

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER

CENTRE D'ADIPODOUME

Laboratoire de Virologie

INITIATION A LA VIROLOGIE DES PLANTES MARAICHERES

Rapport de Stage présenté par M. Henri MANGA  
Centre pour le Développement  
de l'Horticulture - République du Sénégal - F.A.O.

Sous la direction de :

Mr. FAUQUET C.

Mr. THOUVENEL J.C.

Sept.-Nov. 1975

## PLAN DU RAPPORT

I - <u>INTRODUCTION.</u>	1
II - <u>GENERALITES SUR LES VIRUS.</u>	1
1°) Description.	1
2°) Grands types de virus.	1
3°) Importance de l'infection sur l'âge de la plante.	2
III - <u>PRINCIPES D'IDENTIFICATION.</u>	2
1°) Symptomatologie.	2
2°) Gamme d'hôtes.	3
3°) Modes de transmission.	4
4°) Propriétés biologiques.	6
5°) Purification.	8
6°) Sérologie.	10
7°) Microscopie électronique.	11
IV - <u>PRINCIPAUX VIRUS DES PLANTES MARAICHERES.</u>	11
1°) Solanées.	12
2°) Légumineuses.	13
3°) Cucurbitacées.	14
4°) Laitue.	15
5°) Oignon.	15
6°) Crucifères.	15
V - <u>RESULTATS EXPERIMENTAUX.</u>	17
A. Expérimentation avec 2 souches de virus YE22 NB3.	17
B. Comparaison des souches de CMV.	20
C. Propriétés biologiques du virus de l'igname.	22
VI - <u>CONCLUSION GENERALE.</u>	23

## I - INTRODUCTION.

Les pertes que subissent chaque année les cultures maraichères à la suite d'attaques de virus étant de plus en plus importantes, il est nécessaire de connaître ces maladies. L'identification des virus se fait à l'aide de méthodes et de techniques maintenant courantes mais particulières, basées sur la symptomatologie, la gamme d'hôtes, le mode de transmission, les propriétés biologiques, la sérologie et la microscopie électronique.

Par conséquent le stage de deux mois en virologie à Adiopodoumé s'est composé de deux grandes parties : la première théorique, axée sur les généralités sur les virus communs, les principes d'identification et les maladies courantes rencontrées sur les cultures maraichères ; la seconde partie est la mise en pratique des principes d'identification sur deux souches de virus.

## II - GENERALITES SUR LES VIRUS.

### 1°) Description.

Les virus sont des particules dont la taille est bien inférieure à celle des bactéries ou des champignons. Leur taille s'estime en millimicrons et seul le microscope électronique a permis de les voir.

Ils sont constitués d'un acide nucléique (ribonucléique dans le cas des virus des plantes), entouré d'une capsidie protéique. Les deux parties du virus participent au processus d'infection. L'acide ribonucléique isolé est infectieux, mais plus fragile que le virus entier. La capsidie seule est dépourvue de pouvoir infectieux.

### 2°) Grands types de virus.

Les virus des plantes présentent un ensemble de particules ayant un aspect rond, bacilliforme, en batonnet ou filamenteux.

a) Virus ronds. Dans ce groupe, on peut classer le virus de la mosaïque du concombre avec des particules arrondies.

b) Virus bacilliformes. Nous citerons ici l'"Alfalfa mosaic virus", leur particules cylindriques ont les deux bouts arrondis.

c) Virus en batonnets. Les particules de ces virus prennent l'aspect de batonnets rigides comme le virus de la mosaïque du tabac.

d) Virus filamenteux. Leur particules ont une forme de filaments plus allongés que chez les virus à aspect de batonnets, le "Pepper veinal mottle virus" est un exemple à citer.

### 3°) Importance de l'infection sur l'âge de la plante.

D'une façon générale plus une plante est infectée jeune et plus les dommages causés sont grands et les symptômes importants. Par exemple si une tomate est infectée très jeune par du VMT, elle restera faible et mal développée et la récolte sera peu importante. Par contre si elle est infectée pendant la production, les symptômes seront très atténués et la récolte sera normale.

Par conséquent pour un symptôme donné, il faut toujours tenir compte de l'âge de la plante en question.

## III - PRINCIPES D'IDENTIFICATION.

### 1°) Symptomatologie.

Le végétal atteint d'une affection virale, réagit en laissant apparaître des symptômes localisés ou systémiques.

A. Symptômes localisés, sont ceux que caractérise une réaction limitée à l'endroit contaminé. Les points de réaction revêtent l'aspect de taches chlorotiques, cas de la mosaïque du tabac sur Chenopodium amaranticolor ; ou nécrotiques, virus de la mosaïque du concombre sur Chenopodium amaranticolor.

B. Symptômes systémiques. Les signes d'infection s'extériorisent sur toute la plante. Ils se distinguent entre autres par des mosaïques, panachures, spottings, chloroses, nécroses, déformations foliaires et rabougrissements.

a) Les mosaïques, sont des alternances de plages colorées en jaune, vert-clair et vert-foncé qui se dessinent sur le limbe foliaire ; on peut citer la mosaïque du concombre (Cucumber Mosaic Virus), la mosaïque de la tomate (Tomato Mosaic Virus), la mosaïque de l'aubergine (Egg Plant Mosaic Virus), la mosaïque du haricot (Bean Mosaic Virus).

b) Les panachures, ou "mottle", sont des décolorations foliaires ou florales, c'est le cas du mottle du poivron et du piment (Pepper veinal mottle virus).

c) Les spottings, sont des taches de coloration vert foncé ou au contraire de décoloration jaune. Les taches sont rondes et de tailles variables.

d) Les chloroses. Elles consistent en un éclaircissement et un jaunissement des tissus foliaires, pouvant apparaître sur toute la feuille, on peut citer la chlorose de l'épinard, due au virus de la mosaïque du concombre.

e) Les nécroses. Ce sont de larges lésions brunâtres, blanchâtres ou rougeâtres provoquées par la mort des tissus, c'est le cas de la nécrose du poivron due au virus de la mosaïque du tabac.

f) Les déformations foliaires. Elles se caractérisent par un aspect tordu, frisé ou enroulé de la feuille comme on le constate sur tomate attaquée par le virus de la mosaïque du concombre ou la frisolée (feuilles effilées) de la pomme de terre.

g) Les rabougrissements. La plante est atteinte de nanisme, dû à un raccourcissement des entre-nœuds. Ce type de symptôme s'observe chez la tomate atteinte par le "Tomato Stunt", le "Bunchy-Top" ou le "Stolbur Virus".

h) Virus latents. Des cas d'hôtes sans symptômes sont également observés. Le virus se multiplie dans la plante sans provoquer l'apparition de symptômes. Il y existe à l'état latent comme on peut le constater avec l'"Alfalfa Mosaïque Virus" sur Nicotiana tabacum Xanthi.

