., "Citrus genetics, Breeding and Biotechnology", CAB International Head office, Wallingford, Oxfordshire, UK, (2007), 381p.
2. Loussert, R., "Les agrumes, Production", Ed. science. Univ, Liban, (1989), vol 2, 280p.
3. Conférence des Nations Unies sur le Commerce Et le Développement « CNUCED », "Les agrumes", Food and Agriculture Organization of United Nations « FAO », (2007), 7p.
4. Ministère d'agriculture et du développement rural, "statistiques sur les agrumes", Algérie, (2008), 30p.
5. Ministère d'agriculture et du développement rural, "bilan de la production agrumicole 2007/2008", Algérie, (2008), 1p.
6. Ministère d'agriculture et du développement rural, "Rapport sur la situation du secteur agricole", Algérie, (2006), 8-33.
7. Loussert, R., "Les agrumes, Arboriculture", Ed. Lavoisier, Paris, (1987), vol 1, 109p.
8. Nicolosi, E., "Origin and Taxonomy of Citrus", University of Catania, Italy, In: Khan, I.A., "Citrus genetics, Breeding and Biotechnology", CAB International Head office, Oxfordshire, UK, (2007), chap. n°3, 30-55.
9. Allaya, M.L., Pradeilles, M.N., Debabi, L., Arfa, L., "Annuaire des économies agricoles", CIHEAM, IAMM, (1995), 341-345.
10. Chapot, H., "The citrus plant", In: "Citrus Technical Monograph", Ciba-Geigy Agrochemicals, (1975), n°4, 6-13.

11. Webber, H.J., "History and development of the citrus industry", In: Reuther, W., Batchelor, L.D. and Webber, H.J., (eds), "The citrus industry", University of California press, California, (1967), 1-39.
12. Praloran, J.C., "Les agrumes", Ed. Maison neuve et la Rose, France, (1971), 565p.
13. Nicolosi, E., Deng, Z.N., Gentile, A., La Malfa, S., Continella, G. and Tribulato, E. "Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers", *Theoretical and Applied Genetics*, vol.100, (2000), 1155-1166.
14. Lo Giudice, V., "Pest and diseases", IN: Dugo, G & Di Giacomo, A. (eds), "CITRUS, the genus citrus", Taylor & Francis, New York, (2002), 49-62
15. Swingle, W.T., "The botany of citrus and its wild relatives", In: Reuther, W., Batchelor, L.D. and Webber, H.J. (eds), "The Citrus Industry", University of California Press, California, (1967), 190–430.
16. Tanaka, T., "Contribution to the knowledge of *Citrus* classification". *Reports Citrologia*, (1961), 107–114.
17. Nagy, S. and Nordby, H.E., "Saturated and mono-unsaturated long-chain hydrocarbon profiles of lipids from orange, grapefruit, mandarin and lemon juice sacs", *Lipids* 7, (1972), 660–670.
18. Barrett, H.C and Rhodes, A.M., "A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated Citrus and its close relatives", *Systematic Botany* 1, (1976), 105–136.
19. Derocca-serra, D et Ollitrault, P., "L'amélioration des agrumes, les sources génétiques", *Fruits*, vol.47, (1992), 50p.

20. Berkani A., “possibilités de régulation d’*Aleurothrixus floccosus* MASK (Hom. Aleurodidae) en Algérie ”, Thèse.Doc.Sci.3ème cycle, Univ.Mrseille, (1989), 140p.
21. Institut technique d’arboriculture fruitière et de la vigne « ITAFV », “La production fruitière”, ITAFV, (2005).
22. Mutin G., “La Mitidja décolonisation et espace géographique”, Ed OPU, (1977), 587p.
23. CASSIN J.P., “variétés dans les différentes régions de la production”, fruits, n°4, (1984), 263-276.
24. Institut national de la recherche agronomique « INRA », “Audiovisuel - Le monde des agrumes”, INRA- France, (2010).
25. Chapot, H., “The citrus plant”, In: Citrus. Ciba-Geigy Agrochemicals, Basel, Switzerland, (1975), 6–13p.
26. Vacante, V., “Citrus Mites Identification, Bionomy and Control”, cabi, UK, (2010), 378p.
27. Loussert, R. “Les agrumes”, bailliere.ed, (1985), 135p.
28. Roistacher, C.N., “Graft-transmissible diseases of citrus Handbook for detection and diagnosis”, International organization of citrus virologists & Food and Agriculture Organization of the United Nations. Eds. Rome, (1991), 286p
29. Vidhyasekaran, P., “Concise Encyclopedia of Plant Pathology”, Food Products Press® and the Haworth Reference Press, New York, (2004), 619p.
30. Roistacher, C.N., “EcoPort slide shows”, (2010). www.ecoport.org

