

Jean DUBERN

LA FRISOLEE DE L'ARACHIDE



OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER

CENTRE D'ADIOPODOUMÉ - CÔTE D'IVOIRE

B.P.V 51 - ABIDJAN



JUILLET 1977

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER

CENTRE D'ADIOPODOUME (Côte d'Ivoire)

Laboratoire de Virologie

LA FRISOLÉE DE L'ARACHIDE

par

J. DUBERN

RESUME

Une maladie provoquant une frisolée faible sur l'Arachide a été observée en Côte d'Ivoire. Elle est transmise par voie mécanique et semble infecter uniquement quelques espèces de Légumineuses. Le puceron, *Aphis craccivora* Koch., ne transmet pas la maladie.

Le pouvoir infectieux du virus est perdu après chauffage à 70°C pendant 10 mn, mais n'est pas détruit par la congélation à -20°C. L'extrait brut n'est plus infectieux après dilution 10⁴ fois et après une attente de 3 jours à 4°C. Une méthode de purification est décrite. Des particules virales de type filamenteux ont été observées. Par leurs dimensions, 650 nm de longueur et 13 nm de diamètre, ces particules sont à rapprocher des Carlavirus. Caractérisé par sa rangée d'hôtes et par sa symptomatologie, ce virus est probablement nouveau. Appelé Virus de la Frisolée de l'Arachide, le cryptogramme proposé est le suivant : */* : */ (5) : E/E : S/*.

INTRODUCTION

Une maladie présentant une symptomatologie particulière a été observée en 1976-1977 en Basse Côte d'Ivoire, dans la région de Bingerville d'Abidjan et de Dabou. Les feuilles des variétés locales observées montrent une frisolée très légère, comme si la nervure principale de chaque foliole était trop tendue. Cette frisolée est constamment associée à une très fine tacheture, vert pâle. La taille des folioles et des plantes n'est pas réduite et la floraison ne semble pas perturbée. La symptomatologie discrète de la maladie, surtout comparée à la Rosette Chlorotique ou au rabougrissement de l'Arachide, fait qu'elle passe assez inaperçue ; sa fréquence peut cependant atteindre 90 % des plants.

Ces symptômes semblent différents de ceux qui sont observés sur l'Arachide par ailleurs. Seul le "Rugose Leaf Curl" peut être rapproché de la Frisolée ; cependant il s'agit alors réellement d'un enroulement associé à un gaufrage très fort et à une légère diminution de la taille des folioles (Grylls, 1954).

Le rapport présenté décrit la rangée d'hôtes de cette maladie, sa purification et quelques propriétés. Cette maladie qui semble nouvelle a été appelée Frisolée de l'Arachide (Groundnut Frisolée Virus = GFV).

MATERIEL ET METHODES

Virus. L'inoculum initial est formé de plantes infectées récoltées, dans la région d'Abidjan, dans les parcelles d'expérimentation de l'ORSTOM.

Conditions de croissance. Toutes les plantes testées sont produites en serre munie de moustiquaire et de voilage de Tergal à l'abri des insectes. Elles sont obtenues par semis en sol stérilisé et à des températures variant de 28 à 35°C pendant le jour. Les plantes subissent les conditions climatiques de la Côte d'Ivoire : humidité relative voisine de 95 % et éclaircissement diurne pratiquement constant de 12 h. Seules quelques espèces introduites de contrées tempérées, tels *Chenopodium quinoa*, *Ch. amaranticolor*, *Trifolium repens* et *Pisum sativum* reçoivent un éclaircissement supplémentaire de 4 h chaque jour.