## 2°) Gamme d'hôtes.

Ce sont des plantes-tests ou plantes indicatrices dont les réactions caractérisent tel ou tel virus. Ainsi donc pour chaque virus, il est établi une gamme d'hôtes pour le déterminer. Nous donnons dans le tableau ci-après les principaux virus en culture maraichère, leur gamme d'hôtes et les symptômes que l'on peut y observer.

Virus	Plantes	Symptômes
V. M. T.	Chenopodium amaranticolor	lésions locales chlorotiques
	Vigna sinensis	lésions locales nécrotiques pour certaines souches, rien pour d'autres
	Nicotiana tabacum sansum	Mosaïque systémique.
	Nicotiana tabacum xanthi	lésions locales nécrotiques
	Nicotiana megalosiphon	Systémique avec nécrose
	Nicotiana glutinosa	lésions locales nécrotiques, larges
	Capsicum annum	lésions locales nécrotiques et chute des feuilles, nécrose apicale
	Lycopersicon esculentum	mosaïque
	Tetragona expansa	spots jaunes
	Solanum melangena	mosaïque
Datura inoxia	lésions locales nécrotiques	
C. M. V.	Cucumis sativus	mosaïque avec légères déformations
	Chenopodium amaranticolor	lésions nécrotiques fines
	Vigna sinensis	lésions locales nécrotiques
	Nicotiana tabacum sansum ou xanthi	panachures, mottles
	Nicotiana megalosiphon	mosaïque
	Nicotiana glutinosa	panachures
	Capsicum annum	déformations
	Lycopersicum esculentum	déformations, feuilles effilées
	Tetragona expansa	spots chlorotiques
	Datura inoxia	lésions locales chlorotiques.
Solanum melongena	mosaïque	
P. V. M. V.	Nicotiana tabacum sansum ou xanthi	mottles
	Nicotiana megalosiphon	spottings
	Capsicum annum	mottles
	Lycopersicum esculentum	mosaïque diffuse
	Datura inoxia	déformations
	Solanum melongena	mosaïque
	Physalis floridana	panachures

### 3°) Modes de transmission.

La transmission d'une maladie virale peut se faire d'une plante à l'autre de façons diverses. La spécificité de la transmission peut servir de moyen d'identification d'un virus. Certains virus ne sont transmis que par un seul vecteur alors que d'autres le sont par plusieurs. Parmi les modes de transmission les plus connus, nous citerons, la transmission mécanique, par les insectes, les nématodes, la graine, la voie végétative, la greffe, la cuscute.

a) La transmission mécanique. Plusieurs procédés se rattachent à ce mode de transmission. Parmi les plus utilisés, on note le frottement, la pulvérisation, l'injection et la piqûre. On utilise pour cela du jus brut infectieux, obtenu par broyage de feuilles de plante malade. On incorpore généralement au broyat un tampon dont le rôle est d'éviter la dégradation des particules du virus par oxydation. Le tampon couramment utilisé à Adiopodoumé se compose comme suit.

Produit	Poids pour	
	100 ml	200 ml
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,5 g.	3 g
K H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,25 g.	0,5 g
Chlory. Cystéine	0,35 g.	0,7 g
Bentonite	0,25 g.	0,5 g.

Le frottement se fait à l'aide du doigt habillé d'un doigtier ou d'un gant. L'on facilite la pénétration du virus par un saupoudrage préalable des feuilles à inoculer de Carborandum (Carbure de silicium).

Il existe un bon nombre de variantes rattachées à ce procédé

- le frottement sur la feuille à contaminer d'une série de disques superposés découpés dans les feuilles infectées. Cette méthode est efficace pour la transmission des virus fragiles,

- on peut également froter la face supérieure d'une feuille de la plante infectée sur celle de la plante à contaminer, le saupoudrage préalable au carborandum est nécessaire,

- la feuille de la plante source peut être frottée à l'aide d'une brosse que l'on frote immédiatement après sur la face supérieure d'une feuille à inoculer. La méthode est surtout efficace pour les plantes sources, possédant des feuilles velues.

La pulvérisation et l'injection sont surtout utilisées dans la définition du rôle des stomates, des trichomes et des différents tissus dans le processus de la transmission par jus. L'on procède avec des atomiseurs ou des seringues.

Le mécanisme de la transmission par la piqûre consiste à piquer les tissus de la plante à contaminer à l'aide d'aiguilles infectées.

La réussite de la transmission mécanique par jus dépend d'une série de facteurs dont la réceptivité de la plante, son âge, l'ombrage, la présence de substances inhibitrices d'infection, la concentration de l'agent infectieux. Le virus de la mosaïque du tabac, le virus de la mosaïque du concombre sont parmi ceux transmissibles mécaniquement.

b) La transmission par les insectes. Un assez grand nombre de virus se transmettent par des insectes appartenant à divers ordres dont le plus important est celui des Homoptères. On remarque en général que la majeure partie des insectes vecteurs de virus sont du type piqueurs appartenant aux ordres des Thysanoptères, Hémiptères et Homoptères. Aussi parmi les insectes du type broyeur, l'on identifie quelques insectes vecteurs ; Coléoptères, Acridiens et Forficules.

#### 1°) Insectes piqueurs.

L'insecte devient infectieux en prélevant sa nourriture d'une plante virosée. La transmission de la virose se fait lors d'une alimentation du même insecte sur une plante saine. Les virus transmis de cette façon sont non persistants ou persistants.

Ils sont non persistants lorsque l'insecte vecteur acquiert le pouvoir infectieux dès qu'il a piqué la plante.

Ils sont persistants lorsque l'insecte n'acquiert le pouvoir infectieux qu'après une incubation assez longue après qu'il ait piqué la plante malade, et reste infectieux très longtemps, parfois même toute sa vie.

Le virus de la mosaïque du concombre est transmissible par insectes, les Aphides notamment.

#### 2°) Insectes broyeurs.

La transmission de virus par ce groupe d'insecte serait strictement mécanique. En s'alimentant sur une plante malade, les particules de virus adhèrent aux pièces buccales de l'insecte qui peut les transmettre par la suite en se nourrissant au dépend d'une plante saine. Le virus X de la pomme de terre peut être transmis par une espèce d'Acrididae.

c) La transmission par les nématodes. Les nématodes parasites des végétaux sont d'importants vecteurs de virus dans le sol. Les nématodes les plus cités à ce sujet sont des genres Longidorus, Xiphinema et Trichodorus. Parmi les virus transmis de cette manière, on peut citer le (Peach Rosette Mosaic Virus) et le "Potato Stem Mottle Virus".

d) La transmission par la graine. Certains virus peuvent se transmettre par la semence, le virus 1 du haricot, la mosaïque de la laitue, certaines souches du virus de la mosaïque du concombre. L'on peut cependant faire remarquer que toutes les variétés d'une même espèce ne transmettent pas nécessairement un virus donné par ce procédé et que toutes les variantes d'un même virus ne sont pas absolument transmissibles par la graine. Cette spécificité peut dans certains cas être exploitée.

e) La transmission par la voie végétative. Les virus peuvent se transmettre d'une génération à l'autre par les bulbes, rhizomes, tubercules, stolons et boutures.

f) La transmission par la greffe. Elle est surtout utilisée pour la recherche des caractères spécifiques d'un virus. Toutes les viroses systémiques sont en principe transmissibles de cette façon, c'est le cas du (Stolbur Virus) et du (Leaf Curl Virus), l'agent infectieux est porté par le greffon.

g) La transmission par la cuscute. C'est un mode de transmission comparable au greffage. La cuscute mise à proximité d'une plante virosée se contamine en adhérant sur cette dernière. Portée par la suite sur une plante saine, elle transmet la maladie par le même processus d'adhésion.