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

32. Wallace, J.M. "Virus and Virus like Disease" In: Reuther, W., Calavan, E.C., Carman, G.E., (eds), "The Citrus Industry Volume IV Crop Protection", University of California, USA, (1978), 67-184

33. Bové, J.M et Blondel, L., "Maladies à virus des citrus dans les pays du bassin méditerranéen", *Fruits* vol.22, N°3, (1967), 125-140.

34. Bové, J.M., "Virus and virus-like disease of citrus in the Near East Region", FAO, Rome, Italy, (1995), 518p.

35. Bar-Joseph, M.; Marcus, R.; Lee, R.F., "The continuous challenge of citrus tristeza virus control", *Annual Review of Phytopathology*, (1989), 27:291-316.

36. Bar-Joseph, M.; Roistacher, C.N.; Garnsey, S.M., "The epidemiology and control of citrus tristeza disease", In: *Plant virus epidemiology* (Ed. by Plumb, R.T.; Thresh, J.M.), Blackwell Scientific Publications, Oxford, Royaume-Uni pp, (1983), 61-72

37. Martelli, G.P and Gallitelli, D., "Emerging and Remerging Virus Diseases of Plants", In: Mahy, B.W.J and Vanregemortel, M.H.V, (eds), "Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology", Elsevier, USA, (2010), 412-417.

38. Dodds, J.A., Jordan, R.L., Roistacher, C.N., Jarupat, T., "Diversity of citrus tristeza virus isolates indicated by dsRNA analysis". *Intervirology*, (1987), 27:177-188.

39. Guerri, J., Moreno, P., Lee, R.F., "Identification of citrus tristeza virus strains by peptide maps of virion coat protein", *Phytopathology*, (1990), 80:692-698.

40. Ghorbel, R., L'opez, C., Fagoaga, C., Moreno, P., Navarro L., Flores, R., Penal, L., "Transgenic citrus plants expressing the citrus tristeza p23 protein exhibit viral-like symptoms". *Mol Plant Pathol*, (2001), 2:27–36
41. Permar, T.A., Garnsey, S.M., Gumpf, D.J., Lee, R.F., "A monoclonal antibody which discriminates strains of citrus tristeza virus", *Phytopathology*, (1990), 80:224-228.
42. OEPP/EPPO., "Fiches informatives sur les organismes de quarantaine, Citrus tristeza *Closterovirus*". Bulletin préparé par le CABI et l'OEPP pour l'UE sous contrat N°90/399003, (1996). 5p
43. EPPO., "European and Mediterranean Plant Protection Organization", (2010). www.eppo.org
44. Gottwald, T. R and Hughes, G., "A New Survey Method for Citrus Tristeza Virus Disease Assessment", Fourteenth IOCV Conference, (2000), 77- 87
45. Navarro, L., Juarez, J., Pina, J.A., Ballester, J.F., Arregui, J.M., "The citrus variety improvement programme in Spain", In: Timmer, L.W., Garnsey, S.M., Navarro, L, (eds), "*Proceedings of the 10th Conference of the International Organization of Citrus Virologists*", IOCV, Department of Plant Pathology, University of California, Riverside, USA, (1988), 400-406.
46. Fawcett, H.S., "Transmission of psorosis of citrus". *Phytopathology*, (1938), 28:669. (Abstract)
47. Doidge, E.M., "Scaly bark or psorosis of citrus trees in South Africa", Department of Agriculture and Forestry Science Bull, (1939), 208p.
48. Roistacher, C.N. & Calavan, E.C., "Cross protection studies with strains of concave gum and psorosis viruses". In: Proc. 3rd Conf. IOCV, Gainesville, Univ. Fla. Press. (1965). 154-161.

