

PATHOLOGIE VÉGÉTALE

Effet du pea seed-borne mosaic virus sur le rendement en graines du pois protéagineux

Ravinder Kumar KHETARPAL, Jean-Marie BOSSENEC, Alain BURGHOFFER (*), Roger COUSIN (*) & Yves MAURY

I.N.R.A., Station de Pathologie végétale,

() Station d'Amélioration des Plantes, route de St-Cyr, F 78026 Versailles Cedex*

RÉSUMÉ

Une expérimentation a été conduite sur 3 cultivars de pois pour apprécier l'effet du pea seed-borne mosaic virus sur le rendement. L'infection précoce a entraîné un retard de maturation d'environ 1 mois. Les graines, récoltées à maturité, étaient plus petites : une diminution du poids de 1 000 graines de 16 p. 100 a été enregistrée pour les cvs. Belinda et Finale en 1986 et de 28 p. 100 pour le cv. Amino, en 1984. Dans ce dernier cas, une augmentation du nombre de gousses — et de graines — sur les plantes infectées a partiellement compensé l'effet de la composante « calibre des graines » sur le rendement.

Pour ces 3 variétés, les graines de petit calibre transmettent le PSbMV avec une fréquence notablement plus élevée. Toutefois, l'élimination de ces graines de petit calibre ne suffirait pas à éradiquer l'inoculum primaire dans des lots de semences infectées.

Mots clés additionnels : *Transmission par la graine, ELISA.*

SUMMARY

Effect of pea seed-borne mosaic virus on yield of field pea.

In order to study the effect of PSbMV on yield, three commercial pea varieties were mechanically inoculated in the field. Early infection caused a delay of 4 to 5 weeks in maturity of the plants. Seeds harvested at maturity from the infected plants were smaller in diameter : a reduction in 1 000-grain weight of the order of 16 % was recorded for cvs. Belinda and Finale in 1986, and of 28 % for cv. Amino in 1984. In the latter case, the heavy reduction in grain weight was found to be partially compensated by the increase in number of pods produced per plant. In addition, in all three cultivars, small seeds were found to transmit PSbMV at a rate markedly higher than those of average and large seeds.

Additional key words : *Seed-transmitted virus, ELISA.*

I. INTRODUCTION

Le pea seed-borne mosaic virus (PSbMV) est un potyvirus que l'on trouve dans la plupart des zones de culture du pois. La transmission par la graine étant le facteur clé du point de vue épidémiologique, les programmes d'élimination des semences contaminées ont permis de maîtriser ce problème en Amérique du Nord (HAMPTON *et al.*, 1976). Vingt et une espèces de pucerons sont par ailleurs des vecteurs potentiels (cf. KHETARPAL & MAURY, 1987).

A l'occasion d'études réalisées en Tchécoslovaquie (KVICALA *et al.*, 1973), au Canada (CHIKO & ZIMMER, 1978) et aux U.S.A. (KRAFT & HAMPTON, 1980) des baisses de rendement potentielles variant de 11 à

36 p. 100 ont été enregistrées. Cependant une étude similaire réalisée en Nouvelle-Zélande a conclu à des effets négligeables (OVENDEN & ASHBY, 1981).

En France, le PSbMV n'avait pas été identifié jusqu'à ces dernières années, les symptômes au champ étant souvent difficiles à repérer. Nous avons pu établir sa présence dans la collection de gènes de l'I.N.R.A. et dans des parcelles de pois de printemps. Comme les surfaces semées en pois ne cessent de croître, il nous a paru utile d'analyser l'effet de ce virus « pernicieux » sur le rendement en graines des trois variétés de pois les plus cultivées.

II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

— L'expérimentation a porté sur des lots sains des 3 cultivars de pois suivants : cv. Amino (Ets Blondeau)

en 1984, cv. Finale et cv. Belinda (Station I.N.R.A. d'Amélioration des Plantes, Versailles) en 1986.

— La souche de PSbMV provient de la collection de lignées de pois de Versailles.