4°) Propriétés biologiques, ou constantes biologiques, sont des données qui expriment la réaction des virus à l'égard des facteurs physiques et chimiques auxquels ils sont soumis. La confrontation des valeurs que l'on en obtient avec des données établies peut amener le virologue à résoudre des problèmes d'identification non tranchés par l'examen chimique. Ces constantes propres à chaque type de virus sont exprimées par :

- a) le point de dilution limite
- b) la résistance à la température
- c) la résistance à la dessiccation
- d) la résistance à la congélation
- e) la résistance à la température ambiante.
- f) la résistance à la réfrigération.

a) Le point de dilution limite. Il détermine le niveau limite de dilution à partir duquel la quantité de matériel infectieux devient trop faible dans le milieu pour obtenir une infection. Il ne s'agit donc pas d'une inactivation par désintégration des particules du virus.

La détermination du point de dilution limite se fait comme suit :

On dispose de tubes à essai contenant chacun 9 ml d'eau distillée ou de tampon. Du jus infectieux à étudier, on prélève un millilitre que l'on transfère dans l'un des tubes à essai contenant 9 ml. Le volume de ce tube est donc porté à 10 ml dont 1/10 de jus brut, il a été dilué dix fois. Si de cette dilution, l'on transfère 1 ml dans un autre tube à essai, l'on obtient un jus dilué 100 fois. On peut continuer ainsi l'opération de dilution à partir de la dernière dilution à chaque fois. Le jus brut dilution 0 servant de témoin, ces différentes dilutions sont inoculées à un hôte hypersensible et les réactions indiquent à quel moment le jus perd son pouvoir infectieux.

b) La résistance à la température. Les virus réagissent différemment à l'égard de la température. L'élévation de celle-ci subie par une suspension de virus provoque une inactivation irréversible de l'agent infectieux en atteignant le niveau thermal d'inactivation. Ce niveau spécifique à chaque type de virus est celui qui provoque la désintégration des particules infectieuses et entraîne la perte du pouvoir pathogène du virus. Il se situe généralement entre 42 et 92°. On le détermine de la façon suivante.

On remplit une série de tubes à hémolyse de 2 ml de jus brut portant en suspension les particules du virus à étudier. Ces tubes sont successivement immergés pendant 10 minutes dans un bain-marie réglé au thermostat. Chaque tube est chauffé à une température donnée. Un tube non chauffé servant de témoin, l'on inocule l'ensemble à des plantes-tests et les réactions permettront d'établir la température à partir de laquelle le virus perd son pouvoir pathogène.

c) La résistance à la dessiccation. La dessiccation de feuilles provoque l'inactivation plus ou moins rapide de la plupart des virus. Seul le virus de la mosaïque du tabac possède une capacité de résistance beaucoup plus longue. Le temps de résistance à la dessiccation d'un virus s'obtient en laissant sécher naturellement des feuilles contaminées et à en prélever de temps à autre une partie à inoculer. Les réactions sont notées et l'on repère le moment à partir duquel l'innoculum cesse d'être infectieux.

d) La résistance à la congélation. Le temps de résistance à la congélation varie également selon le type de virus. Pour sa détermination, on se sert de tubes à hémolyse remplis de 2 ml de la suspension à étudier. On les laisse à congeler à -20°C et à une périodicité déterminée, un tube est prélevé, inoculé à une plante-indicatrice. L'opération est poursuivie tant que les réactions apparaissent à la suite des inoculations. L'arrêt du pouvoir pathogène du virus sera repéré par l'absence de réactions.

e) La résistance à la température ambiante. L'on se contente en général de la température régnant au laboratoire et qui tourne autour de +20°C. Le procédé reste le même que celui de la congélation sauf qu'ici, les tubes à hémolyse sont exposés à l'air libre dans un coin du laboratoire. Des inoculations périodiques sont réalisées et la perte du pouvoir infectieux est obtenue lorsqu'aucune réaction ne fait suite aux inoculations.

f) La résistance à +4°C. Comme pour les expériences précédentes, le jus brut contenant l'agent viral est mis dans des tubes à hémolyse. Ces tubes sont gardés au frigidaire à une température avoisinant +4°C. De la même façon, l'on procède à des inoculations périodiques qui vont permettre de déterminer le moment auquel le jus perd son pouvoir infectieux.

L'ensemble des données ainsi recueillies nous permet parfois de confirmer les premiers soupçons quant à la détermination d'un virus. Ces renseignements sont précieux et indispensables pour tout travail virologique.

## 5°) La purification et les propriétés physico-chimiques.

a) La purification. Elle permet l'obtention d'une suspension purifiée, débarrassée de tous débris végétaux et autres impuretés. Le virus purifié peut servir à la fabrication d'antisérums, à l'observation microscopique, à l'inoculation artificielle etc...

La purification demande un travail assez long il est décrit ci-après une méthode de purification, mais il en existe beaucoup d'autres chacune typique d'un virus.

1) Broyage de feuilles fraîches dans deux fois leur poids en 1 ml d'un tampon phosphate de potassium 0,5 M, pH 7,4 contenant 1 % de 2 mercapto-éthanol et de 1 M d'urée.

2) Pressage du broyat à travers plusieurs couches de gaz et clarification du jus brut par une centrifugation de 20 minutes à 10.000 tours par minute.

3) Traitement du jus brut au Triton -, X100 à 5 % pendant une demie-heure suivie de la première ultracentrifugation à 30.000 tours minute pendant 2 h 1/2.

4) Une deuxième ultracentrifugation dans le rotor SW 25.1 à travers une couche de 2 cm de saccharose à 20 %.

5) Les culots sont remis en suspension dans un tampon phosphate de potassium 0,025 M à pH 7,4 et contenant 0,1 % de 2 mercapto-ethanol et de 1 M d'urée.

6) Enfin le virus est purifié sur un gradient de saccharose (4,7, 7,7 ml de saccharose 10, 20, 30 et 40 % en couche dans un tampon citrate 0,1 M à pH 6,6), centrifugé pendant 2 h 1/2 à 24 tours minute.