49. Fawcett, H.S., "New symptoms of psorosis indicating a virus disease of citrus", *Phytopathology*, (1933), 23: 930. (Abstract)
50. Fawcett, H.S. & Betancourt, A.A., "Comparative symptomatology of psorosis varieties on citrus in California", *Phytopathology*, (1943), 33:837-884.
51. Garnsey, S.M & Timmer, L.W., "Mechanical transmission of citrus Ringspot virus isolate from Florida, Texas and California" In: *Proceeding 8th Conf. IOCV*, Riverside, (1980), 174-179.
52. Passos, O.S., "Absence of young leaf symptoms of psorosis in the State of Bahia, Brazil": In: *Proceeding 3rd Conf. IOCV*, Gainesville Univ. Fla. Press (1965), 167-169.
53. Roistacher, C.N., "Psorosis-A", In: Bové, J.M. & Vogel, R., (eds), "Description and illustration of virus and virus-like diseases of citrus. A collection of color slides". Paris, I.R.F.A, SETCO-FRUIT, (1980).
54. Roistacher, C.N. & Nauer, E.M., "A comparison of certain sweet orange varieties as indicators for concave gum and psorosis viruses", *Plant Dis. Rep.* (1964), 48:56-59.
55. Timmer, L.W. & Beñatena, H.N., "Comparison of psorosis and other viruses causing leaf flecking in citrus", In: *Proc. Int. Soc, Citriculture*, (1977), 3: 930-935.
56. Djelouah, K., Potere, O., Boscia, D., D'Onghia, A.M., Savino, V., "Production of monoclonal antibodies to citrus psorosis-associated virus", In: *Proceedings of the Fourteenth Conference of the International Organization of Citrus Virologists*, Abstract IOCV Conference, Campinas, Brazil. (1998).
57. Derrick, K.S., Bransky, R.H., da Graça, J.V., Lee, R.F., Timmer, L.W., Nguyen, T.K., "Partial characterization of a virus associated with Citrus Ringspot", *Phytopathology*, (1988), 78:1298–1301.

58. Legarreta, G.G., Garcia, M.L., Costa, N., Grau, O., "A highly sensitive heminested RT-PCR assay for the detection of citrus psorosis virus targeted to a conserved region of the genome", *Journal of Virological Methods*, Instituto de Bioquímica y Biología Molecular, Argentina, (2000), 84 :15-22.
59. Zaneck, M.C., Pena, E., Reyes, C.A., Figueroa, J., Stein, B., Grau, O., Garcia, M.L., "Detection of *Citrus psorosis virus* in the northwestern citrus production area of Argentina by using an improved TAS-ELISA", *Journal of Virological Methods*, Instituto de Bioquímica y Biología Molecular, Argentina, (2006), 137 :245-251.
60. Figueroa, J., Foguet, L., Figueroa, A., Escobar, C., Stein, B., Roistacher, C.N., "Characterization of Some Psorosis and Concave Gum Isolates from Northwestern Argentina", In: *Proceedings of the 17th Conference, IOCV-Other Viruses*, Riverside, (2010), 7p.
61. Calavan, E.C. & Christiansen, D., "Variability of cachexia reaction among varieties of rootstocks within clonal propagations of citrus", In: *Proc. 3rd Conf. IOCV*, Gainesville, University of Florida Press, (1965), 76-85
62. Childs, J.F.L., "The cachexia disease of Orlando tangelo", *Plant Disease*, (1950), 34:295-298.
63. Childs, J.F.L., "Cachexia-Xyloporosis", Vol.1, In: Bové, J.M. & Vogel, R., (eds), "Description and illustration of virus and virus-like diseases of citrus. A collection of color slides". Paris, I.R.F.A, SETCO-FRUIT, (1980).
64. Roistacher, C.N., "The cachexia and xyloporosis disease of citrus-A review, In: Proc.10th Conf. IOCV, Riverside, California, USA, (1988), 116-124
65. Calavan, E.C., Frolich, E.F., Carpenter, J.B., Roistacher, C.N. & Christiansen, D.W., "Rapid indexing for exocortis of citrus", *Phytopathology*, (1964), 54:1359-1362