— Pour chaque cultivar, 2 microparcelles de 12 m × 5 m ont été délimitées, à une distance de 20 m dans le sens du vent dominant. Les pois ont été semés en lignes distantes de 35 cm, à la densité de 33 graines par mètre — ce qui correspond à la densité au mètre carré utilisée dans la pratique culturale —. Des treilles de 1,50 m de hauteur ont été installées comme support pour les plantes. En amont et en aval de chaque microparcelle, 3 rangées de pois sains ont été semées pour piéger en bordure un éventuel apport de virus de l'extérieur. Des filets anti-oiseaux ont, de plus, été ajoutés au-dessus des parcelles.

— L'inoculation a été pratiquée dans les parcelles « sous le vent » au stade de 3-4 feuilles, soit 6 semaines après le semis pour le cv. Amino et 1 mois après le semis pour les cvs. Finale et Belinda. L'inoculum était un broyat dans un tampon phosphate 0,01 M pH 7,4 (1/10, poids/volume) de feuilles prélevées sur des pois inoculés en serre 3 semaines auparavant. L'extrait ainsi obtenu a été inoculé en présence de carborundum sur 4 folioles pour chaque plante. Un contrôle du taux de réussite de l'infection a été effectué par la technique ELISA (CLARK & ADAMS, 1977). Dans le cas du cv. Amino, 116 plantes sur 120 testées individuellement ont donné une réponse positive, et 0 plante sur 40 dans la parcelle témoin non inoculée. Pour les 2 autres cultivars, seuls des tests sur groupes de plantes ont été effectués.

— La dissémination « contre le vent » du PSbMV dans la parcelle saine de cv. Amino a été étudiée sur les graines récoltées par une analyse de groupes en ELISA : les réponses négatives des embryons et positives des téguments (8 p. 100) indiquent qu'une infection secondaire par les pucerons à partir de la parcelle inoculée s'est produite à une période tardive (après la floraison) et sur un nombre modéré de plantes.

— La récolte a été effectuée soit manuellement (120 plantes de chaque parcelle pour les cvs. Belinda et Finale, 116 plantes infectées et 40 saines pour le cv. Amino), soit en utilisant une batteuse HEGE 125.

— Le calibrage des graines a été facilité par l'utilisation d'un calibre mis au point à l'« Institut für Landtechnik » de Bonn (RFA) selon les modalités décrites dans Seed Science & Technology (1976), 4, 738.

III. RÉSULTATS

A. Effet du PSbMV sur le cycle végétatif

L'inoculation précoce du pois par le PSbMV induit un retard de maturité très marqué. Si l'on se réfère au dessèchement des plantes, l'allongement du cycle végétatif était de 4 semaines pour le cv. Amino et de 5 semaines pour les cvs. Belinda et Finale.

B. Effet du PSbMV sur le rendement

1. cv. Amino

L'infection par le PSbMV entraîne une baisse de rendement de 15 p. 100 et une diminution du poids de

1 000 graines de 28 p. 100 (tabl. 1). Le nombre de graines par plante infectée est donc supérieur au nombre moyen de graines produites par les plantes saines.

TABLEAU 1

Effet du PSbMV sur le rendement du pois cv. Amino, après inoculation expérimentale au stade de croissance 3-4 feuilles. Les mesures concernent 985 plantes de la parcelle saine et 700 plantes de la parcelle infectée.

Effect of PSbMV on yield of pea cv. Amino after an experimental inoculation at an early growth stage of 3-4 leaves : 700 plants from the infected plot and 985 from the control were considered.

Origine des plantes	Production de graines		Poids de 1 000 graines	
	Poids moyen par plante (grammes)	Témoins %	Grammes	Témoins %
Parcelle infectée	9,72	85	196,8 ± 14	72
Parcelle saine	11,42	100	275 ± 7,7	100

Ceci a été vérifié à partir des 116 plantes positives en ELISA : on peut constater que le PSbMV ne modifie pas le nombre de graines par gousse de façon significative ; par contre, le nombre de gousses par plante infectée est significativement supérieur au témoin (tabl. 2).

TABLEAU 2

Effet du PSbMV sur trois composantes du rendement pour trois cv. de pois. Ces moyennes ont été obtenues à partir de 120 plantes sauf pour le cv. Amino (116 plantes infectées et 40 plantes saines).

