

## Présence et répartition du virus de la jaunisse nécrotique de la fève" faba bean necrotic yellows virus (FBNYV) " au Maroc

El Amri A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Département de l'Amélioration des Plantes, B.P. 415 - INRA, Rabat

### Résumé

*La confirmation de la présence du virus "Faba Bean Necrotic Yellows (FBNYV)" et l'étude de sa distribution au Maroc sont les objectifs principaux de la présente étude. Les résultats des prospections réalisées pendant les campagnes agricoles 1996/97 et 1997/98 ont démontré une large distribution des symptômes de la jaunisse de la fève dans toutes les régions prospectées. Toutefois, les analyses sérologiques et biologiques des échantillons prélevés dans ces régions ont prouvé que le jaunissement, l'enroulement, le durcissement des feuilles et le rabougrissement des plantes ne sont pas dus uniquement à la présence de FBNYV. En effet, les deux virus FBNYV et celui de l'enroulement des feuilles de la fève (BLRV) ont été détectés, respectivement dans 21 et 64 % des 420 échantillons analysés. Malgré la présence de FBNYV dans toutes les zones visitées, la région du Moyen Atlas a été la plus infestée et constitue un foyer important de ce virus au Maroc.*

**Mots clés :** virus de la jaunisse nécrotique de la fève (FBNYV), identification, répartition, Maroc

### **Abstract : Identification and repartition of Faba bean necrotic yellows virus (FBNYV) in Morocco**

*The confirmation of the presence of Faba Bean Necrotic Yellows Virus (FBNYV) and the studies of its epidemiology are the main objectives of the present work.*

*The results of surveys conducted during 1996/97 and 1997/98 growing seasons showed the large distribution of the yellowing symptoms on faba bean in all the regions surveyed. Though, the serology and biological tests of the samples collected showed that the symptoms of yellowing and stunting of plants, the rolling and the thickening of leaves are not only related to the presence of FBNYV. Two viruses FBNYV and BLRV (Bean Leafroll Virus) were detected respectively in 21 and 64 % of the 420 samples analyzed.*

**Key Words :** Faba bean necrotic yellows virus (FBNYV), identification, repartition, Morocco

**ملخص :** تشخيص وانتشار فيروس الاصفرار النخري للقول (FBNYV) بالمغرب

العمرى ع.

المعهد الوطني للبحث الزراعي، قسم تحسين النباتات، ص.ب. 415، الرباط

ان اثبات وجود فيروس Faba bean necrotic yellows (FBNYV) و دراسة انتشاره في المغرب يشكلان الهدفين الرئيسيين لهذا البحث. لقد اظهرت نتائج الاستطلاعات التي اجريت خلال الموسمين الفلاحيين 97/1996 و 98/1997 الانتشار الواسع لفيروس (FBNYV) في كل المناطق التي تمت زيارتها. إلا أن الدراسات السيرولوجية و البيولوجية للعينات أكدت ان اصفرار و التواء و تصلب الاوراق إضافة إلى تقزم النبات ليست اعراضا ناتجة عن الاصابة بفيروس (FBNYV) فقط. وهكذا فقد تم العثور على فيروس التواء اوراق الفول (BLRV) و فيروس (FBNYV) على التوالي في 64 و 21% من مجموع 420 عينة تم تحليلها. بالرغم من وجود فيروس (FBNYV) في كل المناطق التي تمت زيارتها، فإن منطقة الاطلس المتوسط كانت الاكثر إصابة و تمثل مصدرا مهما لانتشار هذا الفيروس في المغرب.

**الكلمات المفتاحية :** Faba bean necrotic yellows، تشخيص، انتشار، المغرب

## Introduction

L'infection des légumineuses par les maladies à virus représente l'une des contraintes à l'amélioration de la production de ces cultures au Maroc. En effet, l'importance économique des viroses sur les cultures les plus touchées (fève, haricot, pois, luzerne et pois chiche) est expliquée par la gravité des dégâts engendrés par l'infection et par la vaste propagation de ces maladies dans toutes les régions du pays. La majorité de ces viroses est transmissible à la fois par les semences et par les pucerons vecteurs. La présence du virus dès la levée des plantes et la propagation rapide à l'aide des pucerons, exigent d'accorder une attention particulière pour lutter contre les maladies à virus affectant les légumineuses.

La jaunisse nécrotique de la fève ou " Faba Bean Necrotic Yellows Virus (FBNYV) " est une maladie virale récemment identifiée (Katul et al., 1993). L'agent causal est un virus à particules isométriques de 18 nm de diamètre. Le FBNYV est classé dans un nouveau groupe des virus des végétaux (Katul et al., 1995). Les virus appartenant à ce groupe ne sont pas transmis par la semence ou par la voie mécanique. Ils sont transmissibles par pucerons selon le mode persistant.

