

Caractérisation et distribution du virus de la panachure du poivron en Afrique de l'Ouest

Gnissa Konaté, Oumar Traoré

En Afrique de l'Ouest, le virus de la panachure du poivron (PVMV) a été décrit pour la première fois au Ghana [1]. Par la suite, il a été rapporté en Côte d'Ivoire [2], au Nigeria [3], en Éthiopie [4], au Sénégal, Togo et Burkina Faso [5]. Il s'agit d'un potyvirus transmis de façon non persistante par plusieurs espèces de pucerons [1], mais non par les graines [1]. Le PVMV est responsable de graves épidémies dans les champs de piments (*Capsicum frutescens* L.), de poivron (*C. annum* L.), de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) et d'aubergine (*Solanum integrifolium* L.). L'incidence du virus peut atteindre 50 à 100 %, entraînant des pertes importantes de production [3]. Le PVMV est sérologiquement relié à environ six autres potyvirus [2, 3]. Par ailleurs, des isolats du virus, différents par leur gamme d'hôtes et/ou par les symptômes qu'ils induisent, ont été rapportés [6].

Nos travaux ont caractérisé aux niveaux sérologique et pathogénique les isolats du PVMV prélevés dans deux zones écologiques différentes d'Afrique de l'Ouest : la zone tropicale humide à deux saisons des pluies et la zone soudano-

sahélienne à une saison des pluies. Une large prospection a été effectuée au Bénin et en Côte d'Ivoire (situés dans la zone tropicale humide), au Burkina Faso et au Mali (dans la zone soudano-sahélienne). Trois cent cinquante échantillons de feuille ont été collectés à partir de piments, d'aubergines (*S. melongena* et *S. integrifolium* L.), de tomate et d'adventices, en fonction des symptômes habituels du PVMV chez les piments (chlorose le long de la nervure centrale suivie d'une chlorose internervaire, nanisme des feuilles et distorsion) [1-3], chez la tomate (forte chlorose et distorsion des feuilles) [7], chez les aubergines (mosaïque et marbrure sur les feuilles [6], rabougrissement avec feuilles déformées portant une chlorose) [8], chez *Physalis angulata* L. (mosaïque et chlorose internervaire) [9].

Quatre isolats caractérisés du PVMV ont été utilisés comme référence : isolats du Cameroun (PVMV-C), [10], de la Côte d'Ivoire (PVMV-CI) [2] ou du Ghana (PVMV-G), [1], fournis par le Dr Palloix (Station d'amélioration des plantes maraîchères, Montfavet-France), et isolat du Nigeria (PVMV-Ni) fourni par le Dr Huguenot (Station de Vancouver, Canada). Les isolats du PVMV ont été maintenus sur la variété de poivron Yolo wonder.

Le PVMV a été détecté sérologiquement dans les échantillons de feuilles par la méthode de double anticorps sandwich direct du test ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) [11]. Un anticorps polyclonal de lapin anti-PVMV-N a été utilisé à la concentration de 1 µg/ml

pour recouvrir les puits de la plaque de microtitration (Nunc Maxisorp 96 F). Le même anticorps couplé à la phosphatase alcaline (Boehringer Mannheim) a servi à la détection du virus fixé par l'anticorps adsorbé sur la plaque. Le para-nitrophénylphosphate a été utilisé comme substrat de l'enzyme. L'intensité de la coloration résultant de l'hydrolyse du substrat a été mesurée à l'aide de la densité optique à 405 nm en utilisant un lecteur de plaque de type Uniskan II.

Pour éviter la co-infection éventuelle avec d'autres virus, les échantillons dans lesquels le PVMV a été détecté ont été utilisés comme source d'inoculum pour infecter le poivron CV Yolo wonder (hypersensible au virus de la mosaïque du tabac mais sensible au PVMV) puis, à partir de Yolo wonder, le PVMV a été inoculé au piment CV Serrano Vera-Cruz immun, aux virus Y de la pomme de terre et au virus du nanisme du tabac, mais sensible au PVMV. La même variété de piment a été utilisée pour rechercher une co-infection des échantillons par le virus de la mosaïque du concombre où l'infection de Serrano Vera-Cruz se traduit par des nécroses systémiques.

