

ASSOCIATION MAROCAINE DE LA PROTECTION DES PLANTES

Journée sur la Protection des plantes

Mai 2000

**LES ALEURODES ET LES ISOLATS DU VIRUS DES FEUILLES
JAUNES EN CUILLERE DE LA TOMATE (TYLCV) RENCONTRES
DANS LA REGION DU SOUSS-MASSA**

Par

Benazoun Abdeslam (1), Remah Abdellah(1) & José Luis Cenis(2)

- (1): Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II - Complexe Horticole d'Agadir -
Département de Protection des Plantes - 80150 - BP 121 Ait melloul - Maroc
(2): Centro de Investigacion y Desarrollo Agroalimentario - Finca Estacion Sericicola 30150
LA ALBERCA (Murcia) - Espagne

RESUME

Depuis 1998/99 la culture de la tomate est sujette à l'attaque du virus des feuilles jaunes en cuillère "*Tomato Yellow Leaf Curl Begomovirus*" introduit récemment au Maroc. Il est à l'origine d'importantes pertes dans les régions de Berkane, Nador et El Jadida en 1998, et dans le Souss Massa en 1999. Le virus est transmis selon le mode persistant par la mouche blanche *Bemisia tabaci* (Homoptère, Aleurodidae).

L'apparition soudaine de cette épidémie a été attribuée à l'introduction du biotype B de cette mouche capable de se reproduire sur plusieurs hôtes et de présenter rapidement une résistance aux insecticides appliqués. Mais l'analyse récente par la technique **RAPD-PCR** de plusieurs adultes prélevés dans les régions de Marrakech, et d'Agadir a révélé que ces adultes appartiennent à un nouveau biotype Q présent également dans le sud de l'Espagne et dans les îles Canaries. Il serait plus agressif que le biotype B. Cependant ses caractéristiques ne sont pas encore bien connues.

La technique de la PCR et de l'hybridation moléculaire a révélé la présence de deux souches de *TYLCV*: la souche israélienne (*TYLCV-Is*) et la souche originaire de la Sardaigne (*TYLCV-Sar*).

MOTS CLES: Aleurodes, Biotype, Souss Massa, Tomate, *TYLCV*,

INTRODUCTION

Dans la région du Souss Massa, plusieurs plantes cultivées ou spontanées sous serre et en plein champ (*Solanacées*, *Cucurbitacées*, *Malvacées*...) peuvent héberger la mouche blanche *Bemisia tabaci*, et servir par conséquent de réservoir permanent au **Virus des feuilles jaunes en cuillère** ("*Tomato Yellow Leaf Curl Virus* ou **TYLCV**) dont les symptômes entraînent des dommages dont on ne se rend compte que lorsque le mal est fait. En effet la culture de tomate a fait l'objet d'importantes attaques par ce *Geminivirus* introduit récemment au Maroc; il était à l'origine d'importantes pertes dans les régions de Berkane, Nador et El Jadida en 1998, et dans le Souss Massa en 1999. L'apparition soudaine de cette épidémie a été attribuée à l'absence de variétés résistantes ou tolérantes au virus et à l'introduction biotypes de *Bemisia tabaci*, plus agressifs et plus efficaces dans la transmission du *TYLCV*.

La présente étude tente de donner une idée sur le(s) biotype (s) présent dans la région et apporter quelques éléments d'informations d'ordre biologique.

I/ MATERIEL ET METHODES

Le suivi porte sur 28 exploitations de producteurs choisis sur la base d'une série de prospections intensives. Elles sont suivies périodiquement une fois par semaine. Les observations commencent au début de la culture jusqu'à sa fin. Elles sont suivies dans une seule serre par ferme supposée assez représentative des autres serres

1.1 Piègages

Dans chaque serre, 2 plaques jaunes de 25x10 cm (et/ou bleus) engluées sur leurs 2 faces sont disposées au sommet des plantes et installées respectivement au centre de la serre et à proximité de la porte d'entrée ou de sortie. Chacune de ces plaques est renouvelée une fois par semaine, et fait l'objet d'un dénombrement des principaux ravageurs et ennemis naturels, notamment les aleurodes, et leurs ennemis naturels .

Si l'effectif des individus capturés par groupe dépasse 50, on peut procéder dans un premier temps au comptage d'une fraction représentative par la méthode des carrés, et estimer ensuite le nombre total en multipliant le nombre de carrés par l'effectif observé sur la fraction. La méthode est très discutable; elle mérite d'être révisée ou modifiée selon la répartition de chacune des espèces capturées sur la plaque. Après comptage les plaques sont ramenées au laboratoire pour vérification de la méthode de comptage et l'identification des groupes de ravageurs et ennemis naturels capturés.