66. Roistacher, C.N., Calavan, E.C., Blue, R.L., "Citrus exocortis virus. Chemical inactivation on tools tolerance to heat and separation of isolates", *Plant Disease*, (1969), 53:333-336.
67. Semancik, J.S., "Citrus Exocortis Disease 1976 to 1986", In: Proc. 10th Conf. IOCV, Riverside, University of California, (1988), 136-151.
68. Fawcett, H.S. & Klotz, L.J., "Bark shelling of trifoliate orange", *California Citrographe*, (1948), 48:230
69. Saglio, P., L'Hospital, M., Laflèche, D., Dupont, G., Bové, J.M., Tully, J.G., Freundt, E.A., "*Spiroplasma citri* gen. and sp. n. a Mycoplasma-like organism associated with stubborn disease of citrus", *International Journal of Systematic Bacteriology*, (1973), 23,191-204.
70. Bové, J.M., "*Spiroplasma citri*. Identification", In: Bové, J.M. & Vogel, R., (eds), "Description and illustration of virus and virus-like diseases of citrus. A collection of color slides". Paris, I.R.F.A, SETCO-FRUITS, (1980).
71. Calavan, E.C., "Stubborn", In: Bové, J.M. & Vogel, R., (eds), "Description and illustration of virus and virus-like diseases of citrus. A collection of color slides". Paris, I.R.F.A, SETCO-FRUITS, (1980).
72. Lin, C.P. & Chen, T.A., Production of monoclonal antibodies against *Spiroplasma citri*. *Phytopathology*, (1985), 75(7): 848-851.
73. OEPP/EPPO., "Fiches informatives sur les organismes de quarantaine, *Spiroplasma citri*". Bulletin préparé par le CABI et l'OEPP pour l'UE sous contrat N°90/399003, (1996). 8p
74. Bové, J.M., "Stubborn and its natural transmission in the Mediterranean area and in the Near East", *FAO, Plant Protection Bulletin*, (1986), 34, 15-23.

75. Mello, A.F.S., Yokomi, R.K., Fletcher, R.K., "Assessment of Citrus Stubborn Disease Incidence in Citrus", In: *Proceedings of the 17th Conference, IOCV-Insect-Transmitted Procarvates*, Riverside, (2010), 8p.
76. Da Graça, J.V. and Korsten, L., "Citrus huanglongbing: review, present status and future strategies", *Diseases of Fruits and Vegetables, Volume I*, (2004), 229-245
77. Timmer, L. M., Garnsey, S.M., and Graham, J.H., "Compendium of Citrus Diseases. 2nd Edition, APS Press, St. Paul, MN, (2000), 128 pp
78. Bové, J.M., "Invited Review Huanglongbing: A Destructive, Newly-Emerging, Century-Old Disease of Citrus", *Journal of Plant Pathology*, (2006), 88: 7-37
79. APS, The American Phytopathological Society., "Recovery plan for Huanglongbing (HLB) or Citrus Greening caused by "*Candidatus*" Liberibacter africanus, L. asiaticus, and L. americanus", The American Phytopathological Society, (2006), 21p
80. Gottwald, T.R., Aubert, B., and Xue-Yaun, Z., "Preliminary analysis of citrus greening (Huanglungbin) epidemics in the People's Republic of China and French Reunion Island", *Phytopathology*, (1989), 79(6):687-693.
81. Gottwald, T.R., Irey, M.S., Gast, T., Parnell, S.R., Taylor, E.L., and Hilf, M.E., "Spatio-temporal Analysis of an HLB Epidemic in Florida and Implications for Spread", In: *Proceedings of the 17th Conference, IOCV*, Riverside, (2010), 13p
82. Lopes, S.A., and Frare, G.F., "Graft transmission and cultivar reaction of citrus to *Candidatus Liberibacter Americanus*", *Plant Dis.* (2008), 92:21-24