(a) = différence significative, (b) = différence non significative au seuil de probabilité 0,05, par le test de comparaison de 2 moyennes.

Effect of PSbMV on the average number of seeds per pod, pods per plant and seeds per plant of three cultivars of pea. These average numbers result from an analysis of 120 plants except for cv. Amino (116 infected plants and 40 healthy plants).

Means are (a) significantly different, (b) not significantly different at 5 % level, according to Student's t test.

Cultivar		Nombre moyen		
		Graines par gousse	Gousses par plante	Graines par plante
AMINO	Infecté	4,57(b)	12,22(a)	56,3 (a)
	Sain	4,82(b)	9,30(a)	45,0 (a)
BELINDA	Infecté	4,22(a)	6,89(a)	29,09(b)
	Sain	4,76(a)	6,04(a)	28,56(b)
FINALE	Infecté	3,91(a)	5,80(a)	23,01(a)
	Sain	5,08(a)	6,38(a)	32,40(a)

Le rendement moyen par plante, mesuré à partir de la récolte globale (tabl. 1), est inférieur à celui qu'on peut calculer en multipliant le nombre moyen de graines sur les plantes analysées 1 à 1 (tabl. 2) par le poids moyen d'une graine. Cette différence comparable pour les

récoltes saine et infectée est liée au rendement de battage.

2. cvs. *Belinda* et *Finale*

Pour le cv. *Belinda*, le poids de 1 000 graines est de 265 ± 16 g pour la parcelle inoculée et de 314 ± 9 g pour la parcelle témoin. Pour le cv. *Finale* ces valeurs sont respectivement de 279 ± 10 g et de 331 ± 19 g. Dans ces 2 cas, la perte sur le poids de 1 000 graines est donc de 16 p. 100. Le nombre de graines chez les plantes infectées n'est pas augmenté dans l'expérimentation réalisée en 1986 (tabl. 2).

Pour le cv. *Belinda*, la différence en nombre de graines entre plante infectée et plante saine n'est pas significative : en effet, le nombre inférieur de graines par gousse compense chez les plantes infectées le nombre de gousses significativement supérieur au témoin.

Pour le cv. *Finale*, le nombre de graines produites par les plantes infectées est largement inférieur au témoin en raison de la diminution significative du nombre de graines par gousse et du nombre de gousses par plante infectée.

C. Distribution des graines en fonction du calibre

Le PSbMV exerce un effet marqué de réduction du calibre des graines. Dans le cas du cv. *Amino*, la distribution de 5 kg de graines par classes de calibre variant de 0,5 mm montre que 80,7 p. 100 (en poids) de la population de graines saines a un calibre supérieur ou égal à 7 mm contre 30,8 p. 100 de la population issue de la parcelle infectée (fig. 1). Dans le cas du cv. *Belinda*, si l'on se réfère au calibre 7,5 mm, ces pourcentages (en nombre de graines) sont de 61 p. 100 pour la récolte de plantes saines et 23,5 p. 100 pour celle des plantes inoculées. Ces nombres sont respectivement de 74 p. 100 et 33,6 p. 100 pour le cv. *Finale*.

D. Taux de transmission du PSbMV par la semence de pois

1. cv. *Amino*

Un test ELISA a été pratiqué sur 30 groupes de 30 embryons selon les modalités décrites précédemment (MAURY *et al.*, 1987a et b). Parmi ces 30 groupes, 16 ont donné une réaction positive en ELISA ce qui signifie (MAURY *et al.*, 1985) que le pourcentage de transmission le plus probable est de 2,5 p. 100 (intervalle de confiance au seuil 0,95 : 1,48-3,91).

