

CARACTÉRISATION DE SOUCHES ALGÉRIENNES LOCALES DE PSOROSE (CPSV)

LARBI Djamila^{1*}

1. Département d'Agronomie, Faculté des Sciences, Université 20 Août 1955 El-Hadaiek Skikda, Algérie

Reçu le 02/07/2021, Révisé le 09/01/2022, Accepté le 16/04/2022

Résumé

Description du sujet : La psorose Citrus psorosis virus (CPSV) est une maladie virale affectant les agrumes présente en Algérie, et dont, la souche virale locale est inconnue. Des travaux de caractérisation biologique, sérologique et physico-chimique de souches locales ont été réalisés avec la collaboration de l'Institut Agronomique Méditerranéen de Bari Italie (IAMB).

Objectifs : Caractérisation de souches locales de CPSV et leur confrontation avec d'autres souches Méditerranéennes avec essai de produire un antiserum spécifique à la souche locale.

Méthodes : Des sources de psorose ont fait l'objet de caractérisation biologique sur indicateurs ligneux et herbacés. La caractérisation sérologique a été réalisée à l'aide d'une gamme d'anticorps monoclonaux, produits à l'Université de Bari et le Conseil National de la Recherche de Turin (CNR) en Italie, enfin une caractérisation physico-chimique avec observation au microscope électronique.

Résultats : La caractérisation biologique a induit une réaction positive sur les indicateurs ligneux et herbacés. Résultats confirmés par ELISA. Les analyses sérologiques ont révélé une homogénéité entre les souches elles mêmes, leur comparaison avec d'autres souches ayant une provenance diverse, a fait ressortir clairement une similitude des souches Algériennes avec les isolats Marocains, Egyptiens et Turques. La caractérisation physico-chimique a mis en évidence la présence du virus avec basse concentration ne permettant pas de produire l'antiserum.

Conclusion : L'étude a permis de caractériser la souche virale locale de CPSV et sa comparaison avec les souches méditerranéenne. La basse concentration du virus obtenue s'est avérée insuffisante pour produire un antiserum.

Mots clés : CPSV ; *Citrus* ; souches locales ; caractérisation ; Algérie

CHARACTERIZATION OF LOCAL ALGERIAN STRAINS OF PSOROSIS (CPSV)

Summary

Description of the subject: Psorosis Citrus psorosis virus (CPSV) is a viral disease affecting citrus fruits present in Algeria whose local viral strain is unknown. Biological, serological and physico-chemical characterization work of local strains was carried out with the collaboration of the Mediterranean Agronomic Institute of Bari (IAMB) in Italy.

Objective: Characterization of local strains of CPSV and their comparison with other Mediterranean strains with an attempt to produce an antiserum specific to the local strain.

Methods : Sources of psorosis have been the subject of biological characterization on woody and herbaceous indicators. The serological characterization was carried out using a range of monoclonal antibodies, produced at the University of Bari and the National Research Council of Turin (CNR) in Italy and finally a physico-chemical characterization with observation using an electron microscope.

Results : The biological characterization induced a positive reaction on the woody and herbaceous indicators. Results confirmed by ELISA. The serological analyzes revealed a homogeneity between the strains themselves, their comparison with other strains having a diverse origin clearly highlights a similarity of the Algerian strains with the Moroccan, Egyptian and Turkish isolates. The physic-chemical characterization highlighted the presence of the virus with low concentration which does not allow to produce the antiserum.

Conclusion : The study made it possible to characterize the local viral strain of CPSV and its comparison with the Mediterranean strains. The low virus concentration obtained was found to be insufficient to produce an antiserum.

Keywords: CPSV; *Citrus*; local strains; characterization; Algeria

* Auteur correspondant: LARBI Djamila, E-mail : d.larbi@univ-skikda.dz

INTRODUCTION

La psorose des agrumes est une maladie virale à distribution mondiale et la plus économiquement importantes des maladies transmissibles par greffage [1]. C'est le premier des virus des agrumes connu et la plus ancienne maladie des agrumes étudiée [2]. Selon Fawcett [3] la psorose a été observée pour la première fois en Floride et en Californie au début des années 1890 et nommée Psorose en fonction du grec psora = ulcère ou gale. La maladie était communément appelée écorce squameuse, est probablement originaire de l'Orient et s'est propagée dans le monde entier par la distribution d'espèces et de variétés d'agrumes. Derrick et al. [4 et 5], ont été les premiers à visualiser le virus de la psorose et ont proposé une nouvelle classification des virus associés à la psorose sous le nom de Spirovirus. Milne et al. [6], ont proposé un nouveau genre pour le virus de la psorose "Ophiovirus".