Transmission mécanique. L'inoculum est préparé par broyage de feuilles infectées d'Arachide, *Arachis hypogaea* L. variété Te3, fournie par l'I.R.H.O., en tampon phosphate de potassium 0,01 M (4 ml/g de matériel frais), à pH 7,3, et contenant du diéthyl-dithiocarbamate de sodium (0,01 M) et de la bentonite magnésifiée (12,5 mg/ml) préparée préalablement selon la technique de Dunn et Hitchborn (1965). L'extrait brut obtenu est frotté sur les feuilles préalablement saupoudrées de carborindum. Toutes les plantes testées sont utilisées en pleine croissance, lorsqu'elles sont très jeunes. Les Arachides sont utilisées à l'âge de dix jours, au stade 3 feuilles. Seul *Chenopodium sp.* est utilisé très âgé juste avant la mise à fleur.

Essais d'infectivité. Aucun hôte produisant des lésions locales n'avait été trouvé au début des travaux d'extraction et de purification, ni au moment de l'étude des propriétés de l'extrait brut ; l'Arachide, variété Te3, a donc été utilisé pour tester le pouvoir infectieux. Actuellement plusieurs espèces de la famille des Légumineuses semblent répondre par des lésions locales à l'inoculation par GFV, et il est probable que l'une d'elles pourrait être avantageusement utilisée dans ces expérimentations (*Vigna sinensis* Black Eye ou *Dolichos jacquini*).

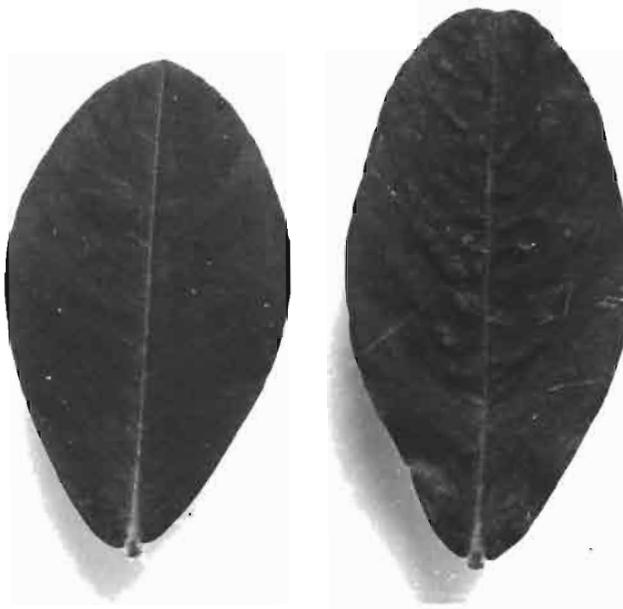
Etude des propriétés "In vitro" de l'extrait brut. La procédure habituelle, telle qu'elle a été décrite par Bos, Hagedorn et Quantz (1960) a été utilisée. De jeunes feuilles d'Arachides inoculées depuis au moins 6 semaines sont utilisées comme source de virus. Le point de dilution limite est déterminé en effectuant des dilutions en série dans du tampon phosphate de potassium 0,01 M à pH 7,3. Le point d'inactivation thermique est déterminé en immergeant des tubes en verre contenant chacun 2 ml d'extrait brut, dans des bains thermostatés à des températures déterminées pendant 10 minutes, puis en les refroidissant rapidement dans un bain de glace immédiatement avant inoculation. La stabilité du pouvoir infectieux de l'extrait brut est testée à la température de la chambre froide (4°C) ; elle est contrôlée de 12 en 12 heures pendant 2 jours puis toutes les 24 h. La résistance du pouvoir infectieux à la dessiccation est étudiée sur des feuilles déshydratées dans des boîtes étanches en présence de gel de silice.

Transmission par puceron. La transmission par puceron a été étudiée avec *Aphis craccivora* et *Aphis citricola* élevés sur Arachide en salle climatisée. Les adultes et les larves aptères de dernier stade larvaire sont mis à jeuner pendant 1 à 3 heures, puis reçoivent un repas d'acquisition de durée variée, de 30 secondes à plusieurs jours, puis un repas d'inoculation de 24 heures à plusieurs jours. Les pucerons sont utilisés par groupe de 10 ou de 20 individus.