1.2 Echantillonnage des aleurodes sur feuilles

Des plantes feuilles hébergeant des aleurodes ont été prélevées au hasard dans des exploitations de tomate de plein champ et sous serre dans les sites d'El koudya (Ouled Taima), et la ferme du Complexe Horticole. Les adultes sont aspirés et introduits dans des tubes contenant de l'alcool à 70° et étiquetés (date et lieu de récolte). Tous les échantillons ont été ramenés au laboratoire de Virologie de la **CIDA (Centro de Investigacion y Desarrollo Agroalimentario. La Alberca)** à Murcia en Espagne pour faire à leur tour l'objet d'une analyse **RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA- Polymérase Chain-Reaction)** qui consiste en l'amplification enzymatique des fragments d'ADN à partir de l'ADN total de l'insecte, suivie d'une visualisation de bandes de fragments amplifiés sur gel d'agarose en utilisant l'éthium bromide.

Pour préciser les types de *TYLCV* présents dans la région, 22 plantes malades ont été prélevées dans trois exploitations repérées dans la région d'Ouled Taima. Ramenées à la **CIDA**, ces échantillons ont fait l'objet d'une analyse pour à vérifier la présence ou l'absence de 2 isolats du *TYLCV* à savoir ceux de la **Sardaigne** et d'**Israël** en utilisant la technique de Squash blot hybridation avec une sonde marquée à la digoxigine et la technique de la PCR avec des amorces spécifiques.

II/ RESULTATS ET DISCUSSION

Les Aleurodes rencontrés de façon constante dans la région sont :

1/ *Bemisia tabaci* G ou Aleurode du cotonnier : Elle est plus petite, jaune, d'1 mm de longueur avec des yeux contigus. Ses ailes accolées au corps ont une nervation très réduite. Ses œufs sont pondus à la face inférieure des jeunes feuilles, et fixés à l'épiderme par un court pédoncule. Ils sont piriformes et restent jaune vert. Les larves sont plus jaunes et de forme différente. Leurs pupariums sont obliques. Les soies sont plus fines, plus courtes et moins nombreuses. L'espèce est capable de transmettre des maladies graves dont la plus importante est la maladie des feuilles jaunes en cuillère ou **Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV)** ;

2/ *Trialeurodes vaporariorum* WEST ou Aleurode des serres : L'adulte est souvent couvert de poudre cireuse avec des yeux séparés et des ailes sans taches en position horizontale sur le dos. La femelle peut déposer en une semaine 200 œufs rose orange déposés de manière typique en arc de cercle et reliés au limbe par un fin pédicelle. Les pupariums sont plats avec de longues soies dépassant les bords du corps. L'espèce peut avoir la descendance la plus importante en hiver à des températures comprises entre 16 et 18°C (**Onillon 1989**) .

Après analyse des plaques il s'est avéré que 3 à 4 vols d'aleurodes peuvent se succéder entre fin octobre et fin mai sur une période qui varie de 3 à 6 mois et ½ selon les sites: 5 à 6 ½ à Temsia , 3 à 5 ½ à Inchaden , 3 à 6 mois à Massa et 5 à 6 mois à Biougra. Il ressort des **figures 1 et 2** que ces émergences sont plus précoces dans l'axe de Taroudant (Temsia) que dans les axes de Tiznit et Biougra.. En effet dans le domaine Aderdour 166 aleurodes ont été capturés dès la première semaine des prospections. Les observations devaient donc commencer au préalable avant octobre, au début ou fin août sur les plants en pépinière.

D'autre part il faut noter que c'est à Biougra (soit une moyenne de 94 adultes/exploitation) où l'on a relevé le moins de captures d'aleurodes par rapport à Temsia (431), Massa (354) et Inchaden (317). Cependant une pullulation exceptionnelle a pu être enregistrée dans les domaines de Maraissa, soit un total de 2067 individus durant 2 périodes : une première entre mi-janvier et fin février (476 adultes) et une seconde entre fin mars et fin mai (1581 individus). Il semble que cette explosion démographique a pour origine une tentative d'élevage de masse en vue d'acclimater des prédateurs *Miridae* du genre *Macrolophus Sp* qui semblent rencontrer des difficultés d'adaptation.

