

Le virus X de la pomme de terre au Burkina Faso : reconnaissance sérologique et biologique du virus.

Nicolas BARRO*, Gnissa KONATÉ*

Résumé

Au cours d'un inventaire des maladies virales des plantes maraîchères au Burkina Faso en 1991, 1992 et 1993, des symptômes de mosaïque ont été observés sur les feuilles de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) cv. Sahel. Le virus responsable de cette maladie a été identifié sur la base des symptômes de maladie provoqués chez des plantes indicatrices, de micrographie électronique du virus qui a révélé la présence de particules de Potexvirus de 515 nm, du test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) et de ces propriétés *in vitro* : il s'agissait du PVX. La maladie a été observée dans les principales zones de production de la pomme de terre.

Mots-clés : Pomme de terre, PVX, ELISA, transmission, gamme d'hôtes.

Occurrence of potato virus X in Burkina Faso : biological characterisation and serological recognition

Abstract

During investigations on vegetables crops viral diseases done in 1991, 1992 and 1993, symptoms of mosaic were observed on leaves of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. sahel. Filamentous potexvirus-like particles of about 515 nm were observed by electron microscopy. Serological behavior, transmission characteristics, stability in sap and host range shown that, the Potexvirus is PVX. The disease was observed in the main potato production areas.

Key words: Potato, PVX, ELISA, transmission, host range.

* Institut d'études et de recherches agricoles (INERA) Station de Kamboinsé 01 B.P. 476 Ouagadougou 01, Burkina Faso

Introduction

La pomme de terre est une importante culture maraîchère au Burkina Faso. Elle est cultivée en conditions irriguées pendant la saison sèche et froide de novembre à février. Les variétés cultivées sont importées et la plus répandue est la variété « Sahel ». La production annuelle est estimée à plus de 2 000 tonnes. Plusieurs virus infectant la pomme de terre dans le monde ont été rapportés (THURSTON, 1980). Ces virus se distinguent les uns des autres par plusieurs caractéristiques. Le virus X de la pomme de terre, le plus connu des virus de la pomme de terre, est un Potexvirus de 515 nm de long. En plus de la pomme de terre, il infecte la tomate sur laquelle il provoque une mosaïque (BERCKS, 1970). Le PVX, transmissible par inoculation mécanique, a une gamme restreinte d'hôtes expérimentaux. Il provoque sur la plupart de ces hôtes une mosaïque ou des tâches chlorotiques annulaires (BERCKS, 1970).

Au cours des prospections des maladies à virus des plantes maraîchères au Burkina Faso, des symptômes de mosaïque ont été observés sur les plants de pomme de terre dans de nombreux champs (BARRO, 1994). Le présent article rapporte les résultats de l'identification du virus responsable de ces symptômes.

Matériel et méthodes

Source d'inoculum

Des feuilles fraîches provenant de plantes malades de pomme de terre ont constitué la source d'inoculum. Le virus a été maintenu sur *Nicotiana benthamiana* Domin. et aussi dans les tubercules provenant de plantes malades.

Transmission

Inoculation mécanique

L'inoculum a été préparé en broyant 1 g de feuilles à symptômes dans 5 ml de tampon phosphate de sodium 0,05 M pH 7,0 contenant du bisulfite de sodium à 0,1%. Quinze plantules âgées d'environ un mois ont été utilisées pour chaque espèce. Les feuilles de ces plantes à infecter, préalablement saupoudrées de carborundum, ont été frottées avec du coton trempé dans l'inoculum. Les feuilles ont été ensuite rincées à l'eau du robinet.

Transmission par pucerons

Les pucerons forme aptères (*Aphis craccivora* Koch) ont été affamés pendant 4 h. Ils ont été ensuite déposés sur des feuilles de plants malades de pomme de terre pour une période d'acquisition de 5 à 10 mn, puis ont été transférés sur une dizaine de plants à tester à raison de dix insectes par plant pendant 1 h. Après ce temps d'inoculation, les insectes ont été tués par un traitement au deltaméthrine ((S) 6-cyano-3-phenoxybenzyl (1R,3R)-3 (2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclo-propane-carboxylate) à 12 g m.a./l.

Propriétés *in vitro*

Le point de dilution limite a été déterminé en faisant des dilutions successives de l'extrait brut dans le tampon phosphate de broyage. Le point d'inactivation thermique a été déterminé en chauffant des fractions de 2 ml d'inoculum à différentes températures pendant 10 mn. L'infectivité de chaque inoculum ainsi dilué ou traité à la chaleur a été testée par inoculation mécanique à 10 plantules de *N. benthamiana*.



