



HAL
open science

Identification du virus de rabougrissement buissonneux de la tomate (Tomato Bushy Stunt Virus) en Tunisie sur tomate, piment et aubergine : Quelques caractéristiques de la souche tunisienne

Chirine Cherif, D. Spire

► To cite this version:

Chirine Cherif, D. Spire. Identification du virus de rabougrissement buissonneux de la tomate (Tomato Bushy Stunt Virus) en Tunisie sur tomate, piment et aubergine : Quelques caractéristiques de la souche tunisienne. *Agronomie*, 1983, 3 (7), pp.701-706. hal-02728195

HAL Id: hal-02728195

<https://hal.inrae.fr/hal-02728195v1>

Submitted on 2 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Identification du virus de rabougrissement buissonneux de la tomate (Tomato Bushy Stunt Virus) en Tunisie sur tomate, piment et aubergine : Quelques caractéristiques de la souche tunisienne

Christine CHERIF & Didier SPIRE

avec la collaboration technique de M. A. HASNI

INRAT, Laboratoire de Virologie végétale, 2080 Ariana - Tunisie

I.N.R.A., Station de Pathologie végétale, Route de Saint-Cyr, F 78000 Versailles

RÉSUMÉ

Depuis 1979, nous avons observé à de nombreuses reprises le virus du rabougrissement buissonneux de la tomate (Tomato Bushy Stunt Virus : TBSV) dans le Nord-Est de la Tunisie dans des cultures de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.), piment (*Capsicum annuum* L.) et aubergine (*Solanum melongena* L.). Le virus semble endémique dans la région et certaines années il provoque des dégâts importants. Les 3 isolats appartiennent à une même souche de TBSV, proche de la souche tomate décrite par SMITH en 1935. Parmi les variétés de tomate testées, 5 sont résistantes, 11 sensibles et 10 tolérantes. Aucune variété locale de piment n'est résistante. De nouveaux hôtes sensibles sont décrits ainsi qu'une méthode de purification sans ultracentrifugation.

Mots clés additionnels : Gamme d'hôtes, souches, sérologie, purification.

SUMMARY

Identification of Tomato Bushy Stunt Virus on tomato, pepper and eggplant in Tunisia. Some characteristics of the Tunisian strain.

Tomato Bushy Stunt Virus (TBSV) was observed in different places in Tunisia, specially in the North-East region. TBSV was encountered on tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) as well as pepper (*Capsicum annuum*) and eggplant (*Solanum melongena*). Serious reduction of yield was observed. After purification of the virus using a new method without ultracentrifugation, a strong antiserum was made. The host range of the virus was studied and new susceptible plants described. The three isolates of the virus belong to the same TBSV strain and were very similar to the original tomato strain described in 1935 by SMITH in Great Britain. Tomato varieties were tested for resistance. Five varieties were resistant, 11 susceptible and 10 tolerant. No local pepper varieties were resistant.

Additional key words : Host-range, strains, serology, purification.

I. INTRODUCTION

En Tunisie, les cultures maraîchères sont pour la plupart situées dans le Nord-Est du pays où la pluviométrie est supérieure à 400 mm par an et le long de la côte du Sahel (fig. 1). La tomate et le piment représentent 1/3 de cette production et couvrent 30 000 ha. Par contre, l'aubergine reste essentiellement une culture familiale. Ces 3 solanées maraîchères sont cultivées tout au long de l'année : en primeur, saison et arrière-saison. Au cours d'un inventaire des viroses qui attaquent ces cultures, nous avons identifié par voie biologique, d'une part sur tomate, la mosaïque du tabac et la mosaïque du concombre, d'autre part sur piment,

le virus Y de la pomme de terre, la mosaïque du tabac, la mosaïque du concombre et la mosaïque de la luzerne (CHERIF, données non publiées).

Au printemps 1979, une grave maladie est observée au Cap Bon (fig. 1) sur tomate, piment et aubergine. Celle-ci se caractérise par un rabougrissement marqué des plantes ; les feuilles sont petites, cloquées, enroulées et présentent des taches étoilées de couleur vert-clair ou jaune ; les feuilles plus anciennes ont des taches nécrotiques ; les fleurs ont tendance à avorter ; la production de fruits est extrêmement réduite et ceux-ci sont de petite taille (fig. 2 et 3). Chez l'aubergine, les rares fruits produits présentent des taches chlorotiques et des déformations.