Le PVMV a été inoculé mécaniquement aux hôtes de la façon suivante : 1 g de feuille infectée a été broyé dans 10 ml de tampon phosphate de potassium 0,05 M pH 7,1 à l'aide d'un mortier et d'un pilon stériles. Les feuilles des plantes à infecter ont été saupoudrées de Carborundum, frottées délicatement à l'aide d'un coton-tige préalablement trempé dans le broyat, puis rincées à l'eau distillée.

G. Konaté, O. Traoré : LAF AUPELF-UREF 311, Institut de l'environnement et de recherches agricoles, INERA, 01 BP 476 Ouagadougou 01, Burkina Faso.

Tirés à part : Gnissa Konaté

La caractérisation biologique des isolats du PVMV a été réalisée par inoculation de *C. annuum* (CV Perennial, CV HD 801 et CV Avelar), de *L. esculentum* (CV Petomech) et de *S. melongena* (CV Florida market). Selon la station d'amélioration des plantes maraîchères de Montfavet, le CV Perennial est partiellement résistant et HD 801 est immun au PVMV [12]. Chaque isolat PVMV a été inoculé à cinq plants de chacun des quatre hôtes 6 semaines après semis. Les plants malades portant des symptômes ont été soumis à la détection sérologique du PVMV 1 mois après inoculation.

Une grande diversité de symptômes a été observée dans les quatre pays sur les nombreux écotypes de piment (jaunissement, enroulement, cloques, marbrure, mosaïque et chlorose internervaire des feuilles, avec parfois réduction de la taille des feuilles et/ou de la plante). Sur aubergines, les symptômes consistaient en un enroulement des jeunes feuilles vers le bas et/ou une accentuation de la dentellation, accompagnés d'un épaississement du limbe et des nervures. Sur tomate, on a observé un enroulement des feuilles vers le haut en forme de cuillère ou vers le bas en forme de crosse ainsi que la chlorose générale. Sur adventices comme *Cassia occidentalis* L., *Cassia obtusifolia* L., *Physalis angulata* L., *Ocimum basilicum* L., *Amaranthus hybridus* L., *Vernonia galamensis* (Cass) Less, il s'agissait principalement de mosaïques.

Les résultats de la détection du PVMV dans les 350 échantillons de feuille sont présentés dans le tableau 1. Environ 60 % des échantillons de piment et poivron, 25,5 % des échantillons d'aubergine et 23 % de ceux de tomate contenaient le PVMV. Le virus n'a été détecté dans aucun des 17 échantillons d'adventices. Au total, 188 échantillons contenaient le PVMV. La réactivité des 188 isolats PVMV vis-à-vis de cinq anticorps monoclonaux anti-PVMV-N [5] a permis de les répartir en deux sérogroupes (figure). L'un, comprenant 187 isolats, a réagi de la même manière que l'antigène homologue. Un seul isolat, collecté sur piment au Burkina Faso, a réagi positivement avec les anticorps monoclonaux 4A10 et 5D8 et comme le contrôle négatif (feuille saine de Yolo wonder) avec les anticorps 6C12, 7C10 et 8F8.

La tomate, l'aubergine et les différentes variétés de piments ont réagi à l'inocula-

Summary

Characterization and distribution of pepper veinal mottle virus in West Africa

Gnissa Konaté, Oumar Traoré

Pepper veinal mottle virus (PVMV) was first reported in Ghana and later in Côte d'Ivoire, Nigeria, Ethiopia, Senegal, Togo and Burkina Faso. It is a Potyvirus transmitted in a nonpersistent way by many aphid species, but it is not seed transmitted. In West Africa, its incidence can reach an epidemic scale in pepper, tomato and eggplant fields. PVMV is serologically related to six other Potyviruses. Our study was undertaken to assess distributions and pathogenic PVMV patterns in four West African countries, i.e. Benin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire and Mali. An extensive survey was conducted based on symptoms, host plants and agroecological zones. In an analysis of 350 leaf samples from pepper, tomato, eggplant and wild plants, PVMV was detected in 188 samples by DAS-ELISA (Table 1). Two epitope profiles of the virus were distinguished in IDAS-ELISA using five monoclonal antibodies (Mabs) raised against a PVMV isolate from Nigeria (Figure). The first profile included 187 isolates showing the same reaction as the original antigen with the five monoclonal antibodies. Only one isolate (from Burkina Faso) reacted like the negative control with three out of the five monoclonal antibodies, and like the homologous antigen with the two others. Using a wide host range (including two pepper lines, i.e. cv Perennial and cv HD 801, tomato, cv Petomech, and eggplant, cv Florida market), 148 PVMV isolates among the 188 were separated into two pathogroups (Table 2): one including 56 infected pepper (cv Perennial), tomato and eggplant isolates - while the other did not infect any of these hosts. It is concluded that in West Africa PVMV displays high serological homogeneity, which should make serological detection rather easy. The two pathogroups among PVMV isolates should be taken into account in breeding programs aimed at developing resistant pepper varieties.