Gamme d'hôtes

Douze lignées de piment à réaction différentielle vis-à-vis des sérotypes 1 et 2 du virus Y de la pomme de terre (PVY) ainsi que onze espèces de plantes ont été testées pour leur sensibilité à l'agent pathogène. Après inoculation mécanique de l'agent pathogène, les différents hôtes ont été gardés dans une chambre à l'abri des insectes, où la température variait entre 25 et 30° C et l'humidité relative entre 60 et 80 %. La photopériode était de 16 h. Au bout de trois à quatre semaines, les plants n'ayant pas présenté de symptômes ont été testés en ELISA et/ou sur des plants tests pour la mise en évidence d'infection.

Microscopie électronique

La méthode "leaf dip" avec coloration négative (HITCHBORN et HILLS, 1965) a été utilisée ; L'extrait à analyser a été préparé en lacérant un morceau de feuille malade de quelques millimètres carrés dans de l'acide phosphotungstique à 2 %, pH 6,5. Une grille de microscope électronique recouverte de carbone a été mise à flotter sur une goutte de cet extrait pendant 1 mn. La grille a été ensuite séchée et observée au microscope électronique.

Sérologie

Deux variantes du test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) sur plaque de microtitration NUNC 96F, ont été utilisées pour la reconnaissance de l'agent pathogène avec des kits de diagnostic (*Agdia Inc*) du PVX et des Potyvirus transmis par pucerons. Dans la première variante DAS-ELISA ; double anticorps sandwich, (VOLLER *et al.*, 1976), l'anticorps de recouvrement des plaques était de l'IgG de lapin anti-PVX à la concentration de 1µg/ml. Les extraits à analyser ont été préparés en broyant 1 g de tissus végétaux dans 10 ml de tampon d'extraction (tampon phosphate salin pH 7,4 contenant 0,05 % (v/v) de tween 20, 0,05 % (p/v) de bisulfite de sodium et 2 % (p/v) de polyvinylpyrrolidone). Un anticorps IgG de lapin anti-PVX couplé à la peroxydase a été utilisé comme anticorps de détection.

Le substrat (O-phénylènediamine dichlorure) a été utilisé à la concentration de 1mg/ml. Les absorbances dans chaque puits ont été mesurées à 492 nm au lecteur de plaque Uniskan II.

Dans la seconde variante, ACP-ELISA ; Antigen Coated Plate-ELISA, (VOLLER et BIDWELL, 1977), les extraits à analyser ont été préparés en broyant 1g de feuilles dans 10 ml de tampon carbonate 0,05 M pH 9,6. Un anticorps monoclonal universel de souris anti-potyvirus (PTY) a été utilisé comme anticorps de détection. L'anticorps de révélation était de l'IgG de chèvre anti-souris couplé à la phosphatase alcaline. Le p-nitrophénylphosphate (1mg/ml) a été utilisé comme substrat. La mesure de l'absorbance des puits a été faite à 405 nm.

Résultats

Symptômes

Les plants malades de pomme de terre étaient de petite taille. Sur les jeunes feuilles, d'aspect rugueux, on a observé une mosaïque jaune. Les feuilles plus âgées, considérablement réduites, étaient cloquées et enroulées vers le bas. Des lésions locales nécrotiques ont souvent été observées sur ces feuilles.

Microscopie électronique

La micrographie électronique a révélé la présence de nombreuses particules filamenteuses et légèrement flexueuses (figure 1). La taille de ces particules a été de 515 nm de long et 13 nm de large.