A l'échelle internationale, les études réalisées ont démontré une large distribution de FBNYV dans les pays de l'Asie Occidentale, de l'Afrique du Nord et en Ethiopie (Franz et al., 1996). Selon les mêmes auteurs, la répartition géographique du virus est très vaste et concerne probablement la zone située entre le Maroc et le Japon. Le FBNYV se trouve en Egypte à l'état épidémique depuis 1993 (Makkouk et al., 1994). Il est largement distribué dans toutes les régions de la culture des fèves et provoque des pertes de rendement estimées entre 50 et 100 % (Makkouk et al., 1994).

Au Maroc, les prospections effectuées depuis 1992 ont démontré une large distribution des symptômes de chlorose, enroulement et rabougrissement des plants de fève. Basés sur les observations visuelles, la gamme d'hôtes et la transmission par les pucerons vecteurs, ces symptômes ont été attribués dans un premier temps au virus de l'enroulement des feuilles de la fève (BLRV). Les résultats des recherches menées sur cette maladie ont démontré la présence au Maroc d'un autre virus qui provoque des symptômes similaires à ceux de BLRV (El Amri, 1993). En effet, le FBNYV et le BLRV sont difficiles à distinguer. Ils induisent des symptômes semblables sur fève, se transmettent par les mêmes espèces de pucerons vecteurs (Katul et al., 1993) et possèdent la même gamme d'hôtes naturels. L'identification de FBNYV dans des échantillons prélevés dans le Saïs (Franz et al., 1996) ainsi que la présence des symptômes de jaunisse et d'enroulement des feuilles dans toutes les régions prospectées, laissent penser à une répartition importante de ce virus destructif dans le pays.

Cette étude a été menée dans le but d'apporter des précisions concernant la présence et la répartition de FBNYV au Maroc. L'objectif donc est de confirmer l'identification de FBNYV dans les principales régions de la fève au Maroc.

## Matériel et méthodes

**Prospections :** les prospections de la fève ont été réalisées pendant les deux campagnes agricoles 1996/97 et 1997/98. Ces prospections ont concerné les principales zones de la culture des fèves au Maroc, à savoir les régions des Doukkala, Chaouia, Abda, Zaër, Saïs et du Moyen Atlas. Les parcelles ont été choisies au hasard, le long d'un itinéraire couvrant les principales zones de fève dans les régions visitées. Dans chaque parcelle visitée, le choix des échantillons a été basé sur le type de symptômes observés. Ainsi, les échantillons ont été collectés à partir des plantes rabougries et montrant un jaunissement systémique accompagné d'enroulement et de durcissement des feuilles. Le pourcentage des plantes avec jaunissement a été calculé sur des superficies d'un mètre carré, prises au hasard dans la diagonale de la parcelle. Au total, 120 champs de fève ont été visités durant les campagnes 1996/97 - 1997/98 et 462 échantillons ont été collectés dans l'ensemble des régions prospectées (Tableau 1). Quatre cents vingt de ces échantillons ont été analysés au laboratoire pour la présence de trois virus, à savoir le " faba bean necrotic yellows virus (FBNYV) ", le virus de l'enroulement des feuilles de la fève (BLRV) et le virus de la mosaïque jaune du haricot (BYMV).

**Identification biologique :** Le prélèvement des plantes sources de FBNYV a été effectué durant les prospections. Les 36 plants de fève montrant les symptômes de rabougrissement, jaunissement et enroulement des feuilles ont été repiqués en pots et examinés par sérologie. Sur la base des réactions sérologiques de ces plants testés avec les anticorps contre FBNYV, BLRV et BYMV, les plants réagissant uniquement au FBNYV ont été utilisés dans les tests de transmission par pucerons.

Les espèces de pucerons *Aphis fabae* Scopoli, *Acyrtosiphon pisum* Harris et *Aphis craccivora* Koch ont été utilisées dans la transmission de FBNYV à de jeunes plants de fève de la variété Aguadulce. Le choix de pucerons vecteurs est justifié par l'importance et l'impact des trois espèces sur la culture de fève dans les régions prospectées. L'élevage des pucerons a été

réalisé à partir des femelles adultes de ces espèces. Les larves avirulifères obtenues sont transférées sur des plantes de fève saines de la variété Aguadulce. La transmission du virus a été réalisée selon la procédure suivante : des pucerons non virulifères sont déposés sur les plantes sources pendant une période d'acquisition de 48 heures. Les pucerons virulifères sont transférés par la suite sur des jeunes fèves de la variété Aguadulce à raison de 10 individus / plantule. Le nombre de plantes inoculées a été de 10 jeunes fèves par région et par espèce de pucerons. Après une semaine, les plantes inoculées sont traitées par insecticide (Lindane à 75g/l) et maintenues pour la lecture des symptômes. La notation visuelle des symptômes a été réalisée quatre semaines après l'inoculation et la présence de FBNYV dans les plantes inoculées a été vérifiée par le test ELISA.

