



■ LA PROBLÉMATIQUE

Risque de dissémination de '*Candidatus Liberibacter africanus*'

On sait très peu de choses sur les plantes-hôtes alternatives et les insectes vecteurs du pathogène important des agrumes, '*Candidatus Liberibacter africanus*', qui est associé à la maladie du HLB. Il s'agit là d'un manque important de connaissances dans la mesure ou l'importation de plantes hôtes de remplacement ou encore l'introduction accidentelle d'un insecte vecteur pourrait servir de moyen de propagation du pathogène dans des parties du monde non encore infectées, y compris en Europe. Une prospection d'un certain nombre d'échantillons de plantes-hôtes alternatives potentielles a été réalisée en se concentrant principalement sur les plantes présentes dans la province du Cap-Occidental en Afrique du Sud. Il a été démontré que les spécimens d'arbres et d'arbustes des Rutaceae, originaires d'Afrique du Sud, sont communément infectés par ces bactéries, chaque genre végétal ayant une sous-espèce unique. Il était donc important de vérifier s'il existe des hôtes alternatifs aux agrumes en Afrique du Sud. Des analyses de morphologie et par "barcoding" ont été réalisées pour confirmer l'identité des plantes-hôtes. Le suivi des espèces de psylles a été réalisé sur ces plantes et le "barcoding" des différents morphogroupes analysés, ainsi que des tentatives d'identification plus classique par analyse de morphologie.



- En haut : symptômes du HLB des agrumes. En bas à gauche: le psylle vecteur, *Trioza erytreae*. En bas à droite: poinçons de nymphes de *T. erytreae* sur feuilles de *Vepris lanceolata*.



■ DERNIERS RÉSULTATS DE LA RECHERCHE

Plantes hôtes alternatives de '*Ca. L. africanus*' sensu lato en Afrique du Sud

Des études visant à déterminer si les membres indigènes des Rutaceae (*Calodendrum capense*, *Clausena anisata*, *Oricia* spp., *Teclea* spp., *Vepris* spp. et *Zanthoxylum* spp.) servent de réservoirs pour le pathogène dangereux des agrumes commerciaux, '*Ca. L. africanus*', responsable de la maladie du HLB, sont en cours. Chaque genre indigène contenait une lignée unique de '*Ca. L. africanus*' (Roberts *et al.*, 2015). Un pourcentage relativement élevé des échantillons prélevés de chaque genre végétal était positif pour la présence du pathogène, ce qui suggère la présence commune et répandue de cette bactérie en Afrique du Sud. Ces études ont été élargies pour inclure le groupe relativement important des fynbos du Cap-Ouest membres du Rutaceae, mais pas pour les hôtes non Rutaceae. Des tests de PCR '*Candidatus Liberibacter*' à l'échelle du genre (Roberts *et al.*, 2015) ont été utilisés pour ces études. Le psylle *Trioza erytreae* est connu comme un vecteur de '*Ca. L. africanus*' et des *Diaphorina citri*, peuvent également transmettre cette bactérie expérimentalement. Les insectes vecteurs des différentes souches de '*Ca. L. africanus*' détectées sont encore inconnus.



Vepris lanceolata



Calodendrum capense



Zanthoxylum capense



Teclea spp



Oricia bachmannii



Clausena anisata

- Espèces de rutacées hôtes de '*Candidatus Liberibacter africanus*' sensu lato identifiées en Afrique du Sud.



■ L'ACTIVITÉ RECHERCHE ET DÉVELOPPEMENT TROPICSAFE

Prospection pour l'identification de plantes hôtes alternatives pour '*Ca. L. africanus*' sensu lato

Dans le cadre de TROPICSAFE, une prospection et une caractérisation des lignées de '*Candidatus Liberibacter*' et de leurs insectes vecteurs potentiels dans des plantes-hôtes alternatives aux agrumes ont été menées. Des échantillons de mauvaises herbes et de plantes indigènes ont été prélevés dans plusieurs localités du Cap-Occidental, en Afrique du Sud, à différentes saisons en 2017 et 2018, souvent autour de vergers d'agrumes ou de vignobles. Le matériel foliaire collecté a été stocké à -80°C jusqu'à ce que les extractions d'ADN puissent être effectuées. Des tests de PCR quantitative spécifiques à la détection de '*Candidatus Liberibacter*' ont été réalisés. Une PCR conventionnelle a également été effectuée sur des échantillons positifs par qPCR, et les amplicons obtenus ont été séquencés. Le "barcoding" des plantes-hôtes alternatives a été effectué dans le but d'une identification taxonomique.