une concentration de 8,5 p. 100. Le mélange est agité 30 mn à 4 °C, puis laissé au repos 24 h à 4 °C. Le virus est ensuite concentré par 2 cycles de centrifugations différentielles, l'un de 20 000 g, l'autre de 47 000 g (20 000 t/mn) pendant 3 h, dans un rotor JA-20 d'une centrifugeuse Beckman J-21. Les culots sont repris dans un faible volume de tampon phosphate monopotassique-disodique 0,03 M à pH 7,5. Après homogénéisation et une centrifugation à basse vitesse, le surnageant est traité à la chaleur (10 mn dans un bain-marie à 70 °C) et refroidi immédiatement. Ce procédé permet d'éliminer le reste de protéines normales ayant précipité avec le virus.

Quant aux tombusvirus utilisés pour les tests sérologiques, ils sont purifiés selon la méthode récemment décrite par KOENIG & KUNZE (1982).

C. Microscopie électronique

Les extraits purifiés sont examinés en microscopie électronique (« Philips » EM 300) après coloration négative à l'acide phosphotungstique (2 p. 100 à pH 7).

D. Tests sérologiques

Ces tests sont réalisés en immunodiffusion dans une gélose à 0,6 p. 100 additionnée de 0,85 p. 100 de NaCl et 0,2 p. 100 de NaN₃, le tout dissous dans un tampon 0,01 M

monopotassique-disodique pH 7,3. Les antigènes sont déposés 5 h avant les antisérums.

Deux antisérums contre les extraits « piment » et « tomate » sont obtenus après 6 injections intramusculaires d'extrait purifié additionné d'adjuvant complet de Freund. Leur dilution limite se situe entre 1/256 et 1/512 en présence d'extraits purifiés de virus.

Les antisérums *Petunia Asteroid Mosaic Virus* (PAMV) et *Pelargonium Leaf Curl Virus* (PLCV) ont été obtenus du Pr LOVISOLO de Turin ; *Artichoke Mottle Crinkle Virus* (AMCV), *TBSV-BS-3*, *Carnation Italian Ringspot Virus* (CIRV), *Cymbidium Ringspot Virus* (CyRSV) du Pr MARTELLI de Bari et *Eggplant Mottle Crinkle Virus* (EMCV) du Pr MAKKOUK de Beyrouth.

III. RÉSULTATS

A. Symptômes et gamme d'hôtes

Les extraits virosés des 3 espèces (tomate, piment, aubergine) provoquent les mêmes réactions sur plantes-hôtes. Celles-ci sont présentées dans la tableau 1.

L'infection naturelle de 5 variétés de tomates, « Cal-j », « Cintra », « Fandango », « Noria » (F. 197), et « Vémone » a été suivie dans les champs et sous abris-plastique. A la suite de ces observations, des essais ont été réalisés afin de

TABLEAU 1

Gamme d'hôtes de la souche tunisienne de TBSV.
Host range of the TBSV Tunisian strain.

Plantes inoculées	Réactions locales	Réaction généralisée	Plantes inoculées	Réactions locales	Réaction généralisée
<i>Atropa belladonna</i> L.	—	—	<i>Nicotiana clevelandii</i> Gray	II	S
<i>Capsicum annuum</i> L.	II	S	<i>N. debneyi</i> Domin	II	—
<i>C. chinense</i> Jacq	II	S	<i>N. glutinosa</i> L.	II	—
<i>C. flexuosum</i> Sendt.	—	—	<i>N. langsdorffii</i> Weinm	—	—
<i>C. frutescens</i> L.	—	—	<i>N. rustica</i> L.	II	—
var. « Tabasco »	II	—	<i>N. sanderae</i> Sander.	—	—
<i>C. luteum</i> Lam.	—	—	<i>N. tabacum</i> L. var. :		
<i>Celosia argentea</i> L.	II	S	« Samsun »	II	—
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	II	—	« White Burley »	—	—
Coste et Reyn			« Xanthi »	—	—
<i>C. quinoa</i> Willd.	II	—	« Burley BO-5 »	II	—
<i>Cucumis sativus</i> L.	II	—	<i>Ocimum basilicum</i> L.	II	—
<i>Datura innoxia</i> Mill.	II	—	<i>Pelargonium zonale</i> L.	II	—
<i>D. metel</i> L.	II	S	<i>Petunia hybrida</i> Vilm.	II	—
<i>D. stramonium</i> L.	II	S	<i>Phaseolus vulgaris</i> L. « Pinto »	II	—
<i>Gomphrena globosa</i> L.	II	—	<i>Physalis angulata</i> L.	—	SS
<i>Hyoscyamus albus</i> L.	II	—	<i>P. floridana</i> Rydb	II	—
<i>H. niger</i> L.	—	S	<i>P. peruviana</i> L.	—	—
<i>Lavatera trimestris</i> L.	II	—	<i>Senecio cruentus</i> DC.	II	—
<i>Lycium afrum</i> L.	—	—	<i>Solanum capsicastrum</i> LK.	—	SS
<i>Lycopersicum cerasiforme</i>	II	S	<i>S. dulcamara</i> L.	—	SS
(Dun.) Voss.			<i>S. melongena</i> L.	II	S
<i>L. esculentum</i> Mill.	II	S	<i>S. nigrum</i> L.	—	S
<i>L. hirsutum</i> Mill.	—	—	<i>S. sodomium</i> L.	—	—
<i>L. peruvianum</i> Mill.	—	S	<i>S. tuberosum</i> L. var. « Bintje »	II	—
<i>L. pimpinellifolium</i> Mill.	—	—	<i>Tropaeolum majus</i> L.	II	—
<i>Nicotiana acuminata</i> Hook	—	—	<i>Vigna sinensis</i> Savi	II	—
<i>N. bigelovii</i> (Tor.) Watson	II	S	<i>Zinnia elegans</i> Jacq.	II	—