7) Le virus se trouve à 22-25 mm en dessous du ménisque. La bande de virus est ensuite récoltée par pipetage, diluée 5 fois et concentrée par ultracentrifugation. Le culot ainsi obtenu est remis en suspension dans le tampon borate 0,05 M à pH 8.

b) Les propriétés physico-chimiques. L'application de nouveaux procédés à l'isolement et à la purification des particules de virus à permis une forte progression dans la connaissance des propriétés physiques et chimiques de celles-ci.

Les propriétés physiques qui concernent la forme et les dimensions des particules sont aujourd'hui couramment utilisées. comme critères d'identification.

Les propriétés chimiques permettent de vérifier la nature et la forme d'un virus, détermination du pourcentage de carbone, d'azote, de phosphore, d'acide ribonucléique et de protéine.

Propriétés physiques. Les données physiques pouvant à l'heure actuelle apporter des indications utiles à celui qui fait de l'identification de virus sont la forme, les dimensions, la connaissance du point isoelectrique et de la mobilité électrophorétique des particules.

Pour connaître la forme et les dimensions des particules de virus, différentes méthodes sont utilisées et parmi lesquels on peut retenir, l'ultrafiltration à travers une membrane de collodion de porosité connue, la vitesse de sédimentation obtenue par une centrifugation accélérée et qui renseigne sur la constante de sédimentation, la diffusion qui est la vitesse de transfert pour les particules se trouvant dans de l'eau à 20°C et qui s'exprime par la constante de diffusion, la mesure de la viscosité pour les suspensions très pures de virus, la microscopie électronique qui permet une observation directe des particules.

Propriétés électrochimiques, comprennent essentiellement la mobilité électrophorétique et l'existence d'un point isoélectrique.

L'électrophorèse est une méthode dont le principe repose sur le fait que certaines substances se déplacent lorsqu'elles se trouvent dans un champ électrique. Le champ entraîne la séparation des divers constituants en fonction de leur vitesse de migration respective. Cette vitesse est appelée mobilité électrophorétique. La migration vers l'anode ou la cathode dépend de la concentration en ions hydrogène du milieu. La valeur au point isoélectrique est celle du pH pour lequel il n'y a pas de déplacement, cette valeur est caractéristique pour chaque protéine.

Propriétés biochimiques. Ce sont divers procédés mis au point pour la détection, la caractérisation en vue de rendre certaines épreuves d'identification moins longues et de combler les lacunes que peuvent présenter la symptomatologie et la sérologie. Ces procédés ont reçu le nom de tests biologiques. On se base le plus souvent sur le fait que diverses modifications apparaissent chez les plantes au cours de l'infection virale. Les modifications consistent soit en l'apparition de substances nouvelles, soit en stimulation de la production de substances normalement présentes et non pathogènes. Pour mettre en évidence ces perturbations, diverses méthodes sont envisagées, ce sont : la colorimétrie, la spectrophotométrie, la chromatographie, l'électrophorèse, la précipitation etc...

Les procédés de colorimétrie font apparaître les produits de la réaction de l'hôte à l'attaque du virus. L'on cite l'exemple du jus de plante de pomme de terre infectée du virus de l'enroulement, donnant une coloration bleue lorsqu'il est traité avec un réactif à la diphénylamine alors que le jus de plante saine soumis au même traitement donne une coloration verte.

Par la spectrophotométrie des substances qui seraient des constituants des virus ont pu être mises en évidence. Ces dernières étant des nucléoprotéines, ont la propriété d'absorber certaines radiations situées dans la région de l'ultra-violet. Après passage du jus de plante au spectrophotométrie en lumière ultra-violet, l'examen des courbes d'absorption obtenues permet de déduire si oui ou non le matériel étudié est sain ou virosé.

La chromatographie a également été utilisée à l'identification biochimique des virus des plantes. Le virus de la mosaïque du tabac a pu être détecté par chromatographie sur papier dans des extraits de ce végétal. L'emplacement du virus chromatographié a été révélé à l'aide d'un réactif de l'arginine. Il a été localisé dans d'autres cas à l'aide de bleu de bromophénol.

La précipitation a également servi comme méthode de diagnostic. Divers produits sont utilisés pour provoquer les réactions. On peut citer le diagnostic du virus X de la pomme de terre à l'aide de phénol, le virus de la mosaïque du tabac et le virus X de la pomme de terre à l'aide de chlorure de sodium ou d'acide acétique.

6°) Sérologie. Des substances appelées antigènes provoquent dans l'organisme de certains animaux l'apparition d'autres substances, les anticorps. De telles réactions sont induites par des protéines, des polysaccharides ou des lipides. Les anticorps appartiennent généralement au groupe des globulines. L'antigène et l'anticorps correspondant mis en présence l'un de l'autre réagissent spécifiquement et la réaction peut être mise en évidence et mesurée in vitro par divers procédés. De cette façon un antigène peut être détecté et identifié par son anticorps. Une nouvelle méthode d'identification des virus a été élaborée à partir de leur caractère antigénique.

On a appelé antisérum ou immunisérum un sérum qui contient des anticorps, alors que celui qui n'en contient pas est un sérum normal. L'antisérum est homologue à l'égard d'un antigène lorsqu'il est préparé à partir de celui-ci, on dit qu'il est hétérologue envers tous les autres antigènes.

Le titre d'un antisérum ou d'un antigène est la plus grande dilution à laquelle chacun de ceux-ci est capable de réagir respectivement avec une quantité déterminée de son homologue.

Préparation des antisérums. Après une identification soigneuse du virus dont on désire l'antisérum, on l'inocule à une espèce dans laquelle il se multiplie bien et qui de préférence ne contient ni inhibiteurs ni toxines. Le virus est obtenu par purification ou par extrait brut plus ou moins débarrassé des impuretés.

L'antisérum est obtenu par injections du jus virosé à un animal, le lapin domestique s'avère être l'animal le plus utilisé. Après la formation des anticorps, le sang de l'animal est récolté et on en recueille le sérum après coagulation puis centrifugation. Le contenu en anticorps est contrôlé en présence de l'antigène correspondant, le titre déterminé, l'on conserve le sérum en le diluant de moitié avec du glycérol.

Procédés de diagnostic sérologique. Les procédés d'identification sérologique sont nombreux, les principaux sont classés dans quatre grands groupes, dont les réactions de précipitation et la neutralisation du pouvoir infectieux sont à retenir.

La réaction de précipitation est la plus couramment utilisée. Lorsqu'une préparation de virus est mise en présence de son antisérum spécifique, un précipité apparaît, celui-ci peut être observé de diverses façons telles que :

- L'épreuve en tubes qui consiste à mélanger dans des tubes en verre du jus végétal à tester, centrifugé avec son anti-sérum. Après incubation à une température déterminée, un précipité se forme si la réaction est positive.