Pour analyser l'évolution de la transmission en fonction du calibre, 4 échantillons de 600 graines correspondant à 4 calibres différents ont été soumis au test ELISA après répartition en 60 groupes de 10 embryons : les petites graines transmettent PSbMV à un taux beaucoup plus élevé que les graines de gros calibre (tabl. 3). On a vérifié que la baisse du taux de transmission dans les classes de calibre supérieur n'était pas due à une participation importante d'embryons provenant de plantes pour lesquelles l'inoculation n'aurait pas été réussie : le test ELISA pratiqué sur les téguments de

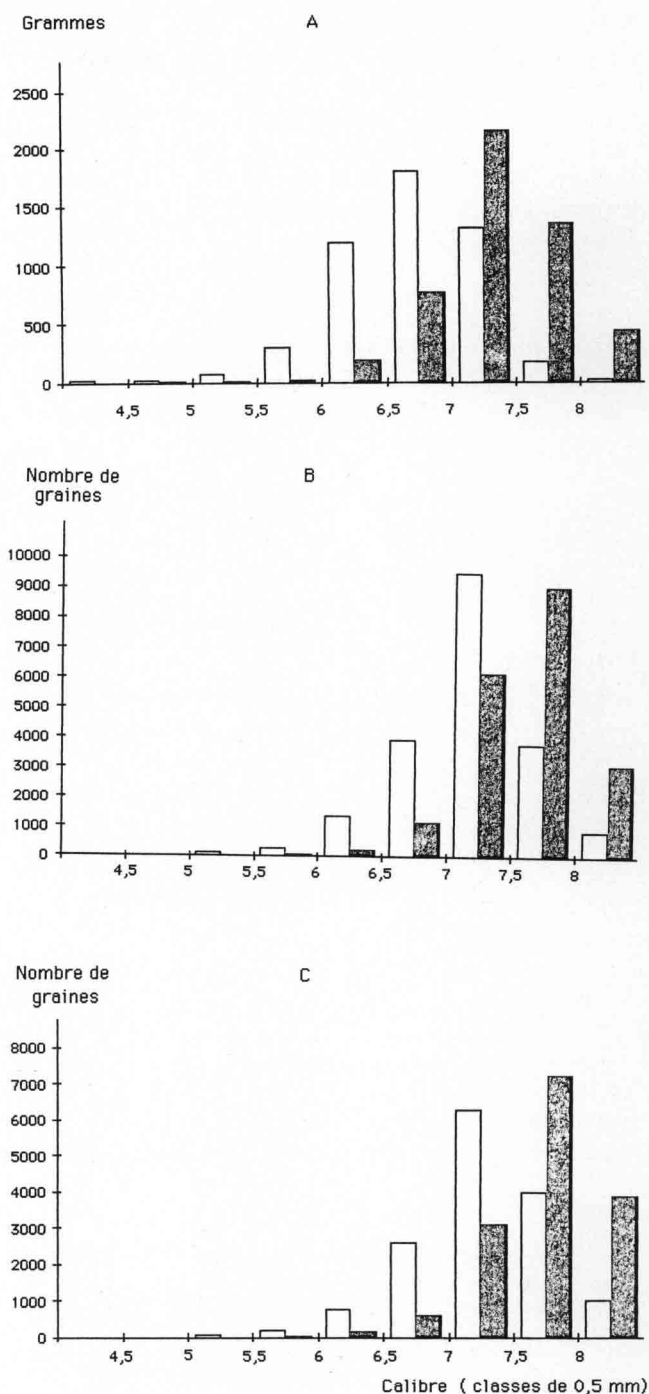


FIG. 1

Figure 1

Répartition de graines récoltées dans les parcelles infectées (□) et dans les parcelles témoins (■) en classes de calibre variant de 0,5 mm.

A — cv. *Amino* : 5 kg de graines.

B — cv. *Belinda* : 20 000 graines.

C — cv. *Finale* : 15 000 graines.

Distribution of seeds from both inoculated (□) and control (■) plots into classes of different diameter sizes.

A — cv. *Amino* : 5 kg seed.

B — cv. *Belinda* : 20 000 seeds.

C — cv. *Finale* : 15 000 seeds.

20 graines prélevées au hasard dans chacune des 4 catégories a donné 19 réponses positives pour la catégorie correspondant à un calibre supérieur à 7 mm et 20 réponses positives pour les 3 autres catégories.

2. cvs. *Belinda* et *Finale*

Les graines récoltées dans les parcelles inoculées transmettent le PSbMV avec une fréquence de 2,5 p. 100 (*Belinda*) et 1,9 p. 100 (*Finale*). Le test ELISA pratiqué sur 30 groupes de 10 embryons pour 6 calibres différents confirme l'augmentation très nette de transmission par les graines de petit calibre (tabl. 3).