Les mêmes zones ont également été étudiées pour détecter la présence d'insectes vecteurs potentiels (psylles) avant de les échantillonner pour les tests de détection de la présence de la bactérie. Pour ce faire, les insectes ont été échantillonnés sous vide (machine DVAC) et stockés dans de l'éthanol absolu pour l'identification ultérieure des espèces et l'analyse moléculaire. L'identification grossière des insectes a été faite en étudiant les caractères morphologiques et les insectes pertinents ont été soumis à une extraction d'ADN à l'aide d'une méthode d'extraction non destructive à base de tampon TNES qui laisse les insectes intacts pour une identification ultérieure et pour le dépôt de spécimens dans les musées.



- Utilisation d'un dispositif d'aspiration pour recueillir les insectes des plantes de fynbos en Afrique du Sud.



■ DONNÉES SCIENTIFIQUES ET PREMIERS RÉSULTATS

Identification de plantes-hôtes alternatives pour 'Ca. L. africanus' et ses sous-espèces

Trois déplacements sur le terrain ont eu lieu en septembre 2017, janvier et août 2018. Les deux premiers ont eu lieu dans les régions de Worcester/Robertson/Slanghoek de la vallée de la Breederiver, dans le Cap-Occidental, tandis que le dernier était dans la région de Vredendal/Lutzville, sur la côte ouest du Cap. Douze sites de collecte ont été utilisés, dont deux à proximité de vergers d'agrumes. À l'aide de l'appareil DVAC, des insectes ont été prélevés à partir de 1.001 échantillons de plantes. Des feuilles et des brindilles de chacune de ces plantes ont également été recueillies. L'ADN a été extrait de tous les échantillons de plantes. Entre 5 et 100 spécimens de chacune des 42 espèces de plantes ont été recueillis (avec un maximum de 20 spécimens d'une espèce spécifique par site). Ces plantes ont été identifiées à partir de caractères morphologiques et le gène *rbcl* de spécimens représentatifs a été séquencé. Tous les échantillons ont été testés pour la présence de 'Candidatus Liberibacter' espèces par qPCR. Des échantillons avec des valeurs de Ct inférieures à 30 (143) ont également été testés pour 'Candidatus Liberibacter' par PCR ciblant les gènes *rplJ* et *omp*. Soixante-dix-huit des échantillons ayant des valeurs de Ct inférieures à 30 provenaient d'une des trois espèces d'*Atriplex* collectées, 14 d'espèces de *Lycium*, 15 de *Rapistrum rugosum*, tandis qu'un nombre limité d'échantillons appartenait à certain nombre d'autres espèces. Aucun des échantillons n'a donné d'amplicons en PCR. Aucun psylle n'a été observé parmi de nombreux autres insectes prélevés sur ces échantillons. Un échantillon d'*Atriplex*, positif en qPCR, a été soumis à un séquençage en profondeur.



- Peuplements d'*Atriplex lindleyii*, une espèce végétale avec un grand nombre de échantillons produisant de faibles valeurs de Ct pour 'Candidatus Liberibacter'. Détection par tests qPCR spécifiques.

MOTS CLÉS

'Candidatus Liberibacter africanus', citrus "greening", plantes hôtes alternatives, *Trioza erytreae*

INFORMATIONS SUPPLEMENTAIRES

Roberts R., Steenkamp E.T., Pietersen G. 2015. Three novel lineages of 'Candidatus Liberibacter africanus' associated with native *Rutaceae* hosts of *Trioza erytreae* in South Africa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 65, 723–731.

CRÉDITS

Gerhard Pietersen Université de Pretoria, Pretoria, Afrique du Sud gerhard.pietersen@up.ac.za / gpietersen@sun.ac.za

Février, 2019



Ce projet a reçu un financement du programme de recherche et d'innovation Horizon 2020 de l'Union européenne en vertu de la convention de subvention N° 727459

www.tropicsafe.eu

Cette fiche d'information est produite dans le cadre du projet TROPICSAFE. Bien que l'auteur ait travaillé sur la meilleure information disponible, ni l'auteur ni l'UE ne sont en aucun cas responsables des pertes, dommages ou préjudices subis directement ou indirectement en rapport avec le projet.