- L'épreuve sur lames est basée sur le même principe que la précédente. On mélange sur une lame porte-objet, une goutte de jus avec une goutte d'anti-sérum. Après incubation, on observe un précipité d'aspect floconneux si la réaction est positive.

- L'épreuve en boîtes de Pétri, ici les réactions sont respectivement réalisées à partir de jus clarifié et de jus non clarifié, sur le fond d'une boîte de Pétri recouvert d'un film transparent, d'un produit hydrofuge, le "formvar" qui empêche l'étalement des gouttelettes. On les recouvre ensuite d'une couche d'huile de paraffine.

La neutralisation du pouvoir infectieux, c'est un procédé d'identification peu utilisé. Un virus mis en présence de son sérum homologue, le mélange obtenu inoculé à des plantes-tests ne manifeste plus de pouvoir infectieux. On dit qu'il y a eu neutralisation de ce dernier. La neutralisation du pouvoir infectieux n'implique pas la destruction du virus.

#### 7°) La microscopie électronique.

La forme, les dimensions et certains détails de structure d'un bon nombre de virus sont aujourd'hui connus grâce au microscope électronique. La microscopie électronique permet également des analyses quantitatives de suspensions de virus.

Une méthode est couramment utilisée pour la détection de virus dans les plantes malades, il s'agit de la DIP Method, pour cela on dépose une goutte de jus brut sur une grille de microscopie électronique carbonée. On effectue ensuite une coloration négative à l'acétate d'uranyle.

L'isolement du virus et sa purification peuvent permettre la préparation d'échantillons à examiner au microscope. Une goutte de la suspension purifiée est déposée sur un porte-objet constitué d'une grille métallique, recouverte au préalable d'un film de collodion, de "Formvar", de carbone ou de beryllium. Les virus sont ensuite colorés négativement (le colorant pénètre dans le virus), avec de l'acétate d'uranyle à 0,5 %. Les grilles peuvent alors être directement observées.

#### IV - LES PRINCIPAUX VIRUS DES PLANTES MARAICHÈRES.

La recherche sur les virus des cultures maraichères en zone tropicale d'Afrique est encore récente. Aussi les informations actuellement réunies à ce sujet sont encore peu importantes. Dans la pratique, on se sert encore bien souvent de travaux sur des virus décrits en zone tempérée pour des essais d'isolement à partir de symptômes.

Pour les principales espèces maraichères cultivées au Sénégal, nous donnons les types de virus pouvant être à l'origine d'importants dégâts.

### 1°) Les Solanées.

Sur les quatre solanées cultivées au Sénégal, tomate, aubergine, poivron et pomme de terre, deux types de virus sont surtout à craindre : le virus de la mosaïque du tabac (VMT) et le virus de la mosaïque du concombre (VMC).

Le virus de la mosaïque du tabac. C'est un virus en forme de batonnet. Son point thermal d'inactivation dans les jus infectieux se situe à 90°C pendant 80 minutes, 75°C en 40 jours; son point de dilution limite est à  $10^{-5}$  ; il se conserve longtemps dans les feuilles sèches et se transmet facilement par la voie mécanique.

Sur tomate, les attaques du virus de la mosaïque du tabac sont fréquentes en fin de végétation surtout. Les symptômes sont peu nets sauf pour la souche "**Aucuba**" caractérisée par une mosaïque jaune vif-clair vert foncé sur feuilles et sur fruits une mosaïque jaune sur fond rouge. La mosaïque entraîne une baisse de vigueur des plantes et une diminution de rendement importante.

Le virus de la mosaïque du concombre. C'est un virus à particules rondes. Son point thermal d'inactivation se situe entre 60 et 70°C, son point de dilution limite est à  $10^{-3}$ , il résiste à la température ambiante durant 72 jours, il est détruit par le séchage. Le virus de la mosaïque du concombre est essentiellement transmis par puceron, l'inoculation mécanique par contact est négligeable. Les pieds infectés se trouvent surtout en bordure des champs.

Sur tomate, il provoque l'apparition de feuilles filiformes ou une légère mosaïque. Le rendement peut être très réduit ou annulé.

Le poivron accuse une plus grande sensibilité. Les symptômes s'y traduisent par des anneaux et des lignes sinueuses nécrotiques sur feuilles déjà adultes au moment de l'injection, par une mosaïque chlorotique sur le feuillage ultérieur. Les fruits présentent des dessins en creux, en forme d'anneaux et de lignes sinueuses. La fructification ultérieure est annulée.

L'aubergine est peu réceptive au virus de la mosaïque du concombre. Les attaques sont rares et se manifestent sur feuilles par de grands ringspots nécrotiques, des lignes sinueuses nécrotiques ou une mosaïque suivant leur développement au moment de la contamination. Sur fruits on observe des taches annulaires mauve pâle sur fond violet. La baisse de rendement est plus faible que sur tomate et poivron.

En dehors de ces principales affections virales sur solanées, on peut également citer :

Le "Potato Virus Y" ou virus Y de la pomme de terre, c'est un virus filamenteux qui provoque sur pomme de terre des stries et des nécroses sur feuilles. Il est inactivé à 52-55°C en 10 minutes, son point de dilution limite est atteint à  $10^{-3}$ , résistance à la conservation in vitro (20°C) 28 à 48 heures.

Le "Potato Virus X". C'est le virus x de la pomme de terre. Les symptômes qu'il provoque sur pomme de terre se caractérisent par des nécroses et des ringspots. Il est inactivé à 70°C en 10 minutes, son point de dilution limite est à  $10^{-5}$  -  $10^{-6}$ , se conserve in vitro (20°) pendant un an, c'est un virus filamenteux.

Le "Spotted Wilt" ou "Tomato Spotted Wilt Virus" est la maladie bronzée de la tomate transmise par thrips tabaci. Le virus est inactivé entre 40-46°C pendant 10 minutes, sa longévité in vitro (20°C) est de 2 à 5 heures, son point de dilution limite est à  $2 \times 10^{-2}$  -  $10^{-3}$ , c'est un virus rond.

Le "Tomato Bushy Stunt Virus". C'est un virus rond qui provoque le rabougrissement et la prolifération de la tomate. Il provoque également une sévère déformation des feuilles. Son point de dilution limite se situe entre  $10^{-2}$  et  $10^{-6}$ , il est inactivé à 80-90°C en 10 minutes, il est conservé in vitro à 20°C pendant 4 à 5 semaines.

Le "Stolbur Virus". Il provoque sur tomate un arrêt presque total de la croissance, les feuilles en voie de développement présentent une chlorose marginale, les dernières feuilles sont érigées, violacées. Les fruits déjà formés restent durs et petits.

