

Enquête sur le virus de la tristeza dans la Caraïbe

C. BUJADOUX, M.L. CARUANA

Laboratoire de virologie, CIRAD-FLHOR, BP 5035, 34032 Montpellier cedex 01, France.

Une vaste campagne d'indexation a été menée depuis 1993 dans les vergers expérimentaux de la Martinique et des îles voisines afin de dresser une cartographie de la présence du virus de la tristeza dans cette zone. Le comportement des vecteurs de la maladie a été étudié dans le cadre de la lutte biologique.

introduction

L'agrumiculture est en phase d'expansion dans la Caraïbe en raison notamment d'un accroissement de la demande pour les oranges destinées à la transformation sous forme de jus. Les recherches du CIRAD-FLHOR contribuent à la promotion d'une production mieux adaptée aux conditions locales, grâce à l'implantation en Martinique, en 1988, sur le site de Rivière Lézarde, d'un verger expérimental servant à la fois de base de multiplication végétale et de centre d'étude sur le comportement des agrumes sous climat tropical humide d'alizés.

Toutefois une nouvelle menace parasitaire pèse sur la région avec l'arrivée du puceron brun des agrumes, *Toxoptera citricidus* Kirkaldy. Il s'agit du vecteur le plus efficace de la tristeza, maladie à virus transmise selon le mode semi-persistant.

T. citricidus, limité jusque-là à l'hémisphère Sud, connaît actuellement une importante extension géographique vers le nord du continent américain (ROISTACHER *et al.*, 1991).

En Amérique centrale, le vecteur a d'abord été observé au Panama en 1985, puis au Costa Rica, au Salvador et au Honduras.

Sa progression dans les îles de la Caraïbe est rapide : identifié à Trinidad et Tobago en 1990, puis en Martinique et Guadeloupe en 1991, *T. citricidus* a envahi en 5 ou 6 ans l'ensemble des îles de la région.

Parallèlement à la dispersion de son vecteur le plus efficace, le virus de la tristeza (CTV) est propagé et gagne de nouveaux territoires. En 1992, une large contamination touche l'Amérique centrale. L'Arc caraïbe est désormais atteint dans des pays comme Trinidad et Tobago, la Jamaïque, la République dominicaine et même Cuba où des souches sévères du virus ont été détectées.

Les dommages infligés aux vergers de la zone sont d'autant plus à craindre que le porte-greffe le plus couramment utilisé jusqu'ici était le bigaradier, lequel donne avec l'oranger, le madarinier, le pomelo, etc., des associations sensibles à la tristeza. Une surveillance de la progression du front de la tristeza est donc nécessaire.

C'est la raison pour laquelle une campagne d'indexation a été mise en œuvre par le laboratoire du CIRAD-FLHOR de Fort-de-France (Martinique) en 1993. Celle-ci a porté en priorité sur les arbres du verger expérimental de la station, utilisés pour la diffusion du matériel végétal. Certains vergers privés de Martinique et de centaines d'îles avoisinantes ont également été prospectés. L'opération avait pour but d'évaluer le statut de la Martinique ainsi que celui des îles voisines vis-à-vis de la tristeza. L'étude a été étendue aux niveaux d'abondance du puceron brun, *T. citricidus*.

Les méthodes de lutte contre la maladie sont principalement centrées sur le choix du porte-greffe, la prémunition croisée ou l'éradication. La stratégie de prévention est l'éradication, si la maladie ne s'est pas encore propagée. La lutte contre les vecteurs eux-mêmes a suscité moins d'intérêt alors qu'ils constituent, avec le greffage, le deuxième moyen de transmission de la maladie.

Le parasitisme sur aphides, lui-même dû à *Lysiphlebus testaceipes* Cresson (*Hym.*, *Braconidae*), endoparasite de nombreuses espèces de pucerons, a fait l'objet d'études en région méditerranéenne (STARY *et al.*, 1988a et 1998b). Cette espèce possède des capacités prometteuses de contrôle du puceron brun des agrumes (YOKOMI, 1992). L'observation et l'identification de cet endoparasite constitue une donnée intéressante.