II : Lésions locales ; *local lesions*.

S : Symptômes généralisés visibles ; *visible systemic symptoms*.

SS : Infection sans symptômes ; *infection without symptoms*.

— : Pas d'infection ; *no infection*.

tester la sensibilité de variétés et hybrides utilisés en Tunisie.

— 9 variétés sont infectées artificiellement par inoculation mécanique et manifestent des symptômes caractéristiques de l'infection par le TBSV : « Cal-j », « Canatella », « Epona », « GC-204 », « Montfavet H63-5 », « Noria » (F-197), « Porphyre », « Severiani », « Vémone ».

— 10 variétés sont infectées artificiellement par inoculation mécanique et ne manifestent pas de symptômes. Cependant le virus peut être mis en évidence au sommet de la plante par rétroinoculation : « Early PAK 7 », « Florida MH1 », « Lucy », « Momor », « Monita », « Ohio MR 12 », « Roma », « Tropic », « Ventura », « WN-63 ».

— Enfin 5 variétés ne sont infectées ni naturellement ni artificiellement et le virus ne peut être mis en évidence au sommet de la plante par rétroinoculation : « Jolimac », « Marmande », « Mobaci », « Motelle », « Piersol ».

Les variétés « Cintra » et « Fandango » n'ont pu être testées faute de semences. Cinq variétés locales de piment sont testées par inoculation mécanique ; elles sont toutes sensibles au TBSV : « le piment d'Algérie », « Beldi », d'« Hirat », « Korba » et « Meski ».

B. Purification et microscopie électronique

Les extraits ainsi purifiés, examinés au microscope électronique permettent l'observation de particules virales parasphériques de 30 nm de diamètre (fig. 4).

C. Sérologie

Lorsque les extraits correspondant aux isolats des 3 espèces, tomate (T), piment (P), aubergine (A) sont placés dans des réservoirs adjacents, on observe une ligne de précipitation continue, sans formation d'éperon, quel que soit l'antisérum utilisé. Les 3 isolats appartiennent à une seule et même souche de TBSV.

Cette souche comparée à d'autres tombusvirus (tabl. 2) donne les résultats suivants :

Avec la souche tomate (BS-3), le précipité obtenu forme une ligne continue. La souche tunisienne est donc très proche sinon identique à la BS-3 (fig. 5).

Par contre avec AMCV, PLCV, PAMV, EMCV et CIRV on observe un précipité avec formation d'éperons. Bien que reliés sérologiquement, ces virus sont différents comme l'indiquent la formation d'éperon, la comparaison des titres des antisérums en plus de leur gamme d'hôtes ; (LOVISOLO, 1957 ; HOLLINGS, 1962 ; HOLLINGS & STONE, 1965 ; MARTELLI, 1965 ; HOLLINGS *et al.*, 1970 ; CHERIF, 1981 ; MARTELLI, 1981 ; MAKKOUK *et al.*, 1981).