Fawcett [3] a prouvé pour la première fois la transmissibilité par inoculation de greffons avec des bourgeons d'arbres infectés à des arbres sains. Selon Roistacher [1] La transmission mécanique de certains isolats de psorose montre que la plupart des souches ou isolats ne se transmettent pas mécaniquement. La psorose peut être asymptomatique sur de nombreux cultivars d'agrumes et porte-greffes pendant 7 à 50 ans ou plus [1]. Pendant de nombreuses années, l'indexage biologique sur indicateurs d'agrumes était la seule méthode de diagnostic disponible [2], mais avec le progrès technologique, des méthodes sérologiques et moléculaires sont aujourd'hui disponibles, telles que la méthode immuno-enzymatique (ELISA) D'Onghia et al. [7]; Potere et al. [8]; Alioto et al. [9 et 10] ; Djelouah et al. [11], et la réaction en chaîne de la polymérase par transcriptase inverse RT-PCR Garcia et al. [12] ; Legarreta et al. [13]. Un protocole ELISA amélioré par le dosage immunologique direct de transfert de tissu DTBIA a été présenté par Cambra et al. [14].

Enfin, D'Onghia et al. [15], ont amélioré le test DTBIA du virus de la psorose en utilisant des ovaires de fleurs fermées qui étaient les plus sensibles pour donner une réaction ELISA fortement positive. Des études récentes montrent une corrélation remarquable dans la détection de la psorose par ELISA par rapport à l'indexation biologique pour un grand nombre de sources de psorose connues dans de nombreux pays [11 et 13]. La maladie du complexe de la psorose (Psorose A, Psorose B et Rinspot) reste contrôlable uniquement par la certification et l'indexage [1]. En Algérie, la psorose a été signalée par divers auteurs, Bricet [16], Lamour [17], Blondel [18], Frezal [19], Châpot [20] et Bové [21], qui ont indiqué que les arbres malades étaient en général des orangers doux et des clémentiniers dépassant 15 ans d'âge et présentant de graves symptômes d'écaillage d'écorce chez la variété Valence late à Maison Carré (El-Harrach), sur les Thomson navel à Boufarik et sur les clémentines à Orleanville (Chlef). Notre étude a pour objectif la caractérisation des souches locales du virus de la psorose (CPsV) et leur comparaison avec d'autres souches méditerranéennes avec possibilité de production d'antisérum spécifique aux souches algériennes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel végétal utilisé

Quatre sources de variétés oranger *Hamlin* doux greffées sur le bigaradier, avec des symptômes d'écaillage de l'écorce d'intensités différentes sur le tronc et les branches (Fig. 1 a et b), ont été observés sur les feuilles, associés à la psorose des agrumes. Ces échantillons ont été soumis à une caractérisation biologique, sérologique et physico-chimique. Les sources de la psorose algérienne (Ps Alg1, Ps Alg2, Ps Alg3, Ps Alg4) prélevées au niveau de la région Boufarik (Algérie), ont été conservées dans une serre d'indexation où la température et l'humidité étaient contrôlées.

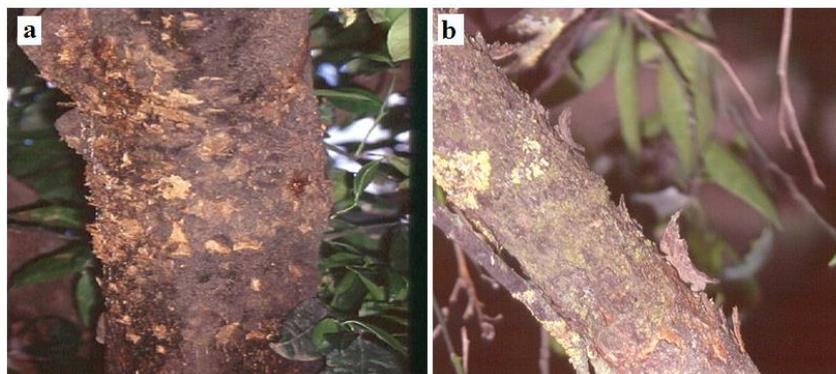


Figure 1 : Symptômes d'écaillage sur *Citrus*

a : Desquamation corticale sur tronc (oranger doux), b : Desquamation corticale sur branches (oranger doux)

2. Caractérisation biologique

2.1 Indexage ligneux

L'indexage a été réalisé par greffe de placage sur quatre indicateurs ligneux (Tableau 1) constituant l'éventail d'hôtes des principales maladies transmises par greffage chez les agrumes dans le bassin méditerranéen [1]. Les plants greffés ont été élevés dans une serre

d'indexage où les conditions de température sont contrôlées ; deux tranches de température ont été examinées, à savoir 22-24°C pour les virus et les agents analogues, 32-35°C pour les viroïdes et les procaryotes du phloème ; des observations des symptômes ont été effectuées quotidiennement sur les nouvelles pousses pendant une période d'un mois et demi.