Les premières infestations des aleurodes sont observées depuis la pépinière et s'échelonnent sur une période qui varie de 3 à 25 semaines. Les infestations les plus importantes peuvent être observées à tout moment à partir de fin Octobre - début novembre voire même avant.

Ces captures telles qu'elles ont été suivies constituent à notre avis un moyen utile de détection et de suivi des adultes. Toutefois elles ne permettent pas de formuler une idée exacte ou réelle sur la composition démographique des populations présentes sur les feuilles des plantes hôtes. Le coefficient de corrélation R^2 calculée pour cette fin paraît assez faible dans les sites d'étude: **0,01** à Inchaden , **0,23** à Temsia, **0,42** à Massa et **0,39** à Biougra.

Quelque soit cette relation, la présence du vecteur constitue à elle seule le danger et le seuil qu'il faudrait éviter. Or parmi les populations de *B.tabaci*, il a été démontré à travers le monde que les adultes de l'espèce revêtissent des caractères leur conférant une capacité variable de transmission du virus selon la région, la plante hôte, le climat... En effet il s'est avéré que certaines souches sont agressives, résistantes aux insecticides et d'un potentiel de reproduction et d'ingestion plus important, alors que d'autres - au contraire - ne constituent aucun danger. Les premières sont reconnues appartenir au *biotype B* et les autres, au *biotype A*. Selon certains auteurs (**Bovigny & al 1991, Guirao & al 1996, Hiebert & al 1995, Lindquist 1994...**) considèrent le biotype "*B*" de *B.tabaci* comme étant une nouvelle espèce qu'ils dénomment *Bemisia argentefolii*

Toutefois au sein même du *biotype B*, existent de nouvelles populations qui sont en mesure de développer des densités plus élevées, de se nourrir sans cesse, infliger des dommages spectaculaires en transmettant avec efficacité les *Geminivirus*.

Dans la région d'Agadir les populations de *B.tabaci* étaient très importantes sur tomate en 1999. On supposait que les biotype A et B étaient les plus dominants, mais les échantillons qui y étaient prélevés ont révélé après analyse (RAPD - PCR) la présence d'un autre *biotype* dit "*Q*" plus agressif et plus résistant que le biotype "*B*".

En ce qui concerne les souches de virus présentes dans la région, les résultats d'analyse permettent de noter que tous les échantillons se sont hybridés avec la sonde du *TYLCV* d'*Israël*. Quelques uns d'entre eux se sont également hybridés avec la sonde du *TYLCV* de la *Sardaigne*. Les paires d'amorce MA-14 / MA-15 et MA-30 / MA-31 synthétisées pour l'amplification de la région intergénique du génome du *TYLCV* de la *Sardaigne* et d'*Israël* (rapporté en Espagne) ont été utilisées dans les réactions de la PCR. Des fragments d'ADN ont été amplifiés en utilisant la paire d'amorce MA-30 / MA-31 qui a indiqué la présence du *TYLCV* d'*Israël*. D'autres fragments ont été également obtenus en utilisant la paire d'amorce MA-14 / MA-15 indiquant ainsi la présence du *TYLCV* de *Sardaigne*.

La séquence des nucléotides de la région intergénique du fragment amplifié avec la paire d'amorce MA-14 / MA-15 a montré une ressemblance élevée (96,7%) avec la région correspondante du génome du *TYLCV* de la *Sardaigne* rapporté en Espagne.

La séquence des nucléotides de la région intergénique du fragment amplifié à partir de certains échantillons avec la paire d'amorce MA-30 / MA-31 a montré une similitude élevée (98,1%) avec la région correspondante du génome du *TYLCV* d'*Israël* en Espagne.

CONCLUSION

Bemisia tabaci est un ravageur qui a toujours existé au Maroc sur Cotonnier dans la région de Tadla. Ensuite il a été détecté depuis 1990 dans la région du Souss-Massa. L'espèce est passée inaperçue et n'a que très rarement suscité le souci des producteurs dans la mesure où elle a été souvent contrôlée par des traitements insecticides classiques. Actuellement la situation diffère totalement, et les problèmes posés par ces virus ont pris de l'ampleur et risquent d'infliger des pertes encore plus considérables si l'on sait que les *Solanacées* et les *Cucurbitacées* sont exposées à des vecteurs de biotype "Q" encore plus agressif que le "B". Les prospections préliminaires permettent simplement de noter que les Aleurodes évoluent en 3 à 4 vols entre fin octobre et fin mai.