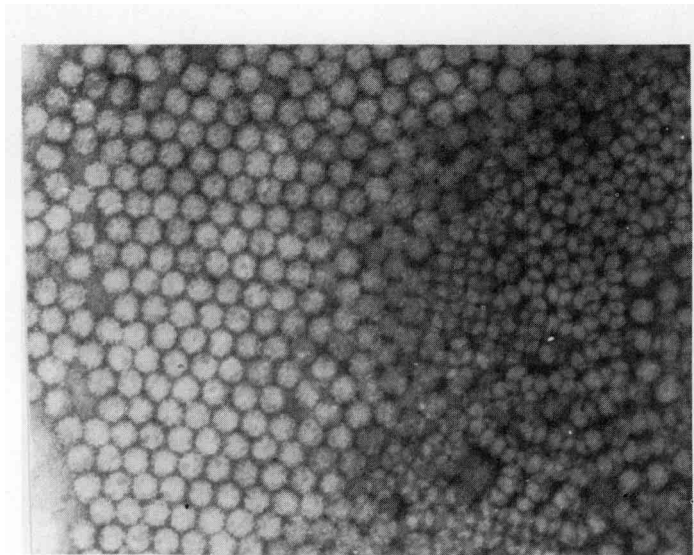


Figure 4

Aspect au microscope électronique d'un extrait purifié de la souche tunisienne de TBSV ($\times 135\ 000$).

Negatively stained particles of the Tunisian strain of TBSV.

Avec le Cymbidium Ringspot (CyRSV) aucune réaction n'est observée, ce qui confirme les résultats de HOLLINGS *et al.* (1977).

IV. DISCUSSION

Les propriétés biophysiques, morphologiques et sérologiques du virus isolé en Tunisie sont caractéristiques des tombusvirus. Sa gamme d'hôtes et ses propriétés sérologiques le rapprochent de la souche type de TBSV décrite par SMITH (1935). Cependant pour la première fois, une même souche de TBSV infecte en condition naturelle 3 espèces de solanées : la tomate, le piment et l'aubergine, sur lesquelles elle provoque des symptômes caractéristiques des tombusvirus. Les souches « tomate » décrites dans le monde n'infectent que cette espèce (SMITH, 1935 ; PONTIS *et al.*, 1968 ; MARTELLI *et al.*, 1972 ; MARTINEZ *et al.*, 1974 ; FISCHER & LOCKHART, 1977 ; BORGES *et al.*, 1979).

Les tests biologiques révèlent qu'en plus des hôtes sensibles propres aux autres souches « tomate » de ce virus, de nouveaux hôtes sont mis en évidence (tabl. 1). Il s'agit notamment de :

Celosia argentea L. : la formation de petites taches nécrotiques circulaires de couleur rouge généralisées à toute la plante, et nanisme marqué.

TABLEAU 2

Titres homologues et hétérologues de deux antisérums TBSV vis-à-vis d'extraits de différents Tombusvirus, en immunodiffusion.
Homologous and heterologous titres of two TBSV antisera facing some Tombusvirus extracts.

Antigènes (*)	TBSV BS-3	TBSV-Tun.	AMCV	PLCV	PAMV	EMCV	CIRV
Antisérums							
TBSV BS-3	128	128	32	32	16	8	8
TBSV-Tun.	128	128	32	32	16	8	8
S.D.I. (*)	0	0	2	2	3	4	4

(*) Serological Differential Index.

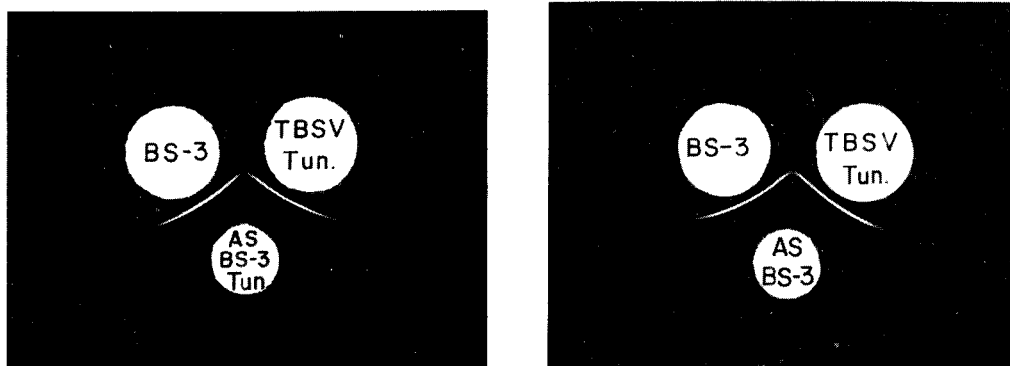


Figure 5
Comparaison sérologique des souches tunisiennes et BS-3 de TBSV.