IV. DISCUSSION

Dans les conditions expérimentales que nous avons décrites, le PSbMV a provoqué une baisse de rendement

du pois de l'ordre de 15 p. 100 dans le cas des cvs. *Amino* et *Belinda* et une perte supérieure à 15 p. 100 dans le cas du cv. *Finale*. Cet effet est notable pour un virus souvent difficile à repérer, le symptôme le plus évident au champ étant, en fin de cycle, le retard de maturation. Notons que la récolte des plantes infectées a été effectuée à maturité, ce qui minimise l'évaluation de l'influence de l'infection sur le rendement par rapport aux conditions habituelles de culture. Occasionnellement, des lignes sinueuses nécrotiques ont été observées sur des graines produites par des plantes infectées par le PSbMV. Ce symptôme, observé sous la forme d'éclatement des téguments (STEVENSEN & HAGEDORN, 1970),

TABLEAU 3

Variation du pourcentage de transmission du PSbMV en fonction du calibre (C) des graines.

A — Quatre classes de calibre ont été considérées pour le cv. Amino.

B et C — Six classes ont été considérées pour les cvs. Belinda et Finale.

Percent seed transmission of PSbMV in three cultivars of pea as influenced by seed size (C).

A — cv. Amino distributed in 4 diameter classes.

B and C — cvs. Belinda and Finale distributed in 6 diameter classes.

A - cv AMINO

Calibre (mm)	$C < 5,5$	$5,5 \leq C < 6,5$	$6,5 \leq C < 7$	$7 \leq C$
Groupes de 10 embryons ELISA + sur 60 groupes	21	21	6	8
% transmission le plus probable	4,22	4,22	1,05	1,42
Int. de confiance $P = 0,95$	2,73---6,26	2,73---6,26	0,48---2,23	0,71---2,73

B - cv. BELINDA

Calibre (mm)	$C < 6$	$6 \leq C < 6,5$	$6,5 \leq C < 7$	$7 \leq C < 7,5$	$7,5 \leq C < 8$	$8 \leq C$
Groupes de 10 embryons ELISA + sur 30 groupes	11	12	9	2	6	1
% transmission le plus probable	4,46	4,98	3,5	0,69	1,81	0,34
Int. de confiance $P = 0,95$	7,57---2,44	8,24---2,78	6,31---1,81	2,37---0,19	4,01---0,76	1,81---0,006

C - cv. FINALE

Calibre (mm)	$C < 6$	$6 \leq C < 6,5$	$6,5 \leq C < 7$	$7 \leq C < 7,5$	$7,5 \leq C < 8$	$8 \leq C$
Groupes de 10 embryons ELISA + sur 30 groupes	9	7	6	4	2	3
% transmission le plus probable	3,5	2,61	2,21	1,42	1,42	1,05
Int. de confiance $P = 0,95$	6,31---1,81	5,13---1,25	4,56---0,99	3,46---0,54	3,46---0,54	2,92---0,35

et plus fréquent sur les variétés de pois ridés (J. FLETCHER et R. SCOTT, Nouvelle-Zélande, communication personnelle), n'a pas un rapport direct avec la transmissibilité du virus par la graine (MAURY *et al.*, 1987a).

L'effet dépressif du PSbMV se traduit par une réduction marquée du calibre des graines pour les 3 cultivars et une diminution du poids de 1 000 graines. Toutefois, la diminution du poids de 1 000 graines ne correspond à la perte de rendement globale que pour le cv. Belinda.

Elle est partiellement compensée dans le cas du cv. Amino par la production chez les plantes infectées d'un nombre de graines supérieur à celui des plantes saines, par suite d'une augmentation marquée du nombre de gousses vraisemblablement en rapport avec l'allongement du cycle végétatif chez les plantes infectées. Cette augmentation du nombre de gousses en réponse à l'infection par le PSbMV a déjà été signalée par CHIKO & ZIMMER (1978) pour certains cultivars canadiens et reliée à la précocité de l'inoculation. Elle n'est toutefois pas enregistrée pour tous les cultivars ; en particulier, pour le cv. Finale, le nombre de gousses par plante infectée est inférieur à celui des plantes saines malgré l'allongement du cycle végétatif. La diminution du poids de 1 000 graines est, dans ce cas, une estimation par défaut de la perte de rendement.