Une autre partie du programme de travail a consisté à mieux connaître le comportement de *Toxoptera citricidus*, de *Lysiphlebus testaceipes* ainsi que leurs interactions dans les conditions martiniquaises.

matériel et méthode

situation sanitaire

échantillonnage végétal

L'échantillonnage a été pratiqué dans 2 sites du verger expérimental de Rivière Lézarde (CIRAD-FLHOR, Martinique). Dans le premier qui contient une collection d'agrumes de 167 variétés, 1 arbre sur 2 a été testé. Dans le second qui est constitué de parcelles d'essais à 4 arbres par répétition, 1 arbre sur 4 a été échantillonné. Dans les autres vergers privés de la Martinique et des îles avoisinantes prospectées (Sainte-Lucie, Saint-Vincent, Grenade, Dominique, Antigua, Nevis et Saint-Kits), les prélèvements ont été faits sur des arbres à risque : associations porte-greffe/variété sensible ou agrumes directement sensibles et réagissant par des symptômes spécifiques (Vein Clearing sur limettier).

Tous les échantillons ont été pris sur des jeunes pousses aoûtées.

identification du CTV

• méthode DAS ELISA

Les travaux d'indexation ont été effectués par la méthode DAS ELISA en utilisant les anticorps polyclonaux des kits de diagnostic de SANOFI. Le protocole suivi est celui préconisé par la firme, complété par l'épuisement du conjugué avec 33 µl d'échantillon de plante saine par ml de solution de conjugué.

Cet épuisement est réalisé de préférence avec du combava (*Citrus hystrix*), agrume à partir duquel a été purifié le virus utilisé pour développer le sérum du kit. La lecture des plaques ELISA a été réalisée 45 min et 1 h après le dépôt du substrat, au spectrophotomètre à 405 nm.

• interprétation des résultats

Le seuil de discrimination est fixé à 2 ou 3 fois la moyenne des valeurs de la densité optique (DO) des témoins sains (X).

Les échantillons ayant une DO inférieure à 2X sont négatifs (sains) ; ceux ayant une DO supérieure à 3X sont positifs (contaminés). Lorsque la DO mesurée se situe entre ces 2 valeurs, les prélèvements sont déclarés douteux et testés une seconde fois avant interprétation finale.

L'établissement de ce seuil permet de minimiser les risques d'erreur de diagnostic pour une maladie qui accepte un degré 0 de tolérance.

élevage des insectes

pucerons

L'élevage de *T. citricidus* a été réalisé sur des plants de limettiers mexicains issus de pépinière, régulièrement rabattus pour favoriser l'émission des jeunes pousses

nécessaires au bon développement des colonies. Celles-ci ont été obtenues à partir d'individus ailés identifiés et prélevés au champ.

Les pucerons ont été élevés dans une cage insect-proof placée sous un tunnel (plastique + ombrière) en conditions naturelles : température de 25 à 35 °C, photopériode de 12L/12D et une hygrométrie avoisinant les 95 % d'humidité durant la période de pluie.

Des individus issus de l'élevage ont été mis dans des manchons constitués de fines toiles de coton, placés dans des arbres du verger expérimental autour de jeunes pousses préalablement traitées. Les jeunes issus de ces individus ont été déposés un par un dans différents manchons. Les arbres utilisés étaient des mandariniers Satsumas (*Citrus unshiu*).

Les pucerons ont été observés quotidiennement afin de mieux définir les caractéristiques de leur comportement en Martinique.

parasitoïdes

L'élevage de *L. testaceipes* a été réalisé dans les mêmes conditions que celles des pucerons, sur limettiers mexicains provenant des cages d'élevage de *T. citricidus* et régulièrement remplacés. Par la suite, des feuilles portant des pucerons parasités, reconnaissables à leur aspect de momie brune, ont été mises dans des boîtes d'élevage et placées dans une pièce à température constante (25 °C) et subissant une photopériode de 12L/12D.

Les individus de *L. testaceipes* émergeant le même jour ont été ensuite regroupés pour estimer leur durée de vie d'adulte.

Des adultes de *L. testaceipes* de 2 jours, issus des boîtes, ont été placés dans des manchons contenant des pucerons de différents âges (3 à 10 jours) et à différentes densités (10 à 30).

Les parasitoïdes ont été ôtés au bout de 24 h. A partir du quatrième jour, des observations quotidiennes ont permis d'évaluer la durée de développement du parasitoïde et son taux de parasitisme.

Les manchons ont été placés sur des orangers Navels.

résultats et discussion

indexation

Aucun des 665 échantillons provenant de la Martinique ne s'est révélé contaminé par le CTV (tableau 1).

Ces résultats confirment le bon état sanitaire du verger expérimental du site de Rivière Lézarde (CIRAD-FLHOR, Martinique) où un nombre important de prélèvements a été pratiqué. Cela permet à ce centre de poursuivre ses activités en tant que base de multiplication de matériel végétal, à la condition de rester sous étroite surveillance.