**Tableau 1.** Champs de fève examinés visuellement et échantillons prélevés pendant les prospections (campagnes 96/97 et 97/98)

Régions prospectées	Total des champs visités		Champs avec jaunissement		Nb d'échantillons prélevés	
	96/97	97/98	96/97	97/98	96/97	97/98
<b>Zaer</b> : Merchouche, El Gara, Rommani, Maaziz, Tiflet	18	16	13	9	47	101
<b>Doukkala-Chaouia</b> : Bir Jdid, El jadida, Oulad Saïd, Oulad Abbou, Berchid	17	21	7	9	27	89
<b>Saïs</b> : Khemisset, Meknès, Douyet, Zegota	-	13	-	10	-	84
<b>Moyen Atlas</b> : Fes, Sefrou, Annaceur, Ifrane, El Hajeb	12	6	12	6	51	48
<b>Abda</b> : Safi, Essaouira	17	-	4	-	15	-
<b>Total</b>	64	56	36	34	140	322

**Identification sérologique** : L'anticorps monoclonal dressé contre FBNYV, utilisé dans le test " triple antibody sandwich - ELISA (TAS-ELISA) " a été fourni par Vetten de l'Institut für Biochimie und Pflanzenvirologie, Braunschweig, Allemagne. Les deux anticorps polyclonaux (SV 64-95) et (SV 205-85), respectivement spécifique au BLRV et BYMV ont été fournis par Mak-kouk de l'ICARDA, Syrie. Ces derniers ont été purifiés et couplés à la phosphatase alcaline avant d'être utilisés dans le test " double antibody sandwich - ELISA (DAS-ELISA) ".

Les échantillons de fève collectés lors des prospections ont été utilisés dans l'identification sérologique. Chaque échantillon a été examiné individuellement et en double répétition pour la présence des trois virus : FBNYV, BLRV et BYMV.

## Résultats et discussions

**Prospections** : Les prospections réalisées pendant les deux campagnes 1996/97 et 1997/98 ont permis de noter la présence de la jaunisse de la fève dans l'ensemble des régions visitées. Les symptômes de jaunissement, rabougrissement des plantes, enroulement et durcissement des feuilles ont été observés dans 70 des 120 champs de fève visités (Tableau 1). La fré-

quence des parcelles montrant les symptômes de la maladie a été 65, 42, 77, 100 et 23 %, respectivement pour les régions de Zaer, Doukkala-Chaouia, Saïs, Atlas et Abda (Tableau 2). A noter que la répartition des parcelles infestées a été plus ou moins homogène dans les régions de Saïs et du Moyen Atlas. Pour la région Doukkala-Chaouia, les parcelles montrant les symptômes de la jaunisse ont été particulièrement concentrées autour de Bir Jdid et dans le périmètre Oulad Abbou - Oulad Saïd. Dans la région de Zaer, la fréquence des parcelles infestées a été plus importante dans les environs de Merchouch et entre Rommani et Maaziz. L'incidence du virus dans les parcelles visitées a été estimée à 36, 19, 63 et 12 %, respectivement pour les régions de Zaer, Doukkala-Chaouia, l'Atlas et Abda.

**Identification biologique :** Les plantes sources de virus ont été choisies sur la base de leur réaction vis-à-vis des anticorps contre FBNYV, BLRV et BYMV. Sur les 18 plants testés, deux ont été choisis comme plantes sources de virus. Les 16 autres plants ont été éliminés suite à l'absence de FBNYV ou en raison de leur contamination par BLRV et/ou BYMV.

Les tests de transmission par pucerons ont permis la reproduction des symptômes typiques de FBNYV. Les premiers symptômes ont été observés deux semaines après l'inoculation. Ils ont concerné les feuilles âgées qui sont devenues dures en montrant un jaunissement modéré des espaces situés entre les nervures. Quatre semaines après l'inoculation, le développement de la maladie est caractérisé par le jaunissement, le rabougrissement des plantes inoculées et l'apparition des taches nécrotiques sur les feuilles âgées. Ces taches gagnent rapidement la partie apicale de la plante provoquant sa mort.