- 83.** Lopes, S. A., Frare, G. F., Bertolini, E., Cambra, M., Fernandes, N. G., Ayres, A. J., Marin, D. R., and Bové, J. M., “Liberibacters associated with citrus huanglongbing in Brazil: ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ is heat tolerant, ‘*Ca. L. americanus*’ is heat sensitive. *Plant Dis.* (2009), 93:257-262
- 84.** Folimonova, S. Y., Robertson, C. J., Garnsey, S. M., Gowda, S., and Dawson, W. O., “Examination of the responses of different genotypes of citrus to Huanglongbing (citrus greening) under different conditions”, *Phytopathology*, (2009) 99:1346-1354.
- 85.** Roistacher, C.N., “The economics of living with citrus disease: Huanglongbing (greening) in Thailand”, in: *Proceedings of the 13th conference of the International Organization of Citrus Virologists, Riverside*, (1996), 279-285.
- 86.** Lambais, M.R., Goldman, M.H.S., Camargo, L.E.A., Goldman, G.H., “A genomic approach to the understanding of *Xylella fastidiosa* pathogenicity”, *Current Opinion in Microbiology*, (2000), 3:459-462
- 87.** Oliveira, A.C., Vallim, M.A., “Quantification of *Xylella fastidiosa* from citrus trees by real-time polymerase chain reaction assay”, *Phytopathology*, (2002), 92:1048–1054.
- 88.** Araújo, W.L., Marcon, J., Maccheroni, W., Van Elsas, J.D., Van Vuurde J.W.L., Azevedo, J.L., “Diversity of endophytic bacterial populations and their interaction with *Xylella fastidiosa* in citrus plants”, *Appl Environ Microbiol*, (2002), 68:4909-4914.
- 89.** Ayres, A.J., “Le contrôle des maladies des agrumes au Brésil”, *Symposium sur les agrumes Chine/FAO*, (2001), 10p
- 90.** OEPP/EPPO., “Fiches informatives sur les organismes de quarantaine, *Xylella fastidiosa*”. *Bulletin préparé par le CABI et l’OEPP pour l’UE sous contrat N°90/399003*, (1996). 11p

91. He, C.X., Li, W.B., Ayres, A.J., Hartung, J.S., Viranda, V.S. and Teixeira, D.C., “Distribution of *Xylella fastidiosa* in citrus rootstocks and transmission of citrus variegated chlorosis between sweet orange plants through natural root grafts”. *Plant Disease*, (2000), 84:622–626.
92. Schaad, N.W., Postnikova, E., Lacy, G.H., Sechler, A., Agarkova, I., Stromberg, P.E., Stromberg, V.K., Vidaver, A.K., “Reclassification of *Xanthomonas campestris* pv. *Citri*...” *Systematic and Applied Microbiology*, (2005), 28:494-518
93. Schubert, T.S., Rizvi, S.A., Sun, X., Gottwald, T.R., Graham, G.H., Dixon, W.N., “Meeting the Challenge of Eradicating Citrus Canker in Florida-Again”, *Plant Disease*, (2001), 85:340-356
94. OEPP/EPPO., “Fiches informatives sur les organismes de quarantaine, *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*”, Bulletin préparé par le CABI et l’OEPP pour l’UE sous contrat N°90/399003, (1997). 8p
95. Polek, M., Vidalakis, G., Godfrey, K., “Citrus Bacterial Canker Disease And Huanglongbing (Citrus Greening)”, University of California, Division of agriculture and natural resources, (2007), 12p
96. Li, W., Brlansky, R.H., Hartung, J.S., “Amplification of DNA of *Xanthomonas axonopodis* pv. *Citri* from historic citrus canker herbarium specimens”, *Journal of Microbiological Methods*, (2006), 65:237– 246
97. Dunger, G., Arabolaze, A.L., Gottig, N., Orellano, E.G., Ottado, J., “Participation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* *hrp* cluster in citrus canker and nonhost plant responses”, *Plant Pathol*, (2005), 54:781–788
98. Mavrodieva, V., Levy, L. and Gabriel, D.W., “Improved sampling methods for real-time polymerase chain reaction diagnosis of citrus canker from field samples”, *Phytopathology*, (2004), 94:61–68