Serological comparison of the Tunisian and BS-3 strains of TBSV.

Hyoscyamus niger L. : mosaïque jaune et nanisme si prononcé que les plantes ne dépassent pas 5 cm et restent en forme de rosette.

Lycopersicum cerasiforme (Dun) Voss : chlorose et nanisme.

Nicotiana bigelovii (Torrey) Watson : grandes lésions locales chlorotiques suivies de taches jaunes et flétrissement 10 à 15 j. après l'inoculation.

Datura stramonium L. extériorise les mêmes symptômes marqués de mosaïque et déformations avec les 3 souches « tomate » (tabl. 3), cependant la souche marocaine ne s'y généralise que chez les plantes très jeunes (FISCHER & LOCKHART, 1977). La souche marocaine provoque des lésions locales chlorotiques sur *D. metel* L., mais ne s'y généralise pas contrairement aux souches argentine (PONTIS

et al., 1968) et tunisienne qui produit une mosaïque plane. La souche anglaise de TBSV (SMITH, 1935) cause des lésions locales sur *Nicotiana langsdorfii* Weinm. et *N. tabacum* L. variété « White Burley », et les souches marocaines en provoquent également sur la variété « Xanthi », mais pas la souche tunisienne (tabl. 3).

Malgré les quelques différences énumérées ci-dessus, les souches « tomate » marocaine (FISCHER & LOCKHART, 1977) et tunisienne se rapprochent de la souche type de TBSV. Ces observations sont confirmées par les réactions de précipitation en immunodiffusion : la souche tunisienne semble tout à fait identique à la souche BS-3 de STEERE (1953), elle-même dérivée de celle de SMITH (1935).

Par contre, la souche « piment » ou Moroccan Pepper Virus (MPV) se généralise chez différents *Chenopodium*

TABLEAU 3

Comparaison des symptômes provoqués sur diverses espèces par les souches de TBSV qui attaquent les Solanacées maraîchères.
Comparison between TBSV strains infecting solanaceous vegetable crops.

Plantes - test	Souches marocaines				
	Souche anglaise tomate	tomate	piment	Souche libanaise aubergine	Souche tunisienne tomate, piment aubergine
<i>Capsicum annuum</i> L.	0	S	S +	0	S +
<i>Celosia argentea</i> L.	0	0	0	0	II/S
<i>Chenopodium amaranticolor</i> Coste et Reyn.	0	II	III/S	II	II
<i>Chenopodium</i> spp.	0	0	S	0	0
<i>Datura metel</i> L.	0	II	II	0	II/S
<i>D. stramonium</i> L.	II/S	± S	—	II	II/S
<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill	II/S	II/S	II/S	0	II/S
<i>L. pimpinellifolium</i> Mill.	0	II/S	II	0	—
<i>Nicotiana clevelandii</i> Gray	II/S	S	S	S	II/S
<i>N. langsdorfii</i> Weinm	II	II	II	0	—
<i>N. tabacum</i> L. var.					
« Samsun »	0	II	II	0	II
« White Burley »	II	II	II	II	—
« Xanthi »	0	II	II	0	—
<i>Physalis floridana</i> Rydb.	0	II	II	II/S	II
<i>Solanum melongena</i> L.	0	II/S	II/S	II/S	II/S
<i>Spinacia oleracea</i> L.	0	II	S	0	0
<i>Tropaeolum majus</i> L.	0	0	II	0	II

II : Lésions locales
S : Symptômes systémiques
S + : Symptômes sévères
— : La plante testée n'est pas infectée
0 : Non testée

Local lesions
Systemic symptoms
Strong symptoms
Not infected
Not tested

spp. ainsi que *Spinacia oleracea* L., mais pas chez *Datura stramonium* L. ni *D. metel* L. Ce virus est relié sérologiquement aux autres tombusvirus mais n'est identique à aucun d'entre eux (FISCHER & LOCKHART, 1977).

Au Liban, MAKKOUK *et al.*, (1981) ont décrit un tombusvirus sur aubergine : Eggplant Mottle Crinkle Virus (EMCV) dont les symptômes au champ sont semblables à ceux observés en Tunisie sur cette espèce. Cependant la gamme d'hôtes diffère : l'EMCV se généralise chez *Physalis floridana* Rybd. alors que la souche tunisienne n'y provoque que des lésions locales nécrotiques et n'infecte pas *Datura stramonium* L. De plus, comme le montre le tableau 2 et les travaux de MAKKOUK *et al.* (1981), ce virus, bien que relié sérologiquement à la souche type et à la souche tunisienne,

en est cependant éloigné. L'étude de l'épidémiologie de ce tombusvirus en Tunisie est en cours.