Tableau 1 : Liste des indicateurs ligneux utilisés

Indicateurs	
Lime Mexicaine	<i>Citrus aurantifolia</i>
Oranger Mme vinous	<i>Citrus sinensis</i>
Citranger troyer	<i>Poncirus trifoliata</i>
Dweet tangor	<i>Citrus reticulata</i> × <i>Citrus sinensis</i>

2.2. Transmission mécanique sur les indicateurs herbacés

Le virus de la psorose (CPsV) reste difficile à transmettre mécaniquement [1] bien que certains isolats puissent être transmis, principalement sur *Chenopodium sp* et *Gomphrena globosa* [4, 7]. Quatorze plantes herbacées appartenant à quatre familles botaniquement différentes ont été utilisées pour un test de transmission d'une souche algérienne

(Tableau 2). La transmission sur des indicateurs herbacés a été réalisée par l'utilisation de carborundum comme abrasif et l'inoculation de plantes saines par le jus d'agrumes infectés, obtenus dans le tampon d'extraction K_2HPO_4 à 0,2% DIECA [7]. Les plantes inoculées ont été cultivées dans des serres climatisées à 25°C. Des observations de réactions induites ont été effectuées quotidiennement pendant un mois.

Tableau 2 : Liste des plantes herbacées utilisées pour la transmission mécanique

Famille botanique	Espèces
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium quinoa</i>
	<i>C bushmanium</i>
	<i>C. amaranticolor</i>
	<i>C. foetidum</i>
	<i>C. capitatum</i>
	<i>C. berlandei</i>
Amaranthaceae	<i>Gomphrena globosa</i>
Leguminosae	<i>Phaseolus vulgaris</i>
	<i>Vigna unguiculata</i> cv blackeye
	<i>Vigna unguiculata</i>
Solanaceae	<i>Nicotiana clevelandii</i>
	<i>N. glutinosa</i>
	<i>N. occidentalis</i>
	<i>N. benthamiana</i>

3. Caractérisation sérologique des sources locales infectées de CPsV

La caractérisation des quatre sources locales de psorose a été réalisée grâce à l'utilisation d'une gamme d'anticorps monoclonaux, produits à l'Université de Bari (Mabs Ps 1, 4, 6, 7, 8, 11,

12, 13, 14, 15, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 31, 32, 34) [15] et le CNR de Turin (Mabs 2A et 5B) [18]. Une confrontation avec différentes sources étrangères a été faite pour situer les souches algériennes par rapport à d'autres sources méditerranéennes (Tableau 3).

Tableau 3 : Liste des sources de psorose confrontées avec les sources Algériennes

Sources	Espèces/Variétés	Origine
IAM 191 X	Oranger Navelina	Italie
IAM 195X	Oranger Navelina	Italie
ALB 25	Oranger doux	Albania
ALB 27	Oranger doux	Albania
ESS2 MAR	Mandarine	Maroc
Ps TUR 4	Oranger Navelina	Turquie
Ps EGY 1	Oranger Valencia	Egypte
VIV Mal	Pamplemoussier	Italie
121 P ESP	Clémentinier	Espagne

Les plaques ELISA ont été sensibilisées avec un antisérum polyclonal spécifique au virus de la psorose (A 322) [12], dilué à 1: 5000 dans un tampon de sensibilisation et incubé pendant 2 h à 37°C. La deuxième étape correspond au dépôt de l'antigène formé par le jus de l'explant infecté broyé dans du tampon d'extraction (1/10 w/v) contenant du PBS; des plaques remplies de jus ont été incubées à 4°C pendant une nuit. La troisième étape a été le dépôt d'anticorps monoclonaux spécifiques contre le virus du CPsV, préalablement dilués dans le tampon de conjugaison, après incubation des plaques à 37°C pendant 2 h et avant le développement de la réaction, une IgG anti-souris conjuguée à la phosphatase alcaline diluée à 1: 1000 dans le tampon de conjugaison a été ajoutée et incubée pendant 2 h à 37°C. La réaction colorimétrique a été développée par l'addition du substrat dilué de 4-nitrophénylphosphate Na₂ dans le tampon associé. La lecture a été faite par spectrophotomètre à la longueur d'onde de 405 nm à 15, 30, 60 et 120 min, après ajout du substrat. La réaction a été considérée comme positive lorsque le rapport infecté sur sain était supérieur à trois fois le négatif.