Le "Pepper Veinal Mottle Virus" (PVMV). C'est le virus du poivron à particules filamenteuses isolé au Ghana et en Côte d'Ivoire. C'est un virus typiquement africain et largement répandu. Il provoque sur poivron un mottle et une sévère déformation des feuilles, il est inactivé entre 55 et 60°C pendant 10 minutes, son point de dilution limite est entre  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$ , se conserve in vitro à 20°C pendant 7 à 8 jours.

## 2°) Les légumineuses.

Nous retiendrons ici deux principales maladies, le virus 1 ou mosaïque du haricot et le virus 2 ou mosaïque jaune du haricot.

Le virus 1. Il provoque une mosaïque vert clair vert foncé sur les feuilles, la feuille a un aspect cloqué. Les plantes malades, celles qui sont attaquées plus précocement surtout se développent peu et restent naines, leur production est ralentie. Bien que transmis par la semence, le virus 1 est aussi transmissible par pucerons. C'est un virus filamenteux, inactivé à 60°C en 10 minutes, point de dilution limite  $10^{-3}$  -  $10^{-4}$ , se conserve in vitro à 20°C pendant 1 à 4 jours.

Le virus 2. Suivant les souches, ce virus provoque une mosaïque jaune ou des symptômes nécrotiques avec mort du bourgeon terminal. Les filets peuvent être marbrés ou déformés fortement. Il est transmis par pucerons et ne l'est pas par la semence. Il est inactivé à 55-60°C en 10 minutes, son point de dilution limite est à  $10^{-3}$  -  $10^{-4}$ , sa durée de conservation in vitro à 20°C varie entre 1 et 2 jours, c'est également un virus filamenteux.

### 3°) Les Cucurbitacées.

De nombreuses maladies à virus sont signalées sur cucurbitacées. L'on retiendra surtout le virus de la mosaïque du concombre déjà décrit à propos des solanées.

#### Le virus de la mosaïque du concombre.

Sur melon, il provoque un éclaircissement des nervures accompagné parfois de nécroses rougeâtres sur feuilles adultes au moment de la contamination, une mosaïque cloquée et un rabougrissement du feuillage en voie de croissance. Les fruits en voie de développement au moment de la contamination sont marbrés de vert foncé sur fond vert clair, la nouaison des fleurs apparues par la suite devient nulle.

Sur concombre, on observe un flétrissement de la majorité des feuilles, ou une légère mosaïque lorsque la température devient plus élevée, les fruits peuvent être marbrés de jaune.

Chez les courgettes, la crise est aussi violente. Les feuilles déjà formées se recroquevillent, le pétiole arqué, les feuilles ultérieures sont fortement mosaïquées, les fruits sont déformés.

Les cucurbitacées sont bien réceptives à la transmission de ce virus par pucerons.

Le virus de la mosaïque de la pastèque connu sous le nom de "Water Melon Mosaic Virus", c'est un virus filamenteux. Il cause sur cucurbitacées, melons et pastèques surtout, des chloroses, des mottles, des déformations foliaires et des rabougrissements. Il est inactivé à 58-65°C pendant 10 minutes, se conserve in vitro à 20°C pendant 20 à 50 jours, son point de dilution limite se situe à  $10^{-4}$  -  $10^{-5}$ .

Le virus de la nécrose du concombre ou "Cucumber necrosis virus" est un virus rond qui provoque des spots chlorotiques, des déformations foliaires et le rabougrissement du concombre. Il est inactivé entre 75-80°C pendant 10 minutes. Son point de dilution limite se situe à  $10^{-4}$  -  $10^{-5}$  et se conserve in vitro à 20°C pendant 30 jours.

Le virus de la mosaïque de la courgette, ou "Squash mosaic virus" est également un virus rond qui provoque des mottles, des taches nécrotiques et des déformations sur feuilles de courgette. Il est inactivé entre 70 et 80°C pendant 10 minutes, se conserve in vitro à 20°C pendant 4 semaines et son point de dilution limite se situe à  $10^{-4}$  -  $10^{-6}$ .

#### 4°) La Laitue.

Cette plante est surtout attaquée par la mosaïque de la laitue.

Les laitues contaminées sont moins vigoureuses et plus pales. Lorsqu'elles sont attaquées précocement, elles ne forment pas de pomme. Sur les feuilles, l'on remarque des symptômes primaires d'éclaircissement des nervures, suivis de symptômes secondaires du type mosaïque vert clair, vert foncé, souvent liés aux nervures qui sont encastrées d'une bande d'un vert plus foncé (Vein Banding). Chez certaines variétés ces symptômes s'accompagnent de nécroses. La mosaïque peut être transmise par pucerons ou par la semence.

C'est un virus à particules filamenteuses son point thermal d'inactivation se situe entre 55 et 60°C pendant 10 minutes, son point de dilution limite est entre  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$ , il résiste à la conservation in vitro 20°C jusqu'à 2 jours.

5°) L'Oignon sur cette culture, l'on observe des attaques de virus de type mosaïque. Nous retiendrons surtout la bigarure de l'oignon appelée "Yellow Dwarf".

Sur oignon, les symptômes sont caractérisés par des stries jaune vif, de largeur très variable sur les feuilles et les hampes florales. Les feuilles malades ont tendance à se cloquer et à s'enrouler beaucoup plus que les saines, la vigueur de la plante est réduite. La transmission se fait par pucerons et par la semence. C'est un virus rond, inactivé à 55°C pendant 10 minutes, son point de dilution limite se situe à  $2 \times 10^{-3}$ .

#### 6°) Les Crucifères.

Les crucifères sont généralement contaminés par deux types de virus : le "Cabbage Black Ring Spot" et le virus de la mosaïque du chou.

Le "Cabbage Black Ring Spot" ou virus des taches annulaires noires du chou provoque sur feuilles de chou l'apparition d'anneaux et de taches circulaires d'abord chlorotiques, puis noirs. Les feuilles les plus jeunes montrent les premières les symptômes sur la plante récemment attaquée, mais par la suite, les symptômes s'étendent aux feuilles adultes. Le navet, le chou-rouge présentent une mosaïque accompagnée de nécrose conduisant en général à la mort de la plante.

Ce virus présente des particules filamenteuses et est thermo-inactivé en 10 minutes à 60°C.

Le virus de la mosaïque du chou. Sur chou-fleur, on constate d'abord un éclaircissement sur les feuilles encore jeunes. Le feuillage développé ultérieurement présente un "vein banding" avec nervures entourées d'une bande vert foncé, le reste du limbe étant mosaïqué ou chlorotique. Ce symptôme s'accompagne d'une diminution considérable de la taille des feuilles et d'une distorsion de la nervure principale. La taille des plantes est diminuée ainsi que celle des inflorescences. Les symptômes sont parfois accompagnés de petites taches brunes nécrotiques et de nécrose le long des nervures.

Sur chou pommé les symptômes sont de même nature mais moins graves.