La transmission du PSbMV par la semence récoltée sur les parcelles infectées est, pour ces 3 cultivars, de l'ordre de 2 à 3 p. 100 ; cette valeur relativement faible est une caractéristique intéressante. Toutefois, des mesures préliminaires de dissémination indiquent qu'un inoculum primaire de cette importance est largement suffisant pour être à l'origine d'une épidémie généralisée lorsque les vols de pucerons vecteurs apparaissent à une phase précoce du cycle végétatif.

La mesure précise du taux de transmission montre que les graines de petit calibre transmettent le PSbMV à une fréquence 3 à 4 fois supérieure à celle des autres graines. Ce résultat confirme et précise une observation antérieure de STEVENSON & HAGEDORN (1973). Ce taux de transmission élevé concerne non seulement un calibre marginal susceptible d'être éliminé avant commercialisation de la semence mais aussi les calibres « moyennement petits » qui représentent environ 30 p. 100 des graines. Un assainissement de cette semence sur la base d'un tri ne peut donc être envisagé, d'autant que, par ailleurs, l'inoculum primaire apporté par les graines de calibre supérieur n'est pas négligeable. D'où l'intérêt d'une méthode efficace, basée sur le test ELISA (MAURY *et al.*, 1987a, 1987b) pour sélectionner des lots de semence saine.

Reçu le 5 janvier 1988.

Accepté le 3 juillet 1988.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chiko A. W., Zimmer R. C., 1978. Effect of pea seed-borne mosaic virus on two cultivars of field pea grown in Manitoba. *Can. J. Plant Sci.*, **58**, 1073-1080.
- Clark M. F., Adams A. N., 1977. Characteristics of the microplate method of ELISA for the detection of plant viruses. *J. gen. Virol.*, **34**, 475-483.
- Hampton R. O., Mink G. I., Hamilton R. I., Kraft J. M., Meuhlbauer F. J., 1976. Occurrence of pea seed-borne mosaic virus in North American pea breeding lines, and procedures for its elimination. *Plant. Dis. Repr.*, **60**, 455-459.
- Khetarpal R. K., Maury Y., 1987. Pea seed-borne mosaic virus : a review. *Agronomie*, **7**, 215-224.
- Kraft J. M., Hampton R. O., 1980. Crop losses from pea seed-borne mosaic virus in six processing pea cultivars. *Plant Dis.*, **64**, 922-924.
- Kvicala B. A., Leskova O., Musil M., 1973. A seed-borne pea leaf-rolling mosaic virus of pulse crops in Czechoslovakia. *Ochrana Rostlin*, **9**, 271-280.
- Maury Y., Duby C., Bossennec J. M., Boudazin G., 1985. Group analysis using ELISA : determination of the level of transmission of soybean mosaic virus in soybean seed. *Agronomie*, **5**, 405-415.
- Maury Y., Bossennec J. M., Boudazin G., 1987a. Virus transmis par les graines de légumineuses : méthode d'évaluation rapide du taux de transmission d'un lot de graines. *Bull. OEPP*, **17**, 149-155.
- Maury Y., Bossennec J. M., Boudazin G., Hampton R. O., Pietersen G., Maguire J., 1987b. Factors influencing ELISA evaluation of transmission of pea seed-borne mosaic virus in infected pea seed : seed-group size and seed decortication. *Agronomie*, **7**, 225-230.
- Ovenden G. E., Ashby J. W., 1981. The effect of pea seed-borne mosaic virus on yield of peas. *Proc. Agronomy Soc. N.Z.*, **11**, 61-63.
- Stevenson W. R., Hagedorn D. J., 1970. Effect of seed size and condition on condition of pea seed-borne mosaic virus. *Phytopathology*, **60**, 1148-1149.
- Stevenson W. R., Hagedorn D. J., 1973. Further studies on seed transmission of pea seed-borne mosaic virus in *Pisum sativum*. *Plant Dis. Repr.*, **57**, 248-252.