4. Caractérisation physicochimique

4.1 Purification du virus

Suivant le protocole de Djelouah et al. [11], la purification d'un isolat local de CPsV (Ps Alg1) a été effectuée par l'utilisation de plantes infectées de *Chenopodium amaranticolor* présentant des symptômes systémiques sur les feuilles apicales, d'autre part, la production d'un antisérum polyclonal nécessite une purification optimale du virus; à cet effet, il a fallu apporter certaines modifications au protocole cité ci-dessus,

en doublant les étapes de clarification et de concentration du virus. L'extraction du virus a été effectuée à partir de feuilles fraîches de *C. amaranticolor* récoltées environ 20 jours après l'inoculation. Les tissus infectés ont été homogénéisés en présence de tampon Tris-HCl 0,1 M pH 8 contenant 0,1% de cystéine, 0,1% d'acide ascorbique, 0,5% de 2-mercaptoéthanol et 0,1% de Nonidet P40 (1/8 p / v). Le mélange résultant a été filtré à travers trois couches de gaze puis centrifugé à 10 000 tr / min pendant 10 minutes (Beckman Rotor JA 14). Le sédiment obtenu a été jeté et le surnageant a été clarifié deux fois de suite à l'aide de 10% (v / v) de trichloro-trifluoréthanol (Fréon 113) et centrifugé à 10 000 tr / min pendant 10 min. La concentration du virus a été effectuée deux fois de suite, en dissolvant le surnageant clarifié dans la suspension de 10% de polyéthylène glycol (PEG 6000), 1% de chlorure de sodium (NaCl) et 0,2% de Nonidet P 40 et mis sous agitation pendant 45 minutes, puis centrifugé à 10 000 tr / min pendant 10 min. Le précipité obtenu a été remis en suspension dans un tampon Tris HCl 0,08 pH 8 à 4°C pendant une nuit, et soumis à des cycles alternés de centrifugation basse et haute (8000 tr / min pendant 10 minutes avec un rotor de type JA 20.1, et 35 000 tr/min/60 minutes, rotor LKB 70,1 Ti). Le culot obtenu a été remis en suspension dans un petit volume de tampon de remise en suspension utilisé précédemment, et concentré sur un gradient de densité de sulfate de césium (10-40%) à l'aide d'un rotor à bras oscillant (Beckman SW 41) à 35 000 tr/min pendant 15h. Le matériau obtenu a été concentré par centrifugation (40000 tr/min pendant 2h) et les culots ont été remis en suspension dans un petit volume de tampon Tris HCl 0,05 M pH 8.

La concentration du virus a été déterminée par lecture au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 260 nm et un coefficient d'extinction de 10, ainsi qu'un test ELISA utilisant le kit Agritest [8].

4.2 Microscopie électronique

Selon le protocole établi par Milne [6], la grille de cuivre (400 mesh), recouverte d'un film de carbone a été flottée sur une goutte de la préparation virale purifiée pendant 3 à 4 min, puis rincée à l'eau distillée et colorée négativement au 2% d'acétate d'uranyle, avant d'être observé au microscope électronique.

RÉSULTATS

1. Caractérisation biologique

Les sources de psorose algériennes ont été testées sur des indicateurs ligneux et herbacés, l'indexage reste le moyen efficace dans l'extériorisation de symptômes de toutes les maladies affectant le végétal. Les plantes indicatrices sont les yeux qui nous permettent de voir les maladies des plantes [1].

1.1 Indexation

La caractérisation biologique des sources de psorose Algériennes (Ps Alg 1; Ps Alg 2, Ps Alg 3, Ps Alg 4) par leur indexage sur quatre indicateurs ligneux a induit une réaction positive sur deux des indicateurs utilisés, alors que les indicateurs *Citrange troyer* et la lime Mexicaine (*Mexican lime*) n'ont développé aucun symptôme (Tableau 4)

Les sources testées ont induit des symptômes associés à la psorose, telles que, les décolorations périnervales qui ont été observés sur *Dweet tangor* (Fig. 2) et également sur l'oranger doux *Mme Vinous* pour les quatre sources. Par contre, deux sources seulement (Ps Alg 1, Ps Alg 4) ont montré des symptômes de décoloration foliaires en forme de feuille de chêne (en anglais *Oak leaf patterns*), sur les indicateurs *Dweet tangor* et *Oranger Mme Vinous*, qui seraient associées à la présence d'une des maladies composant le complexe *Cristacortis*, *Impietratura* et *Concavité gommeuse* (Fig. 3