Reçu le 5 mai 1982.
Accepté le 25 mars 1983.

REMERCIEMENTS

Nous remercions les professeurs O. LOVISOLO (laboratorio di Fitovirologia applicata, Turin, Italie), K. M. MAKKOUK (Université américaine, Beyrouth, Liban), G. P. MARTELLI et M. RUSSO (Istituto di patologia vegetale, Bari, Italie), pour les dons de sérums et d'antigènes, Mme MICHON (Station de Pathologie végétale, Versailles) pour les observations en microscopie électronique, Mr. N. HAMZA (INRAT, Ariana, Tunisie) pour les dons de semences.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Borges M. L., Sequeira J. C., Louro D., 1979. Apparition au Portugal du Virus du Rabougrissement Buissonneux de la Tomate (Tomato Bushy Stunt Virus). Gamme d'hôtes, morphologie et localisation dans les cellules de piment. *Phytopathol. mediter.*, **18**, 118-122. (en portugais)
- Cherif C., 1981. *Contribution à la connaissance du Virus du Rabougrissement Buissonneux de la Tomate (Tomato Bushy Stunt Virus) en Tunisie*. Thèse 3^e cycle : Biol.-Physiol. vég., Paris 6, 85 p.
- Fischer H. U., Lockhart B. E. L., 1977. Identification and comparison of two isolates of Tomato Bushy Stunt Virus from pepper and tomato in Morocco. *Phytopathology*, **67**, 1352-1355.
- Hollings M., 1962. Studies of Pelargonium leaf curl virus. I. Host range, transmission and properties *in vitro*. *Ann. appl. Biol.*, **50**, 189-202.
- Hollings M., Stone O. M., 1965. Studies of Pelargonium leaf curl virus. II. Relationships to tomato bushy stunt and other viruses. *Ann. appl. Biol.*, **56**, 87-98.
- Hollings M., Stone O. M., Boutell G. C., 1970. Carnation Italian Ringspot Virus. *Ann. appl. Biol.*, **65**, 299-309.
- Hollings M., Stone O. M., Barton R. J., 1977. Pathology, soil transmission and characterization of Cymbidium ringspot, a virus from Cymbidium orchids and white clover (*Trifolium repens*) — *Ann. appl. Biol.*, **85**, 233-248.
- Koenig R., Kunze L., 1982. Identification of tombusvirus isolates from cherry in southern Germany as *Petunia asteroid* mosaic virus. *Phytopath. Z.*, **103**, 361-368.
- Lovisolo O., 1957. *Petunia* : nuovo ospite naturale del virus del rachitismo cespuglioso del pomodoro. *Boll. staz. Pat. veg.*, **14** (3), 103-119.
- Makkouk K. M., Koenig R., Leseman D. E., 1981. Characterization of a tombusvirus isolated from eggplant. *Phytopathology*, **71**, 572-577.
- Martelli G. P., 1965. L'arricciamento maculato del carciofo (*Cynara scolymus*). *Phytopathol. medit.*, **4**, 58-60.
- Martelli G. P., 1981. Tombusviruses — in *Handbook of Plant Virus infections and Comparative Diagnosis* pp. 61-90. E. Kurstak (ed). — Elsevier/North-Holland Biomedical Press.
- Martelli G. P., Quaquarelli A., Russo M., 1971. Tomato Bushy Stunt Virus in *Descriptions of Plant Viruses* — n° 69. CMI/AAB — Kew, Surrey England 4.
- Martinez A. J., Galindo J. A., Rodriguez M. R., 1974. Estudio sobre la enfermedad del « pinto » del tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) en la region de Actopan. *Hgo. Agrociencia*, **18**, 71-78.
- Pontis R. E., Garcia O., Feldman J. M., 1968. Tomato Bushy Stunt Virus on tomato crops in Argentina. *Plant. Dis. Rep.*, **52**, 676-677.
- Smith K. M., 1935. A new disease of the tomato. *Ann. appl. Biol.*, **22**, 731-741.
- Steere R. L., 1953. Strains of tomato bushy stunt virus. *Phytopathology*, **43**, 485.