Les tests de transmission par pucerons et l'évolution des symptômes dans les conditions du laboratoire ont permis de franchir un pas important dans l'identification biologique de l'agent causal de la jaunisse des fèves. Les résultats de la transmission par pucerons démontrent que les symptômes reproduits sont identiques à ceux provoqués par le FBNYV. L'identité du virus a été confirmée par sérologie. Ainsi, parmi les plants présentant les symptômes de jaunissement et de rabougrissement, dix ont été choisis au hasard et examinés par TAS-ELISA. Ce test a révélé la présence du virus (FBNYV) dans tous les échantillons analysés.

**Tableau 2.** Fréquence et incidence des maladies de jaunisse sur fève dans les régions prospectées

Régions	Fréquence		Incidence	
	Nbr. de champs	%	Nbre. de plantes	%
<b>Zaër :</b> Merchouche, El Gara, Rommani, Maaziz, Tiflet	22/34*	64,7	6,3/17,3**	36,4
<b>Doukkala-Chaouia :</b> Bir Jdid, El Jadida, Oulad Saïd, Oulad Abbou, Berchid	16/38	42,1	4,4/23,2	19
<b>Saïs :</b> Khemisset, Meknès, Douyet, Zegota	10/13	76,9	-	-
<b>Moyen Atlas :</b> Fes, Sefrou, Annaceur, Ifrane, El Hajeb	18/18	100	10,7/16,8	63,7
<b>Abda :</b> Safi, Essaouira	4/17	23,5	2,1/16,8	12,5
<b>Moyenne</b>		61,4		32,9

\* champs avec symptômes de jaunisse/total des champs examinés.

\*\* nombre moyen de plants avec symptômes/nombre moyen de plants par mètre carré.

Identification sérologique : DAS-ELISA a donné les meilleurs résultats lorsque les anticorps ont été dilués à 1 : 750 et 1 : 1000, respectivement pour les anticorps simples et conjugués de BLRV et 1 : 1000 pour les deux anticorps de BYMV.

Les résultats des analyses sérologiques ont permis l'identification de FBNYV dans l'ensemble des régions prospectées (Tableau 3). Les résultats des deux années de recherche ont démontré l'importance de ce virus dans la région du Moyen Atlas. Le pourcentage d'échantillons infectés par FBNYV dans cette région a été 43 et 35 %, respectivement pour les campagnes agricoles 1996/97 et 1997/98.

La présence des symptômes de la jaunisse dans 100 % des champs visités (Tableau 2) et le pourcentage élevé des échantillons positifs font de la région du Moyen Atlas un réservoir important de FBNYV au Maroc. Concernant les autres régions, la fréquence des cas positifs à ce virus a atteint 19, 21 et 7 %, respectivement pour Zaër, Doukkala-Chaouia et le Saïs. A noter l'importance de FBNYV dans les régions de Doukkala-Chaouia où la présence du virus est rapportée pour la première fois.

Pendant les deux campagnes 1996/97 et 1997/98, le virus de l'enroulement des feuilles de la fève (BLRV) a été le plus répandu sur fève au Maroc. Le pourcentage des échantillons positifs à ce virus a été le plus élevé : 53,5 à 79,8 % selon les régions prospectées. Par conséquent, les symptômes de jaunissement et rabougrissement des plants observés lors des prospections sont le plus souvent causés par BLRV.

La distribution de la mosaïque jaune du haricot (BYMV) a été relativement moins importante. Le pourcentage des échantillons positifs a été de 23,8 et 20,8 %, respectivement pour les régions les plus infestées de Saïs et du Moyen Atlas.

**Tableau 3.** Présence et répartition des virus FBNYV, BLRV et BYMV dans les échantillons prélevés lors des prospections (Campagnes 1996/97 et 1997/98)

Région	Nb. d'échantillons	nombre d'échantillons positifs à			Infection par un virus	Infection par 2 à 3 virus
		FBNYV	BLRV	BYMV		
<b>Campagne 96/97 :</b>						
-Zaer	47	9(19,1)*	26(55,3)	8(17,0)	23	7
-Moyen Atlas	51	22(43,1)	36(70,0)	11(21,5)	24	16
<b>Campagne 97/98 :</b>						
-Zaer	101	17(16,8)	54(53,5)	7(7,0)	48	15
-Doukkala-Chaouia	89	19(21,3)	71(79,8)	7(7,9)	53	20
-Saïs	84	6(7,1)	54(64,3)	20(23,8)	42	18
-Moyen Atlas	48	17(35,4)	29(60,4)	10(20,8)	23	15
<b>Total</b>	<b>420</b>	<b>90 (21,4)</b>	<b>270(64,3)</b>	<b>63(15,0)</b>	<b>213</b>	<b>91</b>