Tableau 4. Résultats de l'Indexage biologique sur indicateurs ligneux

Sources	Dweet tangor	Oranger Mme Vinous	Limette Mexicaine	Citrange troyer
Ps Alg 1	DP/ S. Chêne	DP/ S. chêne	N	N
Ps Alg 2	DP	DP	N	N
Ps Alg 3	DP	DP	N	N
Ps Alg 4	DP/ S. chêne	DP/ S.chêne	N	N

DP: Décoloration périnervales ; S. Chêne: symptôme en forme de feuille de chêne; N: Négatif



Figure 2 .Décolorations périnervales Espèce (*Dweet tangor*)

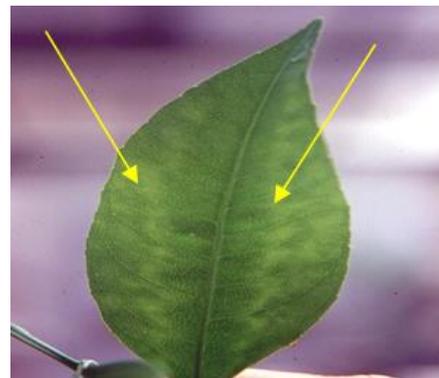


Figure 3. Symptôme forme de feuille de chêne Espèce (*Oranger Mme Vinous*)

1.2. Transmission mécanique sur les plantes herbacées

Deux souches Ps Alg 1 et Ps Alg 3 ont pu être transmises mécaniquement à des plantes herbacées appartenant à la famille botanique des *Chenopodiaceae*; des lésions locales chlorotiques et nécrotiques ont été observées sur *Chenopodium quinoa*,

C. bushmanium, alors que des symptômes systémiques de décoloration foliaires sur les nouvelles feuilles apicales de *C. amaranticolor* ont été induites seulement par la souche Ps Alg 1 (Fig. 4).

Les symptômes observés sur les plantes herbacées présentant ce type de réaction positive ont été confirmés par le test ELISA [8]. L'extériorisation des symptômes semble être plus rapide pendant la période fin automne et début été, où les lésions locales se sont développées dès le quatrième jour après

inoculation, alors que, pendant les autres périodes de l'année, des lésions ont commencé à se manifester vers le huitième jour. Une rétro-inoculation des autres indicateurs n'ayant montré aucun symptôme apparent, a été effectuée sur *Chenopodium quinoa*, confirmant le test négatif de ces derniers.

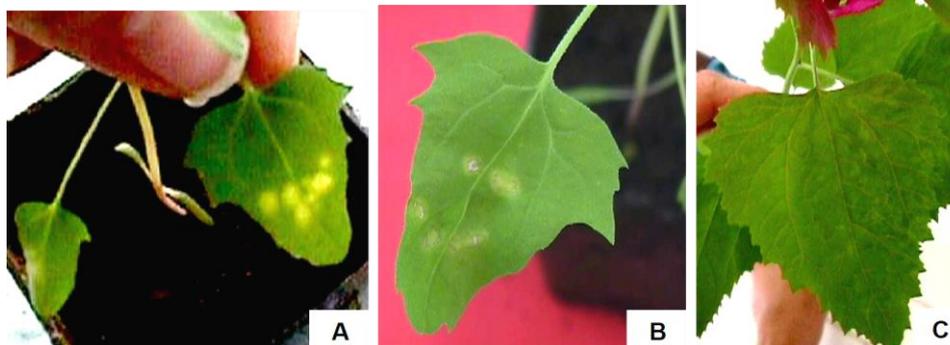


Figure 4 : Types de symptômes observés à travers l'inoculation mécanique des souches Ps Alg1 et Ps Alg3

a : Lésions locales chlorotiques sur *C. quinoa*; b : Lésions locales nécrotiques sur *C. quinoa*; c : Décoloration foliaires sur *C. amaranticolor*