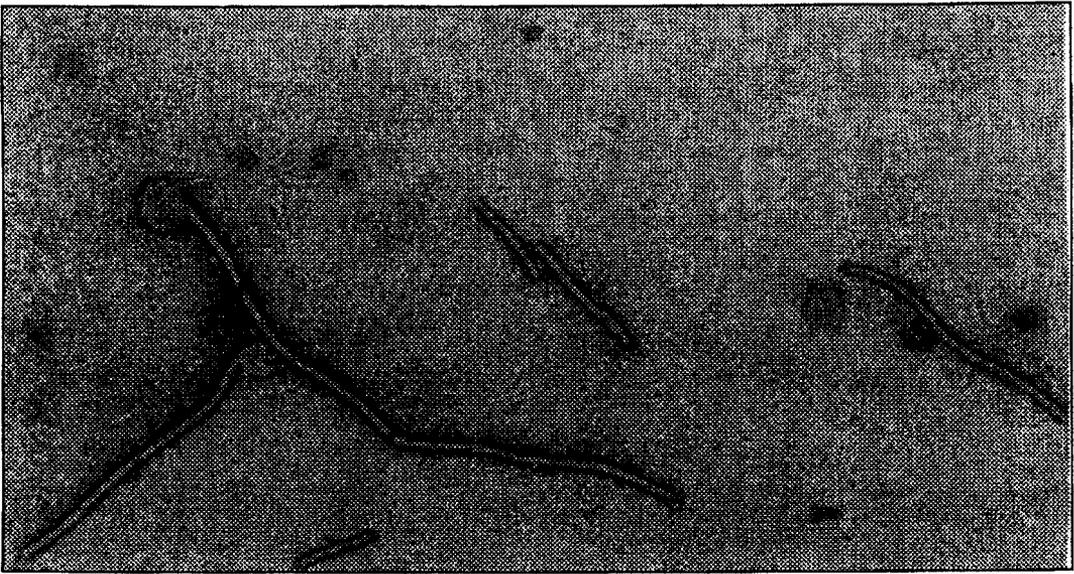


Figure 1. Particules du virus responsable de la mosaïque de la pomme de terre observées au microscope électronique en coloration négative à l'acide phosphotungstique à 2 % pH 6.5 (grossissement : X 55 000).

Sérologie

L'anticorps anti-PVX a réagi avec les extraits de feuilles à symptômes en donnant des Densités Optiques (DO) à 492 nm de 0,750 unités contre 0,045 unités pour les extraits de feuilles saines. Par contre, l'anticorps monoclonal universel anti-potyvirus a réagi avec les mêmes extraits en donnant les mêmes valeurs de DO à 405 nm (0,060 unités).

Transmission

L'inoculation mécanique du virus à *Nicotiana benthamiana* a toujours provoqué des lésions locales chlorotiques sur tous les plants testés au bout de 7 jours. Par contre, aucune infection n'a été observée lorsque les pucerons ont été utilisés pour transmettre le virus.

Stabilité du pouvoir infectieux

Le virus a gardé son infectivité dans les extraits de feuilles malades chauffés jusqu'à 75° C pendant 10 mn. Il a provoqué une infection à la dilution de 10⁶ mais pas à 10⁷.

Gamme d'hôtes

Les résultats consignés dans le tableau I indiquent la réaction de 12 lignées différentielles vis-à-vis du virus responsable de la mosaïque et des sérotypes 1 et 2 du PVY. Contrairement aux sérotypes du PVY, il a infecté *Capsicum annuum* lignée HD 801, mais n'a pas infecté la lignée Doux des landes. Il s'est également distingué des sérotypes 1 et 2 par la réaction des lignées Yolo Y, Avelar, Florida VR 2, HD 103, PM 687, CM 334 et Milord à l'infection. Par ailleurs, le virus responsable de la mosaïque de la pomme de terre a provoqué sur les espèces du genre *Nicotiana*, *Lycopersicon esculentum* Mill. et *Gomphrena globosa* L. (tableau II) des symptômes similaires à ceux provoqués par le virus X de la pomme de terre (PVX). Cependant, l'inoculation mécanique du virus n'a pas provoqué une infection chez *Chenopodium amaranticolor*.

Tableau I. Réaction des hôtes différentiels à l'infection par les sérotypes 1 et 2 du PVY et par l'agent responsable de la mosaïque de la pomme de terre.

Hôtes différentiels (lignées de piments)	Réactions		
	PVY 1	PVY 2	agent pathogène
Yolo wonder	S	S	S
Yolo Y	R(vy1)	S	S
Avelar	R(vy1)	S	S
Florida VR2	R(vy2)	S	S
Serrano vera cruz	Rp1,2	Rp1,2	R
Perennial	s	Rp1,2	R
PM 687	Rp0	S	R
CM 334	Rp1,2	S	R
HD 801	Rp1,2	Rp1,2	S
HD 103	Rp0	S	S
Milord	R(vy1)	S	R
Doux des Landes	S(n)	S	R

R : résistant ; r : faiblement résistant ; S : sensible ; s : faiblement sensible (symptômes faibles) ; (n) : nécrotisation systémique ; (L), (vy) : gène contrôlant la résistance ; TA : tâches annulaires ; Rp0, p1, p1,2 : résistant aux pathotypes 0, 1 ou 1-2, (S1) : sérotype 1 ; (S2) : sérotype 2 ; HD : double haploïde ; LLC : lésions locales chlorotiques..

Tableau II. Comparaison des symptômes induits par l'agent de la mosaïque à ceux du virus X de la pomme de terre (PVX).