Le navet, le chou-rouge sont comme avec le virus précédent très fortement atteints et meurent souvent à la suite de l'infection. Le virus se présente sous forme de particules sphériques et est thermo-inactivé à 70°C en 10 minutes.

#### Moyens de lutte contre les virus.

Aucun moyen de lutte efficace par la voie chimique n'est encore mis au point. Il faudra pour cela un viricide systémique sans toxicité pour la plante. En dehors de la stérilisation de certains instruments de travail, on a recours à la lutte contre les insectes vecteurs, la sélection sanitaire et la résistance variétale.

La stérilisation des instruments des instruments de travail se fait généralement à l'aide d'alcool à 95° ou de sels quaternaires.

En lutte contre les insectes-vecteurs, l'on utilise en pulvérisation ou poudrage des produits insecticides spécifiques aux vecteurs connus.

La sélection sanitaire s'applique aux plantes qui transmettent des virus à leur descendance. La thermothérapie est une méthode qui consiste à maintenir les plantes pendant plusieurs semaines à des températures comprises entre 30° et 50°. La thermothérapie en raison de la température d'inactivation propre à chaque type de virus n'est pas toujours efficace.

Par la résistance variétale, on utilise le caractère que peuvent présenter certaines plantes sélectionnées de résister d'une façon ou d'une autre aux attaques de virus. On peut distinguer quatre types de résistance aux virus.

L'immunité, le virus ne peut se multiplier dans la plante, ne produit ni symptômes systémiques, ni lésions locales.

L'hypersensibilité, la plante réagit violemment à l'infection tandis que le virus devient inactivé.

La résistance aux actions faibles et à la migration des virus, cette résistance n'est valable qu'en cas de contamination avec de faibles doses de virus, cas de contaminations dues aux pucerons.

La tolérance. La plante peut être entièrement envahie par le virus et ne montrer que des symptômes très faibles ou pas du tout de symptômes. Cette résistance n'est cependant pas toujours intéressante, l'attaque du virus pouvant entraîner des pertes de récoltes.

## V-RESULTATS EXPERIMENTAUX.

### A. Expérimentation avec deux souches de virus.

Cette expérience était pour nous l'occasion de mettre en pratique quelques manipulations propres à la détermination des virus. Les deux souches virus désignés selon un code propre au laboratoire sont YE22 et NB3.

YE22 a été isolé du poivron et certaines indications donnent à penser qu'il s'agit d'une souche du virus de la mosaïque du concombre.

NB3, isolé de l'aubergine, les études sur ses propriétés biologiques n'ont pas encore permis son identification.

1°. Symptomatologie sur leurs plantes d'origine, les symptômes observés se manifestent comme suit :

- YE22, sur poivron variété Yolo Wonder A, on constate un rabougrissement des plantes, une importante décoloration des feuilles âgées en jaune soit à la base, soit à l'apex ; les plaques chlorotiques sont mêlées de zones vert foncé. Sur jeunes feuilles, le jaunissement s'accompagne d'une assez importante déformation.

- NB3, sur aubergine variété N'drowa Issia, les feuilles plus âgées portent des taches jaune vif avec un halo plus clair, les jeunes feuilles présentent des taches vert foncé bien isolées et individualisées le long des nervures. Le port de la plante reste normal.

### 2°. Gamme d'hôtes.

Pour YE22, la gamme d'hôtes suivante a été établie.

Plantes	Symptômes
Beta vulgaris	- 0 -
Capsicum annuum	coloration jaune, déformation violente
Capsicum frutescens	
Ch. amaranticolor	quelques lésions chlorotiques
Ch. quinoa	- 0 -
Citrullus vulgaris	- 0 -
Cucumis melo	- 0 -
Cucumis sativus	spots chlorotiques sur les cotylédons et les feuilles.
Datura inermis	- 0 -
Datura inoxia	spots chlorotiques
Lycopersicum roma	- 0 -
Lycopersicum marglobe	- 0 -
Nicotiana glutinosa	mosaïque à tendance jaune
Nicotiana megalosiphon	- 0 -
Nicotiana tabacum samsun	- 0 -
Nicotiana tabacum xanthi	- 0 -
Nicotiana clevelandii	- 0 -
Petunia hybrida	à vérifier
Phaseolus vulgaris	- 0 -
Physalis floridana	spots chlorotiques sur vieilles feuilles les vein clairing sur jeunes feuilles
Physalis alkekengii	- 0 -
Tetragona expansa	- 0 -
Vigna sinensis	taches nécrotiques fines qui s'aggrandissent
Zinnia elegans	- 0 -

Pour chaque plante inoculée il a été effectué un retour vers deux plantes, le poivron pour réobtenir les mêmes symptômes et le *Nicotiana glutinosa* pour écarter l'hypothèse du PVMV.

La gamme d'hôtes établie pour le NB<sub>3</sub> est la suivante

Plantes	Symptômes
Beta vulgaris	-
Capsicum anuum	-
Ch. amaranticolor	-
Ch. quinoa	-
Citrullus vulgaris	-
Cucumis melo	-
Cucumis sativus	-
Datura metel	! légères déformations
Datura inoxia	-
Lycopersicum roma	-
Lycopersicum marglobe	-
Nicotiana glutinosa	-
Nicotiana megalosiphon	! mosaïque chlorotique
Nicotiana suaveolens	! spots jaunes
Nicotiana tabacum samsun	-
Nicotiana tabacum xanthi	-
Nicotiana white burley	! vein banding important
Petunia hybrida	! taches chlorotiques
Physalis floridana	! taches vert foncé, légères déformations
Physalis alkekengii	-
Solanum melongena violette	-
Solanum melongena N'drowa I	! taches vertes sur les nervures
Solanum melongena locale Nord	! déformations avec taches vertes
Solanum melongena Haute-Volta	! déformation, rabougrissement
Tetragona expansa	-
Vigna sinensis	-

Pour cette gamme, il a été fait un retour sur Solanum melongena, local Nord car elle montre rapidement de violents symptômes.

#### 1°. Clonage des souches.

Le clonage a pour but de sélectionner une lignée de virus afin d'obtenir une souche homogène et non un mélange de souches.

Le clonage de VE<sub>22</sub> se fait sur Vigna sinensis seule plante à lésions locales. Normalement, on effectue plusieurs passages de Vigna à Vigna, mais dans ce cas, dès le 2e ou le 3e passage, le pouvoir infectieux disparaît. On peut penser que ce virus soit très-thermo sensible en jus brut, aussi avons re-multiplié la souche après ces trois passages.

En ce qui concerne le NB<sub>3</sub> nous n'avons pas d'hôte à lésions locales, par conséquent il est très difficile de cloner. On peut tenter de le faire à partir d'un systémique mais on est pas certain du résultat. Nous avons donc utilisé cette souche sans la cloner.