2. Caractérisation sérologique

Les analyses sérologiques réalisées sur les quatre sources locales de psorose en utilisant les 27 anticorps monoclonaux spécifiques du virus CPsV ont révélé une homogénéité entre les souches elles-mêmes (Tableau 5). Les résultats indiquent clairement que les souches PsAlg1 et PsAlg2 sont identiques, parcontre, PsAlg3 et PsAlg4 sont différentes de celles-ci par la réaction négative aux Mabs Ps 4, 22, 32, 34 et 2A; toutefois, ces 4 souches ont réagi de la même manière avec les autres anticorps monoclonaux; parmi ces derniers, le Mab Ps 29 utilisé par la firme Agritest comme kit commercial à large spectre pour la détection massive du virus de la psorose dans le bassin méditerranéen, et qui a réagi positivement avec

les sources locales testées; ceci nous donne une idée de l'efficacité du kit. La comparaison sérologique des sources algériennes avec d'autres souches ayant une provenance diverse, fait ressortir clairement, une similitude de la réaction des souches algériennes avec les isolats égyptien (Ps Egy.1) et turc (Ps Tur.4). Quant à la souche marocaine (E2S2 Mar), celle-ci semble complètement identique aux deux premières. Les autres souches (121P SP, Viv Mal, Alb.25, Alb.27) semblent réagir d'une façon différente, puisque les souches albanaises (Alb 25, Alb 27) semblent être beaucoup plus proches des souches italiennes, alors que les autres les souches (121P SP, ViV Mal.) sont similaires entre elles et réagissent différemment.

Tableau 5 . Résultats de la caractérisation sérologique des sources locales de psorose confrontées avec d'autres d'origine Méditerranéenne

Sources	Mabs UBA																											Mabs CNR Turin	
	1	4	6	7	8	11	12	13	14	15	17	18	21	22	23	24	25	26	27	28	29	31	32	34	2A	5B			
IAM 191 X																													
IAM 195 X																													
ALB 25																													
ALB 27																													
Ps ALG 1																													
Ps ALG 2																													
Ps ALG 3																													
Ps ALG 4																													
E2S2 MAR																													
Ps TUR 4																													
Ps EGY 1																													
VIV MAL																													
121 P SP																													

Positif

Négatif

3. Caractérisation physico-chimique

La caractérisation physico-chimique d'une source de psorose a été basée sur le protocole de purification du virus du CPsV [11], des changements au préalable ont été apportés à ce protocole.

3.1 Purification du virus

Les modifications apportées au protocole de purification du CPsV [11], ont concerné une double clarification au trichlorotrifluoréthanol (Fréon 113) et une double concentration au polyéthylèneglycol (PEG 6000), permettent d'obtenir un purifiât contenant le moins possible de matériel végétal sain. La séparation du virus dans le gradient de sulfate de césium 10 à 40% a mis en évidence la présence de cinq bandes distinctes (Fig. 5), d'où seulement deux bandes centrales ont réagi positivement au test ELISA [8] à des dilutions allant jusqu'à 1/100 ; par contre, la lecture au spectrophotomètre a indiqué une basse concentration, qui a été considérée insuffisante, pour effectuer la première injection au lapin, entrant dans le processus de production de l'anticorps polyclonal.

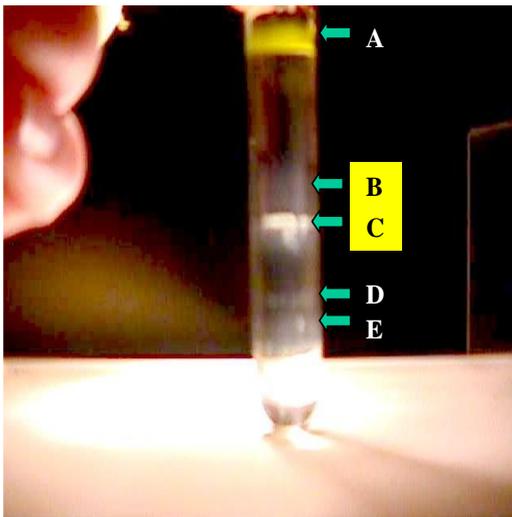


Figure 5. Bandes observées sur le gradient de sulfate de césium (Purification du Ps Alg1)

Les bandes A, D, E ont réagi négativement à l'ELISA; les bandes B, C ont réagi positivement à l'ELISA.

3.2. Microscopie électronique

L'observation du matériel purifié au microscope électronique n'a mis en évidence aucune présence de particules virales associées au virus de la psorose (CPsV). Le titre bas et la difficulté d'obtenir des particules virales pour un seul essai sont peu être les raisons qui ont induit un tel résultat. Cette étape de travail nécessite des répétitions en cas de mauvaise purification du virus pendant les manipulations.