Centrifugations. Les centrifugations à hautes vitesses sont effectuées dans une centrifugeuse Beckman L-50. Une centrifugeuse réfrigérée Sorvall RC-2B est employée pour les centrifugations lentes. Les centrifugations en gradient de densité (5-40% saccharose en tampon borate 0,05 M à pH 8,5) sont effectuées en tubes de nitrate de cellulose à 51 000 g pendant 2 à 5 heures dans un rotor Beckman SW 25-1. Après centrifugation, les tubes sont percés à leur base et leur contenu récolté en 50 fractions. La densité optique de chaque fraction est estimée, après dilution en tampon borate, à 260 nm à l'aide d'un spectrophotomètre Zeiss PMQ II.

Microscopie électronique. Les suspensions purifiées ont été observées après coloration à l'acétate d'uranyle 1%. Du matériel brut a également été observé après préparation par la méthode de l'effleurement ("Dip Préparation") (Brandes, 1957 ; Hitchborn et Hills, 1965).

Sérologie. Un antisérum spécifique du virus de la Fricolée n'a pu être produit (délais impartis aux travaux insuffisant). Cependant la réaction hétérologue de séro-agglutination a été étudiée entre des suspensions clarifiées, préparées par la méthode de Van Regenmortel (1964) et divers sérums. La réaction de micro-précipitation sous huile de paraffine, en boîte de Pétri, a été employée (Van Slogteren, 1954). Du sérum normal de lapin et des extraits de plantes saines ont été testés pour contrôle. Les formations des agglutinations sont observées au microscope binoculaire Zeiss, après incubation à la température ambiante, au bout de 1h, 3h, 6h et 12h. Les préparations clarifiées ont été testées contre les sérums des virus suivants : virus des Taches Annulaires de la Grenadille (Passionfruit Ringspot Virus, De Wijs, 1974) ; virus de la Marbrure du Piment (Pepper Veinal Mottle Virus, De Wijs, 1973), virus de la Mosaïque du *Panicum* (Guineagrass Mosaic Virus, Thouvenel et col., 1976), virus Y de la pomme de terre (Potato Virus Y, Brandes et Bercks, 1965), virus de la Mosaïque de la Jusquiame (Henbane Mosaic Virus), virus X de la pomme de terre (Potato Virus X), virus Colombien du *Datura* (Columbian *Datura* Virus, Kahn and Bartels 1968), virus de la Marbrure foliaire de l'Arachide (Peanut Mottle Virus, Bock 1973 ; Kuhn 1965), virus du Nanisme de l'Arachide (Peanut Stunt Virus, Mink 1973), virus du rabougrissement de l'Arachide (Peanut Clum Virus, Thouvenel et col. 1976), virus des Taches Ocellées de l'Arachide (Groundnut Eyespot Virus, Dubern 1977a), et virus de la Rosette Chlorotique de l'Arachide (Groundnut Chlorotic Rosette Virus, Dubern 1977b).



Symptômes provoqués par le virus de la Frisolée
sur Arachide variété Te3.

RESULTATS

Rangée d'hôtes et symptomatologie

51 espèces de plantes appartenant à 8 familles ont été testées. La maladie n'a pas été toujours récupérée à partir des plantes infectées ; cependant des inoculations répétées ont conduit aux mêmes résultats.

Symptomatologie sur Arachide, *Arachis hypogaea* L. variété Te3

L'évolution de la maladie a été notée uniquement sur cette variété. Environ 20 jours après l'inoculation, et plus fréquemment 30 à 40 jours, une très fine tacheture apparaît sur la feuille terminale : petites stries de 1 mm réparties sur tout le limbe ou parfois localisées le long de la nervure principale ; simultanément la nervure principale semble ralentir sa croissance et la feuille paraît frisée. Assez fréquemment, la frisolée n'apparaît pas ou seulement très épisodiquement. Ces symptômes subsistent lorsque la plante vieillit et, deux mois après l'inoculation, les plantes présentent encore des symptômes nets de maladie. Aucune réduction notable de la taille des feuilles et des plantes n'a été observée ; les plantes fleurissent et portent des graines.