#### 4°. Multiplication.

La multiplication de YE<sub>22</sub> se fait sur *Nicotiana glutinosa* qui permet avec peu de plantes d'obtenir du virus en bonne concentration. Les plantes récépées repoussent toujours infectées.

NB<sub>3</sub> est multiplié sur *Nicotiana tabacum white-burley* qui est une plante ayant de très grandes feuilles donc donnant beaucoup de jus brut. Il peut également être multiplié sur *Nicotiana megalosiphon* qui présente d'assez beaux symptômes.

#### 5°. Propriétés biologiques.

##### YE<sub>22</sub>

Température d'inactivation	48-49°C
Résistance à la congélation (-20°C) plus de 35 jours	
Résistance à la réfrigération (+4°C) : 8 à 10 jours	
Résistance à la température ambiante : 48 heures	
Point de dilution limite	: 10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-3</sup>

Ce virus est donc extrêmement thermo labile, ce qui explique sa fragilité.

NB<sub>3</sub>, le seul résultat obtenu pour ce virus concerne la température d'inactivation qui se situe entre 50 et 60°C. L'expérience sur les autres propriétés n'a pas abouti, la souche ayant été contaminée.

#### B. Comparaison de souches du VMC.

Les souches déterminées comme étant de la mosaïque du concombre, proviennent de différentes régions du territoire ivoirien et ont été isolées à partir de différentes plantes. L'inoculation de ces souches à une gamme d'hôtes, devait nous permettre de les comparer quant au mode de réactions qui apparaissent sur différentes plantes. Le tableau qui suit résume les observations effectuées au fur et à mesure de l'apparition des symptômes.

Plantes	Souche du virus et plante origine								
	Courgette GJ <sub>1</sub>	Concombre GX <sub>1</sub>	Poivron YE <sub>22</sub>	Melon BN <sub>1</sub>	Tomate RT <sub>4</sub>	Aubergine NB <sub>1</sub>	Concombre BX <sub>1</sub>	Melon TN <sub>1</sub>	tomate RT <sub>1</sub>
Zinnia elegans	mosaïque	mosaïque	-	mosaïque	mosaïque	mosaïque	mosaïque	mosaïque	mosaïque
Citrullus vulgaris	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cucurbita maxima	lésions locales chlorotiques + mosaïque	mosaïque	quelques spots	lésions locales chlorotiques + mosaïques	spotting	mosaïque	mosaïque	mosaïque	mosaïque
Cucurbita pepo	mosaïque	mosaïque	quelques spots chlorotiques	mosaïque	mosaïque	mosaïque	mosaïque	mosaïque	mosaïque
Cucumis melo	mosaïque et déformations	mosaïque et déformations	quelques spots	mosaïque et déformations	mosaïque et déformations	mosaïque et déformations	mosaïque et déformations	mosaïque et déformations	mosaïque et déformations
Cucumis sativus	mosaïque et déformations	mosaïque et déformations	léger spotting	mosaïque et déformations	mosaïque et déformations	mosaïque et déformations	mosaïque et déformations	mosaïque et déformations	mosaïque et déformations
Vigna sinensis Black	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques
Vigna unguiculata niébé	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques
Phaseolus mungo	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques
Chenopodium amaranticolor	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques	lésions nécrotiques
Beta vulgaris	-	-	-	-	spotting	-	spotting	spotting	spotting

On peut remarquer qu'il n'existe pas beaucoup de différences entre ces souches. Cependant YE22 se distingue très nettement par son faible développement en général et son absence de développement sur Zinnia elegans, Cucumis sativus et Curcubita maxima. Les autres souches peuvent être regroupées en deux groupes :

- GJ1, GX1, EN1 et NB1
- RT4, BX1, TN1 et RT1,

mais il faudrait répéter cette expérience et ajouter d'autres plantes-hôtes pour pouvoir l'affirmer.

### C. Propriétés biologiques d'un virus de l'igname.

Ce virus, isolé en Côte d'Ivoire est encore non déterminé. Les travaux devant conduire à sa détermination sont en cours et nous avons à cet effet participé à l'étude de certaines propriétés biologiques telles que : la température d'inactivation la résistance à la conservation in vitro, + 4 et + 20°C et à la congélation.

Pour ce travail, nous disposons de jus brut de deux différentes dates, un du 29.5.75 et l'autre du 18.9.75. Les inoculations sont faites sur plantules d'igname sauvage.

Pour la première conservation, celle du 29.5.75, les inoculations entreprises à partir du 18.9.75 ont révélé une perte du pouvoir infectieux pour les conservations à + 4 et + 20°C, seul le jus congelé garde encore son pouvoir pathogène à la dernière inoculation du 29.10.75. Il résiste donc à au moins 122 jours de congélation.

En ce qui concerne le jus conservé le 18.9.75, l'inoculation des tubes chauffés fait constater que le virus est inactivé entre 50 et 60°C. L'inoculation des tubes conservés in vitro, entrepris un mois après révèlent la perte du pouvoir infectieux pour les tubes conservés à + 4 et + 20°C. Seuls les tubes congelés donnent des réactions à la suite des inoculations.

La température d'inactivation pour le virus de l'igname se situe entre 50 et 60°C. Sa conservation à +4 et +20°C semble de faible durée, puisqu'elle est inférieure à 30 jours ; par contre, il se conserve dans du jus congelé pendant au moins 122 jours. Le résultat est important puisqu'il nous permet de conserver des feuilles virosées afin de travailler en dehors du cycle de végétation de l'igname.

## VI - CONCLUSION GENERALE.

Les deux mois de stage passés au laboratoire de Virologie d'Adiopodoumé m'ont permis de me familiariser avec certaines techniques pratiques de la virologie végétale.

Le temps est beaucoup trop court pour assimiler toutes les techniques et les connaissances permettant d'aboutir à une identification virale certaine. Cependant, ce stage m'apporte une pratique suffisante pour déterminer si une maladie est virale ou non et pour préciser s'il s'agit de l'un des virus les plus fréquents.

Le nombre et la variété des symptômes rencontrés au laboratoire ou au champ couvrent pratiquement toutes les plantes maraîchères couramment cultivées.

Enfin la connaissance des transmissions et des propriétés biologiques d'un virus peuvent donner de grands renseignements. Quant à la suite des recherches, on les poursuit dans un laboratoire spécialisé.

Pour la sélection des plantes résistantes ou tolérantes, le système d'inoculation artificielle nous permettrait de faire une première sélection par l'élimination des variétés très sensibles, ce qui simplifierait grandement le travail sur les parcelles d'essais orientatifs.

### BIBLIOGRAPHIE

- Les virus des végétaux G. SOMMEREYNS.
- Symptoms of virus diseases in plants. L. BOS.
- Les maladies des plantes maraîchères C.M. MESSIAEN et R. LAFON.
- A textbook of plant virus diseases. KENNETH M. SMITH.