DISCUSSION

La caractérisation biologique, sérologique et physico-chimique de souches locales, a fait ressortir les résultats suivants, d'abord, une réaction positive a été obtenue sur deux des principaux indicateurs ligneux utilisés pour la caractérisation biologique des principales maladies transmises par greffage dans le bassin méditerranéen [1]. Les résultats des symptômes observés sur les plantes herbacées ont été confirmés par le test ELISA [8], bien que la transmission mécanique du virus de la psorose (CPsV) sur les indicateurs herbacés reste difficile à transmettre [1, 11]. Certains isolats aient pu être transmis, principalement sur *Chenopodium sp* et *Gomphrena globosa* [4]. Les résultats de la caractérisation sérologique à l'aide d'une gamme d'anticorps monoclonaux, produits à l'Université de Bari Djelouah et *al.* [11] et le CNR de Turin Alioto et *al.* [9], ont montré une homogénéité entre les souches algériennes elles-mêmes, leur confrontation avec différentes sources étrangères a été faite pour situer les souches algériennes par rapport à d'autres sources méditerranéennes. Les résultats de comparaison montrent une similitude de la réaction des souches algériennes avec les isolats égyptien (Ps Egy.1) et turc (Ps Tur.4). Quant à la souche marocaine (E2S2 Mar), elle semble tout à fait identique aux deux premières. Les autres souches (121P SP, Viv Mal, Alb.25, Alb.27) semblent réagir différemment, car les souches albanaises (Alb 25, Alb 27) semblent être beaucoup plus proches des souches italiennes, tandis que, les autres les souches (121P SP, ViV Mal.) sont similaires et réagissent différemment. En prenant en considération des études similaires effectuées sur d'autres isolats par Potere et *al.* [8]; Djelouah et *al.* [11]; Mrani et *al.* [22], il est clair que le CPsV se caractérise par différentes souches hétérogènes qui pourraient être regroupés selon la distribution géographique. Les résultats de la caractérisation physicochimique et compte tenu des modifications apportées au protocole de purification du CPsV [8], ont permis d'obtenir un purifiât contenant le moins possible de matériel végétal sain.

La séparation du virus dans le gradient de sulfate de césium 10-40% a mis en évidence la présence de cinq bandes bien distinctes, d'où seulement deux bandes centrales ont réagi positivement au test ELISA, par contre, la lecture au spectrophotomètre a indiqué une basse concentration qui a été considérée insuffisante pour effectuer la première injection au lapin, entrant dans le processus de production de l'anticorps polyclonal.