99. Coletta-Filho, H.D., Takita, M.A., de Souza, A.A., Neto, J.R., Destefano, S.A.L., Hartung, J.S. and Machado, M.A., “Primers based on the rpf gene region provide improved detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in naturally and artificially infected citrus plants. *Journal of Applied Microbiology*, (2006), 100:279–285
100. Siciliano, F., Torres, P., Sendin, L., Bermejo C., Filippone, P., Vellice, G., Ramallo, J., “Analysis of the molecular basis of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* pathogenesis in *Citrus limon*”, *Electronic Biotechnology*, (2006), 19:3, 20p
101. Klotz, L.J. “Fungal, Bacterial, and Nonparasitic Diseases and Injuries originating in the Seedbed, Nursery and Orchard” In: Reuther, W., Calavan, E.C., Carman, G.E., (eds), “The Citrus Industry Volume IV Crop Protection”, University of California, USA, (1978), 67-184.
102. Ippolito, A., Nigro, F., Lima, G., “Influence of the scion on the susceptibility of sour orange rootstock to *Phytophthora gummosis* and root rot”, *Phytopathologia Mediterranea*, (1997), 36:81–86.
103. Pena, L., Cervera, M., Ghorbel, R., Dominguez, A., Fagoaga, C., Juarez, J., Pina, J.A., Navarro, L., “Genetic transformation” In: Khan, I.A., “Citrus genetics, Breeding and Biotechnology”, CAB International Head office, Oxfordshire, UK, (2007), chap. n°15, 340-355.
104. Strange, R.N., “Introduction to Plant Pathology”, John Wiley & Sons Ltd, UK, (2003), 1-31.
105. International Organization of Citrus Virologists <http://www.ivia.es/iocv/>
106. Erwin, D.C., Ribeiro, O.K., “Phytophthora Diseases Worldwide”, APS Press, the American Phytopathological Society., St. Paul, MN, (1996), 562 pp.
107. Graham, J.H., Menge, J.A., “Root diseases”, In: Timmer, L.W & Duncan, L.W., (eds), “Citrus Health Management”, APS Press, Inc. St. Paul, MN, (1999), 126-135

- 108.** Graham, J.H., Timmer, L.W., “Phytophthora diseases of citrus”, In: Kumar, J., Chaube, H.S., Singh, U.S & Mukhopodhyay, A.N., (eds), “Plant Diseases of International Importance, Vol. III, Diseases of Fruit Crops”, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, (1992), 250-269.
- 109.** Timmer, L. W., Graham, J. H., “Fungal diseases of citrus that resemble systemic, graft-transmissible diseases”, Department of Plant Pathology, University of Florida, IOCV, USA, (2006),
http://www.ivia.es/iocv/enfermedades/Fungal_diseases/verfoto.php?fichero=01
- 110.** Lutz, A., Menge, J., “Citrus root health vol. II. Phytophthora root rot”, Citrograph, (1986), 72:33-39.
- 111.** Agrios, G.N., “Root Rots of Trees” In: “Plant Pathology”, Fifth edition, Elsevier, University of Florida, USA, (2005), 602-611.
- 112.** Dyakov, Y.T., Dzhavakhiya, V.G., Korpela, T., (eds), “Molecular basis of plant immunization”, In: “Comprehensive and Molecular Phytopathology”, Elsevier, UK, (2007), 423-438.
- 113.** Migheli, Q., Cacciola, S.O., Balmas, V., Pane, A., Ezra, D., Magnano di San Lio, G., “Mal secco disease caused by *Phoma tracheiphila*: A potential threat to lemon production worldwide”, APS, *Plant Disease*, (2009), 93(9):852-867.
- 114.** EPPO/OEPP., “*Deuterophoma tracheiphila*”, Data Sheets on Quarantine Pests, CABI and EPPO for the EU, (2007), under Contract 90/399003, 5p.
- 115.** Ippolito, A., De cecco, V., Salerno, M., “Comportamento di eventuali portinnesti del limone verso infesione di mal secco”, *Informatore Fitopatologico*, (1991), 9:23-26.
- 116.** Gentile, A., “In vitro selection of nucellar lemon callus and regeneration of plants tolerant to *Phoma tracheiphila* toxin”, In: Proceedings of the International Society of Citriculture, (1992), 150–153.