Les trois virus, FBNYV, BLRV et BYMV ont été identifiés dans les échantillons appartenant aux quatre régions prospectées (Tableau 3). Ainsi, sur les 420 échantillons examinés, 90 ont été infectés par FBNYV, 270 par BLRV et 63 par BYMV. A noter que 213 échantillons ont été infectés par un seul virus et 91 autres échantillons ont été infectés par deux à trois virus. L'utilisation des trois anticorps dressés contre FBNYV, BLRV et BYMV ont permis d'iden-

tifier l'agent causal de la jaunisse de la fève dans 304 sur les 420 échantillons examinés par ELISA. Les mêmes anticorps n'ont pas réussi à déterminer la nature de l'agent causal qui a provoqué les mêmes types de symptômes chez les 116 échantillons restant (Tableau 4). Cette observation est valable pour les deux campagnes 1996/97 et 1997/98 où le pourcentage des échantillons non identifiés a été 28,5 et 27,3 %, respectivement. La détermination de la nature des agents non identifiés sera possible en élargissant la gamme des anticorps à tester. A cet effet, l'étude des réactions des échantillons collectés vis-à-vis de trois autres anticorps est actuellement en cours.

**Tableau 4.** Résultats de l'identification des agents responsables des symptômes de la jaunisse dans les échantillons collectés durant les campagnes 1996/97 et 1997/98

Campagne agricole	Nombre des échantillons examinés	Identification de l'agent	
		Identifié	Non identifié
1996/1997	98	70	28(28,5)*
1997/1998	322	234	88(27,3)
Total	420	304	116(27,6)

\*Les chiffres entre parenthèses représentent les pourcentages des agents pathogènes non identifiés

## Conclusion

Le présent travail ayant pour objectifs l'identification et la répartition de FBNYV au Maroc nous a permis de dégager les conclusions suivantes :

□ Le virus FBNYV est identifié sur fève dans toutes les régions prospectées. Toutefois, la région du Moyen Atlas est la plus infestée et constitue un foyer important du virus. La gravité des dégâts occasionnés par ce virus et sa propagation rapide par les pucerons vecteurs font de cette maladie virale une menace pour la culture des légumineuses alimentaires et fourragères.

□ Les symptômes de jaunissement et rabougrissement des plants de fève ont été observés dans toutes les régions prospectées. Cependant, les analyses sérologiques ont démontré que les symptômes rencontrés ne sont pas dus uniquement à l'infection par " faba bean necrotic yellows virus (FBNYV) ".

□ Le virus de l'enroulement des feuilles de la fève (BLRV) est le plus répandu sur fève au Maroc. Soixante quatre pourcent des échantillons examinés ont été positifs à ce virus contre 21% des cas positifs à FBNYV. Par conséquent, le jaunissement systémique observé sur fève est le plus souvent du à l'infection par BLRV.

□ Les tests sérologiques ont démontré qu'une partie importante (27,6 %) des échantillons montrant les symptômes de la jaunisse de la fève n'a pas été infectée ni par FBNYV ni par BLRV. La possibilité de l'existence d'autre virus est à étudier moyennant l'élargissement de la gamme d'anticorps.

## Références bibliographiques

- El Amri, A. 1993. Identification et épidémiologie de Bean Leafroll Virus (BLRV) sur fève au Maroc. Rapport d'activités du laboratoire de Virologie, Département de Phytatrie, INRA, Kénitra, Maroc.
- Franz, A., K. M. Makkouk, L. Katul and H. J. Vetten. 1996. Monoclonal antibodies for the detection and differentiation of faba bean necrotic yellows virus isolates. *Annals of Applied Biology* 128 : 255-268.
- Katul, L., H. J. Vetten, E. Maiss, K. M. Makkouk, D. E. Lesemann and R. Casper. 1993. Characterization and serology of virus-like particles associated with faba bean necrotic yellows. *Annals of Applied Biology* 123 : 629-647.
- Katul, L., E. Maiss and H. J. Vetten. 1995. Sequence analysis of faba bean necrotic yellows virus DNA component containing a putative replicase gene. *Journal of General Virology* 76 : 475-479.
- Makkouk, K. M., L. Rizkallah, M. Madkour, M. El-Sherbeeny, S. G. Kumari, A. W. Amriti, M. B. Solh. 1994. Survey of faba bean (*Vicia fabae* L.) for viruses in Egypt. *Phytopathologia Mediterranea* 33 : 207-211.