Cahiers Agricultures 1999 ; 8 : 132-4.

Tableau 1

Détection sérologique du virus de la panachure du poivron PVMV dans des échantillons de feuilles présentant divers symptômes

Plante source	Détection du PVMV			
	Bénin	Burkina Faso	Côte d'Ivoire	Mali
Piment (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	63/104 ^a	35/40	33/50	15/28
Poivron (<i>Capsicum annuum</i> L.)	2/7	7/11	0/0	15/21
Aubergine (<i>Solanum integrifolium</i> L.)	0/2	2/8	4/18	6/19
Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	0/7	4/11	1/5	1/3
Adventices ^b	0/5	0/5	0/5	0/1

^a Nombre d'échantillons contenant le PVMV/nombre total d'échantillons.

^b *Physalis angulata* L., *Cassia occidentalis* L., *C. obtusifolia* L., *Vernonia galamensis* (Cass) Less, *Ocimum basilicum* L., *Amaranthus hybridus* L.

Serological detection of pepper veinal mobile virus (PVMV) in leaf samples showing different types of symptoms

tion de 148 isolats (tableau 2). Tous les isolats testés ont infecté les piments Yolo wonder, Serrano Vera-Cruz et Avelar tandis qu'aucun n'a infecté HD 801.

Certains isolats ont infecté simultanément *C. annuum* CV Perennial, *S. melongena* CV Florida market et *L. esculentum* CV Petomech.

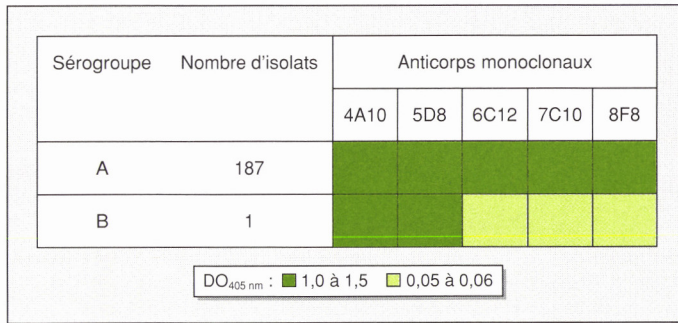


Figure. Réactivité en IDAS-ELISA de 188 isolats du virus de la panachure du poivron PVMV d'Afrique de l'Ouest contre cinq anticorps monoclonaux préparés contre un isolat PVMV du Nigeria (PVMV-N).

Figure. Reactivity in IDAS-ELISA of 188 West African pepper

veinal mottle virus (PVMV) against five monoclonal antibodies to a Nigerian PVMV isolate (PVMV-N).

Remerciements

Nous remercions le Dr Palloix (Station d'amélioration des plantes maraîchères, Montfavet, France) pour nous avoir fourni les isolats PVMV de référence de Côte d'Ivoire, du Ghana et du Cameroun ainsi que les lignées de piment et le Dr Claire Huguenot (Station de Vancouver, Canada) pour nous avoir fourni l'isolat PVMV du Nigeria et les anticorps monoclonaux.