117. Balmas, V., Scherm, B., Ghignone, S., Ould Mohamed Salem, A., Cacciola, S. O., and Migheli, Q., "Characterization of *Phoma tracheiphila* by RAPD-PCR, microsatellite primed PCR and ITS rDNA sequencing and development of specific primers for in planta PCR detection", *Eur. J. Plant Pathol*, (2005), 111:235-247.
118. Tusa, N., Fatta del Bosco, S., Nigro, F., and Ippolito, A., "Response of cybrids and somatic hybrids of lemon to *Phoma tracheiphila* infections", *HortScience* 35, (2000), 125–127.
119. Crescimanno, F.G., Somma, V., and Calabrese, F. "Preliminary research on resistance of some rootstocks to Mal secco", In: *Proceedings I Congreso Mundial de Citricultura*, Murcia-Valencia, Spain, (1973), 119–120.
120. De Cicco, V., Paradies, M., and Salerno, M., "Behaviour of some lemon rootstocks towards Mal secco root infections: preliminary results", In: *Proceedings of the International Society for Citriculture*, (1984), 428–430.
121. Ippolito, A., Maurantonio, V., D'Anna, R., "Role of infected seeds of citrus rootstocks in the spread of mal secco disease", *International Society of Citriculture*, (1992), 2: 877-878.
122. Ippolito, A., De Cicco, V., Gallitelli, D., "Partial characterization of *Phoma tracheiphila* with properties of hypo virulence", In: Goren, R., and Mendel, K., (eds), *Proceeding of the sixth international citrus congress*, Middle-Est, International Society of Citriculture, Italy, (1988), 1361-1365.
123. Fermino Carlos, E., "Transcriptional profiling on trees affected by citrus blight and identification of an etiological contrast potentially associated with the disease", Phd thesis, University of Florida, (2004), 103p
124. OEPP/EPPO., "Fiches informatives sur les organismes de quarantaine, Citrus blight disease", *Bulletin préparé par le CABI et l'OEPP pour l'UE sous contrat N°90/399003*, (1996). 6p