Le très faible nombre de prélèvements effectué chez les planteurs (2 ont été prospectés) ne permet pas de conclure, mais autorise un diagnostic sur les seuls arbres testés.

La Martinique apparaît pour le moment indemne de CTV, mais la prospection dans les Caraïbes a mis en évidence la présence du virus dans 2 des 7 îles visitées, Antigua et Sainte-Lucie, cette dernière étant la plus proche de la Martinique. Le tableau 2 illustre la propagation de la maladie dans les îles caraïbes, étroitement liée à l'apparition de son vecteur.

Le faible échantillonnage effectué sur ces territoires peut laisser supposer, étant donné la présence du vecteur, une assez large dissémination du CTV. L'origine de la contamination semble provenir de l'introduction de plants atteints, relayée par la transmission due à *T. citricidus*.

Cette hypothèse est étayée par le fait qu'en Martinique, territoire où tous les tests ELISA ont été négatifs, l'origine du matériel végétal agrumicole est exclusivement de type SRA (Station de San Giulano en Corse, île elle aussi indemne).

Dans les îles voisines, en revanche, diverses introductions de greffons ou de plants ont eu lieu en provenance de Floride, région connue pour héberger de longue date des foyers de tristeza.

L'arrivée de *T. citricidus* devrait accélérer la dissémination de la tristeza au sein d'un territoire insulaire jusqu'à partiellement contaminé, voire d'une île à l'autre. C'est pourquoi une surveillance continue s'impose tant en Martinique qu'en Guadeloupe, puisque ces 2 îles semblent indemnes même après l'invasion de *T. citricidus*.

biologie des insectes

pucerons

- durée de vie

La durée de vie de *T. citricidus*, établie à partir de 40 pucerons aptères, est de 17 jours ($\pm 2,47$) dans les conditions martiniquaises (figure 1).

- taux de reproduction

La descendance moyenne d'un aptère, estimée à partir de 30 pucerons, s'élève à 50 individus ($49,6 \pm 11,3$) avec des maximums atteignant presque 60 individus (59 ± 8) (tableau 3).

Les premières naissances interviennent dès le 6^e jour avec des valeurs maximales situées entre le 9^e et le 12^e jour (figure 2).

Ces résultats sont accompagnés d'un fort écart-type pouvant traduire des hétérogénéités dans le système d'élevage.

L'efficacité de cette reproduction confirme, néanmoins, les observations sur le terrain qui montrent une présence généralisée de *T. citricidus*. Sa propagation semble s'être faite aux dépens de *Toxoptera aurantii*, principal aphide présent sur agrumes avant l'arrivée de *T. citricidus*, mais plus rarement observé aujourd'hui.

Le taux et le mode de reproduction par parthénogenèse ont permis à *T. citricidus* d'envahir rapidement les territoires de la Caraïbe. Il est devenu le puceron le plus gênant pour l'agrumiculture du fait de l'importance des colonies développées et des dégâts directs qu'elles engendrent.

L'évolution géographique du puceron est également favorisée par sa grande capacité d'adaptation à diverses conditions climatiques : on le retrouve dans les régions tropicales humides (Asie, Amérique du Sud, Afrique au sud du Sahara), mais aussi dans des zones tempérées d'Amérique du Sud, d'Australie, de Nouvelle-Zélande (LECLANT *et al.*, 1992).

parasitoïdes

- durée de vie

Dans les conditions naturelles, la durée de développement de *L. testaceipes* dans le puceron est d'une dizaine de jours ($9,4 \pm 1,46$). Ce résultat a été obtenu à partir de l'observation de 41 individus.

Les données recueillies à partir de 120 spécimens de *L. testaceipes*, placés dans des boîtes d'élevage dans des conditions non naturelles, ont permis d'évaluer sa durée de vie d'adulte à plus de 3 j ($3,38 \pm 0,9$).

En ce qui concerne le taux de parasitisme, les données obtenues sur le terrain sont apparues beaucoup trop hétérogènes pour être interprétables. Cependant, il semble bien que l'action de *L. testaceipes* ne peut à elle seule abaisser le niveau des populations aphidiennes à des seuils suffisamment bas pour retarder l'extension du virus de la tristeza.

conclusion

Sous réserve d'enquêtes plus approfondies effectuées avec des méthodes performantes (immunoprinting, PCR, etc.), il semble que la tristeza ne soit pas présente en Martinique, malgré l'arrivée de *T. citricidus* à la fin des années 1980. ●

.....
Bibliographie, tableau, illustrations, voir version anglaise p. 410-414