Références

1. Brunt AA, Kenten RH. Pepper veinal mottle virus, a new member of the potato virus Y group from peppers (*Capsicum annum* L. and *C. frutescens* L.) in Ghana. *Ann Appl Biol* 1971 ; 69 : 235-43.
2. De Wijs JJ. Pepper veinal mottle virus in Ivory Coast. *Neth J Pl Path* 1973 ; 79 : 189-93.
3. Lana AO, Gilmer RM, Wilson GF, Shoyinka SA. An unusual new virus, possibly of potyvirus group, from pepper in Nigeria. *Phytopathol* 1975 ; 65 : 1329-32.
4. Agranovsky AA. Virus diseases of pepper (*Capsicum annum* L.) in Ethiopia. *J Phytopathol* 1993 ; 138 : 89-97.
5. Huguenot C, Furneaux MT, Clare J, Hamilton RI. Serodiagnosis of pepper veinal mottle virus in West Africa using specific monoclonal antibodies in DAS-ELISA. Final report of project. Development and application of serological techniques using monoclonal antibodies for detection economically important viruses in major African food crops 1996.
6. Brunt AA, Kenten RH, Phillips S. Symptomatically distinct strains of pepper veinal mottle virus from four West African solanaceous crops. *Ann Appl Biol* 1978 ; 88 : 115-9.
7. Ladipo JL, Roberts IM. Pepper veinal mottle associated with a streak disease of tomato in Nigeria. *Ann Appl Biol* 1977 ; 87 : 133-8.
8. Igwegbe ECK, Waterworth HE. Properties and serology of a strain of pepper veinal mottle virus isolated from eggplant (*Solanum melongena* L.) in Nigeria. *Phytoph Z* 1982 ; 103 : 9-12.
9. Givord L. Pepper veinal mottle virus in the weed *Physalis angulata* in the Ivory Coast. *Plant Dis* 1982 ; 66 : 1080-2.
10. Nino WR, Atibalentja N. Identification and characterization of pepper veinal mottle virus in Cameroon. *FAO Plant Prot Bull* 1993 ; 41 : 121-3.
11. Clark MF, Adams AN. Characteristics of the microplate method of ELISA for detection of plant viruses. *J Gen Virol* 1976 ; 34 : 475-83.
12. Gebre-Selassie K, Pochard E, Marchoux G, Thouvenel JC. New sources of resistance to pepper veinal mottle virus in pepper breeding lines. *6th meeting on genetics and breeding on Capsicum and Eggplant* (SP), Zaragoza, 1986 : 189-92.
13. Alegbejo MD. Identification of weed host of pepper veinal mottle virus in Northern Nigeria. *Samaru J Agric Res* 1987 ; 5 : 65-70.

Tableau 2

Inoculation d'isolats du virus de la panachure du poivron PVMV d'Afrique de l'Ouest sur des solanacées

Pays	<i>C. annum</i> CV HD 801	<i>C. frutescens</i> CV Perennial <i>L. esculentum</i> CV Petomech <i>S. melongena</i> CV Florida market	<i>C. annum</i> CV Yolo wonder <i>C. annum</i> CV Serrano Vera-Cruz <i>C. annum</i> CV Avelar
Bénin	0/37 ^a	21/37	37/37
Burkina Faso	0/37	8/37	37/37
Côte d'Ivoire	0/37	21/37	37/37
Mali	0/37	6/37	37/37
Total	0/148	56/148	148/148

^a Nombre de plants infectés/nombre de plants testés.

Inoculation of PVMV isolates from West Africa on Solanacea

Discussion et conclusion

Environ 50 % des échantillons collectés dans les champs contenaient le PVMV. Ce résultat suggère que, en Afrique de l'Ouest, d'autres virus infectent les piments, la tomate et les aubergines, en induisant des symptômes difficiles à distinguer de ceux du PVMV. Près de 90 % des isolats PVMV ont été collectés sur les piments (*C. frutescens* et *C. annum*), le reste étant isolé de tomate

(*L. esculentum*) et d'aubergines (*S. melongena* et *S. integrifolium*), hôtes naturels du PVMV. Nous n'avons pas retrouvé le virus sur *P. angulata* et *S. nigrum*, rapportés comme hôtes naturels du PVMV en Côte d'Ivoire et au Nigeria [9, 13]. Ceci traduirait une faible variabilité du virus qui rend le diagnostic sérologique du PVMV relativement simple ; les anticorps monoclonaux comme 4A10 et 5D8 sont tout à fait indiqués pour un tel diagnostic sur de vastes régions écologiquement différentes en Afrique de l'Ouest ■