- 125.** Benchabane, M., Fadil, D., Lamine, S., Yahou, S., Guettache, T. & Toua, D., "Etat du dépérissement des agrumes dans la région agrumicole de la Mitidja (Algérie)", Symposium Méditerranéen sur la Protection Phytosanitaire des agrumes, Rabat, Maroc, (2008), 81-91
- 126.** Ippolito, A., "Dannosità delle malattie", lecture presentation, Università degli Studi di Bari, (2010), 18p
- 127.** Pollastro, S., Pichierri, A., Masiello, N., Habib, W., Carlucci, A., Lazzizzera, C., Frisullo, S., Faretra, F., "Il mal dell'esca della vite: interventi di ricerca e sperimentazione per il contenimento della malattia (Mesvit), Sud Stampa, Bari, Italia, (2007), pp.32
- 128.** Gottwald, T.R., Bergamin-Filho, A., "Quantitative epidemiology tools: Their application and interpretation for citrus diseases", International Organization of Citrus Virologists, IOCV, (2010), 93p.
- 129.** Davet, P; Rouxe, F., "Détection et isolement des champignons du sol", INRA, Paris, (1997), 177p
- 130.** Barnett, H.L., Hunter, B.B., "ILLUSTRATED GENERA OF IMPERFECT FUNGI", Fourth edition, Burgess publishing company, (1996), 218p.
- 131.** Leslie, J.F., Summerell, B.A., and Bullock, S., "Species Descriptions", In: "The *Fusarium* Laboratory Manual", Blackwell Publishing, (2006), 121-274
- 132.** Dommergues, Y., Weinhard, P., "rapport préliminaire sur le dépérissement des citrus dans les vertisols Uruguayens", centre de pédologie biologique, O.R.S.T.O.M, (1970), 8p
- 133.** Menge, J.A., Nemeč, S., "Citrus", In : Hillocks, R.I and Waller, J.M., (eds), "soil borne diseases of tropical crops", Cab International, Wallingford, UK, (1997), 185-227

- 134.** Hughes, G., Gottwald, T.R and Garnsey, S.M., “16-Development of Methods and Models and Their Application to Disease Problems in the Perennial Citrus Crop System”, University of Edinburgh and USDA, USA, In: Jeger, M.J and Spence, N.J., “Biotic Interactions in Plant-Pathogen Associations”, CABI, Oxford University Press, US, (2001), chap.n°16, 307-329.
- 135.** Roos, J., Hopkins, R., Kvarnheden, A., Dixelius, C., “The impact of global warming on plant diseases and insect vectors in Sweden”, Euro J Plant Pathol, (2011), 129: 9-19
- 136.** Agrios, G.N., “Wood Rots and decays caused by Basidiomycetes” In: “Plant Pathology”, Fifth edition, Elsevier, University of Florida, USA, (2005), 604-611.
- 137.** Futch, S.H., Graham, J.H., Duncan, L.W., and Timmer L.W., “Ganoderma Wood-Rotting Fungi on Citrus Stumps”, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, (2006), 3p
- 138.** Elena, K., Fischer, M., Dimou, D., Dimou, D.M., “Fomitiporia mediterranea infecting citrus trees in Greece”, Phytopathologia Mediterranea, (2006), 35-39
- 139.** Nemeč, S., Jabaji-Hare, S., Charest, P.M., “ELISA and immunocytochemical detection of *Fusarium solani*-produced naphthazarin toxins in citrus trees in Florida”, Phytopathology, (1991), 81:1497-1503
- 140.** Janse, J.C., Labuschagne, N and Nemeč, S., “Occurrence of *Fusarium*-produced naphthazarins in citrus trees and sensitivity of rootstocks to isomarticin in relation to citrus blight”, Plant Pathology, (2001), 50:258-265
- 141.** Dandurand, L.M and Menge, J.A., “Influence of *Fusarium solani* on Citrus Root Growth and Population Dynamics of *Phytophthora parasitica* and *Phytophthora citrophthora*”, Department of Plant Pathology of California (USA), (1993), 7p

142. Baker, R.A., Tatum, J.H and Nemeč, S., "Toxin production by *Fusarium solani* from fibrous roots of Blight-diseased citrus", *Physiology and Biochemistry*, APS, (1981), 951-954
143. Graham, J.H., Timmer, L.W., Young, R.H., "Necrosis of major roots in relation to citrus blight", *Plant Disease*, (1983), 1273-1276.
144. Nemeč, S., Baker, R.A., Burnett, H., "Pathogenicity of *Fusarium solani* to citrus roots and its possible role in Blight etiology", *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, (1980), 93:36-41
145. Burnett, H.C., Nemeč, S., Patterson, M.A., "Review of Florida citrus blight and its association with soil edaphic factors, nutrition and *Fusarium solani*", *Tropical Pest Management*, (1982), 28:416-422