CONCLUSION

La psorose demeure une maladie redoutable sur les agrumes surtout qu'elle peut rester asymptomatique pour plusieurs années, par conséquent, elle doit être contrôlée dans le matériel végétal de propagation au niveau des pépinières. En Algérie, beaucoup de maladies virales et de type viral ont été rapportées sur les agrumes par Bové [21], cependant, beaucoup d'entre-elles demeurent inconnues ou mal connues. Cette étude menée sur certains arbres atteints de psorose nous a permis de caractériser la souche locale du virus de la psorose (CPsV) en Algérie. Les résultats de la caractérisation des quatre sources locales ont montré une certaine homogénéité entre elles, celles-ci se caractérisent principalement par une réponse similaire voire identique des symptômes induits sur les indicateurs ligneux ; de plus, le virus a pu être transmis sur plantes herbacées et les réponses sérologiques ont indiqué que toutes les sources locales testées étaient réactives avec l'anticorps monoclonal Ps 29, ce dernier ayant évalué l'efficacité du kit commercial utilisé pendant l'enquête sur le terrain pour la détection du CPsV. En comparant ces souches avec d'autres souches originaires du bassin méditerranéen, une similitude a été observée entre les souches algérienne et marocaine, qui pourraient s'expliquer par le voisinage des deux pays ; suite aux résultats d'études faites sur d'autres souches auprès de différents pays, il est clair que le CPsV se caractérise par différentes souches hétérogènes. La caractérisation physico-chimique basée sur l'isolement du virus et sa purification, a permis d'obtenir une faible concentration virale insuffisante pour produire un antisérum; cependant, des résultats prometteurs grâce à la bonne multiplication du virus sur *Chenopodium amaranticolor*, ces derniers temps, pourraient avoir un effet positif sur la possibilité de produire cet antisérum à l'avenir.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Roistacher C.N. (1991). *Graft Transmissible Diseases of Citrus. Handbook for Detection and Diagnosis* FAO, Ed. Rome, 286p.
- [2]. Roistacher C.N. (1993). Psorosis-a review. Proc. 12th Conf. International Organization Citrus Virol. IOCV, Riverside, p. 139- 162.
- [3]. Fawcett H. S. (1938). Transmission of Psorosis of *Citrus*. *Phytopathology*, Vol. 28:669. (Abstract).
- [4]. Derrick K.S., Brlansky R.H., Da Graça J.V., Lee R. F., Timmer L.W. & Nguyen T.K. (1988). Partial characterisation of a virus associated with *Citrus* Ringspot. *Phytopathology*, 78: 1293-1310.
- [5]. Derrick K.S., Lee R.F., Hewitt B. G. & Barthe G.A. (1993). Spiroviruses: a new group serologically of diverse plant viruses associated with *Citrus psorosis* and *Ring spot*. In: Proc.12th Conf. IOCV, Riverside (CA), p. 428-429.
- [6]. Milne R.G. (1993). Electron- microscopy of in-vitro preparation. In: R.E.F. Matthews Ed, diagnosis of Plant Virus Disease. CRC Press. P. 229-233.
- [7]. D'Onghia A.M., Djelouah K., Alioto D., Castellano M.A. & Savino V. (1998). Elisa correlates with biological indexing for the detection of *Citrus Psorosis-associated Virus*. *Journal of Plant Pathology*, 80(2): 157-164
- [8]. Potere O., Boscia D., Djelouah K., Elicio V. & Savino V. (1999). Use of monoclonal antibodies to *Citrus Psorosis- Associated Virus* for diagnosis. *Journal of Plant Pathology*, 81: 209-212.
- [9]. Alioto D., Gangemi M., Deaglio S., Sposato P., Noris E., Luisoni E. & Milne R.G. (1999). Improved detection of *Citrus Psorosis Virus* using polyclonal and monoclonal antibodies. *Plant Pathology*, 48: 735-741.
- [10]. Alioto D., Gangemi M., Sposato P., Deaglio S., Luisoni E. & Milne R.G., (2000). Improvements in Serodiagnosis of *Citrus psorosis*. In: Proc. 14th Conf. of IOCV, Campinas-Brazil, 1998: 353- 356
- [11]. Djelouah K., Potere O., Boscia D., D'Onghia A.M. & Savino V. (2000). Production of monoclonal antibodies to *Citrus Psorosis Associated Virus* In: Proc. 14th Conf. of IOCV, Campinas-Brazil, 1998 :152-158.
- [12]. Garcia M.L., De La Torre S.M.E., Dal Bo E., Djelouah K., Rouag N., Luisoni E., Milne R.G. & Grau O. (1997). Detection of *Citrus Psorosis Ringspot Virus* using RT-PCR and DAS-ELISA. *Plant Pathology*, 46: 830-836.
- [13]. Legarreta G.G., Garcia M.L., Costa N. & Grau O. (2000). 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*, 84: 15-22
- [14]. Cambra M., Gorris M. T., Roman M. P., Terrada E., Garnsey S. M., Camarasa E., Olmos A. & Colomer M. (2000). Routine detection of *CitrusTristeza Virus* by direct immunoprinting ELISA method using specific monoclonal and recombinant antibodies. In: Proc. 14th Conf. of IOCV, Campinas-Brazil, 1998: 34-41.
- [15]. D'Onghia A.M., Djelouah K., Frasher D. & Potere O. (2001). Detection of Citrus psorosis virus by *Direct Tissue blot Immunoassay*. *Journal of Plant Pathology*, 83(2): 139-142.

- [16]. **Brichet J. (1944)**. Une maladie redoutable qui se répand dans nos orangeries: la psorose « *Scaly bark* » des Américains. *Fruits et Primeurs*, 14 (158): 228-230.
- [17]. **Lamour R. (1950)**. Viroses des agrumes en Afrique du Nord. *Revue Fr. Oranger*, 20(220): 381-384.
- [18]. **Blondel L. (1953)**. Influence de la hauteur du point de greffe sur le comportement des agrumes greffés sur *Poncirus trifoliata*. *Ann. Inst. Agric. Algérie*, 7(8): 1-12.
- [19]. **Frezal P. (1957)**. Rapport sur la présence en Algérie de la tristeza et de la Xylophoreuse des Citrus. *C.R. Acad. Agric. France*, 43: 190-193.
- [20]. **Chapot H. (1959)**. First studies on stubborn diseases in Citrus in some Mediterranean countries. In J.M. Wallace, Ed. *Virus disease*, University of California, p. 109-117.
- [21]. **Bové J.M. (1995)**. *Virus and virus like diseases in the Near East region*. FAO Rome Ed. 518p.
- [22]. **Mrani N., D'Onghia A.M., Djelouah K., Zemzami M., Frasheri D. & Martelli G.P. (2002)**. Incidence and distribution of *Citrus Psorosis Virus* in Morocco. In: Proc. 15th Conf. of IOCV. Chypre 2001, IOCV Riverside, p. 358-362