Hôtes	réactions	
	PVX*	agent pathogène
SOLANACEAE		
<i>Solanum tuberosum</i> L.	MOS	MOS,
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	EC, MOS	EC, MOS
<i>Nicotiana benthamiana</i> Domin.	MOS	MOS, LLC
<i>N. glutinosa</i> L.	MOS	LLC, S, TC
<i>N. rustica</i> L.	TC	MOS, TC
<i>N. tabacum</i> cv. <i>Samsun</i>	TC	LLC, S, TC
<i>N. tabacum</i> cv. <i>xanthi</i> nc	TC	LLC, S, TC
<i>Datura stramonium</i> L.	TC	LLC, S, TC
AMARANTACEAE		
<i>Gomphrena globosa</i> L.	LLC	LLC
CHENOPODIACEAE		
<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	nr	LLC
<i>C. amaranticolor</i> Reyn. et Coste	LLC	0

MOS : mosaïque ; LLC : lésions locales chlorotiques ; nr : non rapporté ; S : infection systémique ; TA : taches annulaires ; LLN ; lésions locales nécrotiques ; 0 : pas d'infection ; VC ; éclaircissement des nervures.

* rapporté par BERCKS, 1970

Discussion et conclusion

La microscopie électronique a permis de relier aux symptômes de mosaïque observés sur la pomme de terre un seul type de particules virales dont les caractéristiques morphologiques sont celles des Potexvirus (KOENIG et LESEMANN, 1978). Les propriétés *in vitro* et la réaction de ce virus avec les IgG anti-PVX montrent également qu'il s'agit d'un virus membre de ce groupe. Parmi les Potexvirus, le PVX et le virus X du cactus (CaVX) ont des tailles voisines (515 nm et 520 nm respectivement) (KOENIG et LESEMANN, 1978). Cependant, le CaVX n'a jamais été rapporté sur la pomme de terre et aucune *Solanaceae* n'a été signalée dans sa gamme d'hôtes (ATTATHON *et al.*, 1978). Par ailleurs, le virus de la mosaïque "aucuba" de la pomme de terre (PAuMV) qui est un membre possible du groupe des Potexvirus, provoquerait sur la pomme de terre souvent des symptômes proches de ceux observés. Mais ce virus de 580 nm de long n'a pas de relation sérologique avec les Potexvirus et ne se transmet pas par inoculation mécanique (KASSANIS et GOVIER, 1972). Ainsi, le Potexvirus responsable des symptômes n'est ni le CaVX ni le PAuMV.

La comparaison de la gamme d'hôtes du virus responsable des symptômes observés à celle du PVX montre que ces deux virus sont similaires. En effet, sur la plupart des plantes hôtes du PVX, excepté *Chenopodium amaranticolor*, le virus a provoqué des symptômes tout à fait identiques à ceux provoqués par le PVX.

L'ensemble des résultats obtenus permet de relier aux symptômes de mosaïque de la pomme de terre le virus X de la pomme de terre (PVX). Le PVY qui est généralement associé au PVX dans les symptômes de mosaïque rugueuse de la pomme de terre (De BOKX et HUTTINGA, 1981), n'a pas été détecté dans les plants malades. □

Références bibliographiques

- ATTATHON S., WEATHERS L.G. et GUMPF D.J., 1978. Identification and characterisation of a potexvirus from barrel cactus. *Phytopathology* 68: 1401-1406.
- BARRO N., 1994. Caractérisation sérologique, biologique et aspects écologiques de quelques virus infectant les plantes maraîchères au Burkina Faso. Thèse de 3^e cycle en Sciences biologiques option Biochimie-Microbiologie spécialité virologie. FAST, Université de Ouagadougou. 171p.
- BERCKS R., 1970. Potato virus X. CMI/AAB Description of plant viruses n° 4, 3p.
- De BOKX J.A. et HUTTINGA H., 1981. Potato virus Y. CMI/AAB Description of plant viruses n° 6, 6p.
- HITCHBORN J.H. et HILLS G.J., 1965. The use of negativestaining in the electron microscopic examination of plant viruses in crude extracts. *Virology* 27: 528-540.
- KASSANIS B. et GOVIER D.A., 1972. Potato aucuba mosaic virus, CMI/AAB. Description of plant viruses. n° 98, 4p.
- KOENIG R. et LESEMANN D.E., 1978. Potexvirus group CMI/AAB Description of plant viruses. n° 200, 5p.
- THURSTON H.D., 1980. International potato disease research for developing countries. *Plant Disease*. 64 (3), 252-257.
- VOLLER A., BARTLETT A., BIDWELL D.E., CLARK M.F. et ADAMS A.N., 1976. Detection of plant viruses by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Journal of general virology* 33: 165-167.
- VOLLER A. et BIDWELL D.E., 1977. Enzyme immunoassays and their potential in diagnostics virology. "In" comparative diagnosis of viral diseases 2. E. Kurstak et C. Kurstak. 449-457. Academic press, New York.