En se basant sur la technique d'hybridation moléculaire et les données sur la séquence des nucléotides, nous concluons que les plantes de tomate malades prélevées à El Koudya I dans la région d'Ouled T'aima sont infectées par l'isolat du TYLCV d'*Israël*, alors que celles prélevées au Complexe sont infectées à la fois par les isolats du TYLCV d'*Israël* et de *Sardaigne*. La présence du TYLCV d'*Israël* serait déjà signalée au Maroc, mais c'est la première fois où l'on trouve le TYLCV de *Sardaigne* qui n'a été observé qu'en Italie et dans la Péninsule ibérique.

Pour éviter ce risque il importe donc de s'orienter vers un programme d'avertissement agricole qui permet de limiter la propagation des virus et la pullulation des aleurodes en lui associant une stratégie de lutte intégrée fondée sur une connaissance meilleure de la *bioécologie de l'aleurode* qui permet de connaître dans la région et à travers le pays les biotypes existants en vue de suivre leurs populations et intervenir par conséquent contre leurs pullulations. Le choix doit porter sur *des méthodes de suivi, rapides et efficaces* impliquant de nouvelles matières actives spécifiques, moins persistantes, et sélectives vis à vis des auxiliaires dont les bourdons et les ennemis naturels utilisés en lutte biologique. Jusqu'à présent les suivis n'ont porté que sur les adultes capturés (plaques engluées, pièges à phéromones et assiettes jaunes) en vue de repérer les périodes de leurs vols sans toutefois pouvoir déterminer le nombre de générations pour chacune des deux espèces d'aleurodes qu'il faudrait d'ailleurs à chaque fois identifier avec précision. D'autre part les populations larvaires nuisibles n'ont fait l'objet que d'observations fragmentaires. Or les seuils de tolérance donnés par différents auteurs sont exprimés en terme de nombre de larves ou d'adultes par organe selon le stade phénologique de la plante. D'ailleurs les corrélations calculées entre les effectifs d'adultes piégés et les degrés d'infestations correspondants étaient dans la plupart des cas non significatives.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BOVIGNY P.Y., MEYLAN G., 1991 – les mélanges de produits phytosanitaires. Méthodologie et précautions. Fiche technique du laboratoire de techniques agricoles et horticoles. n° 6/91. Genève 1991.

GUIRAO P., BAETICA F., CENIS JL., 1996- Biotipos de *Bemisia tabaci* presentes en Espana. Jornadas serie 8 . Consejeria de Medio Ambiente- Agricultura y Agua.Region de Murcia.

HIEBERT E., ABOUZID A.M., & POLSTONJ.E., 1995 – Whiteflies -Transmitted Geminiviruses. *Department of Plant Pathology, University of Florida , Gainesville, FL32611, USA and University of Florida, Gulf Coast Research and Education Center, Bradenton, FL324203, USA.*

LINDQUIST R., POWELL C., 1994 – El manejo integrado de los insectos, acaros, y enfermedades en los cultivos ornamentales. Ed Veronica Hoyos de Martenes. Battavia, illinois USA. 119 p.

ONILLON J C., 1989 – L'Aleurode des serres, ravageur important du Gerbera. INRA Antibes. Ed ITIH 1989. P 69 – 73.

SUMMARY

Since 1998/99 the culture of tomato is prone to the attack of the "Tomato Yellow Leaf Curl Begomovirus" introduced recently in Morocco. It causes important losses in the areas of Berkane, Nador and El Jadida in 1998, and in Souss Massa in 1999. The virus is transmitted according to the persistent mode by the white fly *Bemisia tabaci* (*Homoptera, Aleurodidae*).

The sudden appearance of this epidemic was allotted to the introduction of the biotype **B** of this fly able to reproduce on several hosts and to quickly have a resistance to insecticides applied. But the recent analysis by technique *RAPD-PCR* of several adults taken in the areas of Marrakech, and Agadir revealed that these adults also belong to a new biotype Q present in the south of Spain and the Canary Islands. It would be more aggressive than the biotype B. Therefore its characteristics are not yet well-known. The technique of the *PCR* and molecular hybridization revealed the presence of two stocks of *TYLCV*: the Israeli stock (*TYLV-Is*) and the stock originating in Sardinia (*TYLV-Sar*).

KEY WORDS: Whitefly, Biotype, Souss Massa, Tomato, *TYLCV*.