Plantes sensibles à partir desquelles la maladie a été récupérée

Leguminosae. *Arachis hypogaea* variété Te3 : tacheture et frisolée faible, 20-40 jours après inoculation ; symptômes persistants.

Centrosema pubescens, lésions locales nécrotiques sur feuilles inoculées puis légère chlorose.

Soja max, lésions locales nécrotiques puis marbrure très pâle sur les feuilles néoformées.

Vigna sinensis Blackeye, lésions locales nécrotiques sur feuilles inoculées, mosaïque sur feuilles néoformées.

Canavalia ensiformis enrroulement, gaufrage et marbrure sur feuilles néoformées.

Plantes sensibles à partir desquelles la maladie n'a pas été récupérée.

Leguminosae. *Desmodium polycarpum*, lésions locales nécrotiques sur feuilles primaires inoculées.

Dolichos jacquini, lésions locales nécrotiques sur feuilles primaires inoculées.

Psophocarpus tetragonolobus, chlorose des feuilles inoculées et néoformées.

Phaseolus lathyroides, lésions locales nécrotiques sur feuilles primaires inoculées.

Cassia occidentalis, lésions locales chlorotiques puis marbrure sur feuilles néoformées.

Pisum sativum, nécrose totale de la plante.

Cassia obtusifolius, lésions locales chlorotiques, puis tâches annulaires très pâles sur feuilles néoformées.

Plantes non sensibles

Leguminosae. *Stylosanthes gracilis*, *Melilotus alba*, *Medicago sativa*, *Phaseolus mungo*, *Phaseolus vulgaris* var. *Bountiful*, *Crotalaria juncea*, *C. pallida*, *C. usaramoensis*, *C. atrorubens*, *Trifolium repens*, *Vicia faba*, *Kennedia sp.*, *Clitoria ternatea*.

Compositae. *Zinnia elegans*.

Chenopodiaceae. *Beta vulgaris*, *Chenopodium album*, *Ch. amaranticolor*, *Ch. murale*, *Ch. quinoa*.

Alzooaceae. *Tetragonia expansa*.

Scrofulariaceae. *Torenia fournieri*, *Anthirrinum majus*.

Cucurbitaceae. *Cucumis sativus*.

Malvaceae. *Hibiscus esculentus*, *Gossypium hirsutum*.

Solanaceae. *Physalis floridana*, *Physalis alkekeringiae*, *Petunia rosea*, *Capsicum frutescens*, *Lycopersicon esculentum*, *Datura stramonium*, *Nicotiana tabacum* var. *White Burley*, *N. tabacum* var. *Xanthi*, *N. tabacum* var. *Samsun*, *N. clevelandii*, *N. glutinosa*, *N. tomentosa*, *N. texana*, *N. megalosyphon*, *N. rustica*, *N. clevelandii* x *N. glutinosa* var. *Christie*.

Passifloraceae. *Passiflora coerulea*.

Propriétés de l'extrait brut

Point de dilution limite. Le pouvoir infectieux de l'extrait brut est fortement diminué après dilution à 10^{-3} . Aucun symptôme n'apparaît plus après dilution de l'extrait à 10^{-4} .

Point de thermoïnactivation. Le pouvoir infectieux de l'extrait brut d'Arachide malade est très réduit après chauffage à 65°C pendant 10 minutes ; il devient nul après 10 minutes à 70°C.

Résistance à la dessiccation. Les feuilles d'Arachide déshydratées perdent lentement leur pouvoir infectieux. Cependant deux semaines après dessiccation les feuilles restent encore infectieuses.

Longévité à 4°C. Trois jours après broyage, et laissé à la température de la chambre froide (4°C), l'extrait brut est encore infectieux.

Effet de la congélation. Au bout de 1 mois de congélation, l'extrait brut est encore infectieux. Après cinq congélations puis décongélations successives, l'extrait brut est encore infectieux quoiqu'il ait perdu les trois quarts de son pouvoir.

Effet du pH. Le pouvoir infectieux de l'extrait brut dépend du pH. Entre 5,0 et 9,5, l'extrait est infectieux ; le pouvoir est le plus élevé vers pH 7,5-8,5. Ces résultats sont confirmés par les premiers travaux d'électrofocalisation sur colonne d'ampholine ; le point isoélectrique du virus serait situé aux environs de pH 4,70.

Transmission par puceron

La recherche d'un vecteur a seulement été entreprise. Deux espèces de pucerons très abondants dans la nature, *Aphis craccivora* et *A. citricola*, ont été utilisées pour tenter de transmettre la maladie. Des groupes de 5 pucerons aptères de dernier stade larvaire, élevés sur Arachide saine, ont été déposés sur Arachide malade pour un premier repas d'acquisition, pendant un temps déterminé, de 30 s, 2 mn, 2 heures, 6 heures, 24 heures et 48 heures. Ils ont été ensuite déposés sur des plantes saines sur lesquels ils sont restés 24 h pour un repas d'inoculation. Il n'a pas été possible de transmettre la maladie.

Dans une autre expérience, les pucerons sont directement élevés sur des plantes malades, les larves de dernier stade nées sur ces plantes malades sont transportées sur des plantes saines où elles vivent jusqu'à leur mort naturelle (10 à 15 jours). Par cette méthode il n'a pas non plus été possible de transmettre la maladie.

Purification

Le virus de la Frisolée de l'Arachide (GFV) a été purifié à partir d'Arachide variété Te3. Les feuilles fraîchement récoltées sont broyées pendant une minute dans un homogénéiseur Waring Blendor, dans du tampon phosphate de potassium 0,2 M à pH 8,2 (4 x ml de tampon pour 1 x g de feuilles), additionné de

bisulfite de sodium 0,01 M et d'urée 1 M. L'urée est nécessaire pour éviter l'aggrégation des particules virales et favoriser leur mise en suspension (Damirdagh and Shepherd, 1970). Le broyat est filtré sur une étamine puis clarifié par une première centrifugation lente réalisée à 7000 g pendant 20 mn. Par la suite l'extrait clarifié est additionné de chloroforme (10 % v/v) ; l'émulsion formée avec le chloroforme est cassée par centrifugation à 7000 g pendant 20 mn. La phase aqueuse est ensuite ultracentrifugée à 105 000 g pendant 150 mn. Les culots sont remis en suspension dans du tampon borate 0,05 M. La suspension virale est, après clarification par centrifugation lente à 5000 g pendant 10 mn, ultracentrifugée sur un gradient de saccharose 10-40 % (p/v) pendant 3 à 5 heures. De l'éthylènediamine-tétraacétate de sodium (EDTA) 0,001 M est ajouté à la solution de saccharose pour éviter l'aggrégation des particules virales. Une bande virale très peu opalescente est observée à 20-25 mm du ménisque après 3 h de centrifugation à 22500 t/mn dans un rotor Beckman SW 25-1. Les bandes opalescentes du gradient sont diluées avec du tampon borate et sédimentées par ultracentrifugation ; les culots sont remis en suspension dans du tampon borate 0,01 M pH 8,2. Cette suspension est caractérisée par son spectre d'absorption en lumière ultraviolette : maximum à 260 nm, minimum à 242 nm, max./min. de 1,15-1,20, rapport OD₂₆₀/OD₂₈₀ de 1,28-1,32, caractéristique d'une nucléoprotéine. Ce dernier rapport est légèrement trop élevé et s'explique par une teinte légèrement ocre due à l'adsorption de pigments au cours de l'extraction. Il correspond à une teneur de 5 à 6% d'acide nucléique (Layne, 1957).

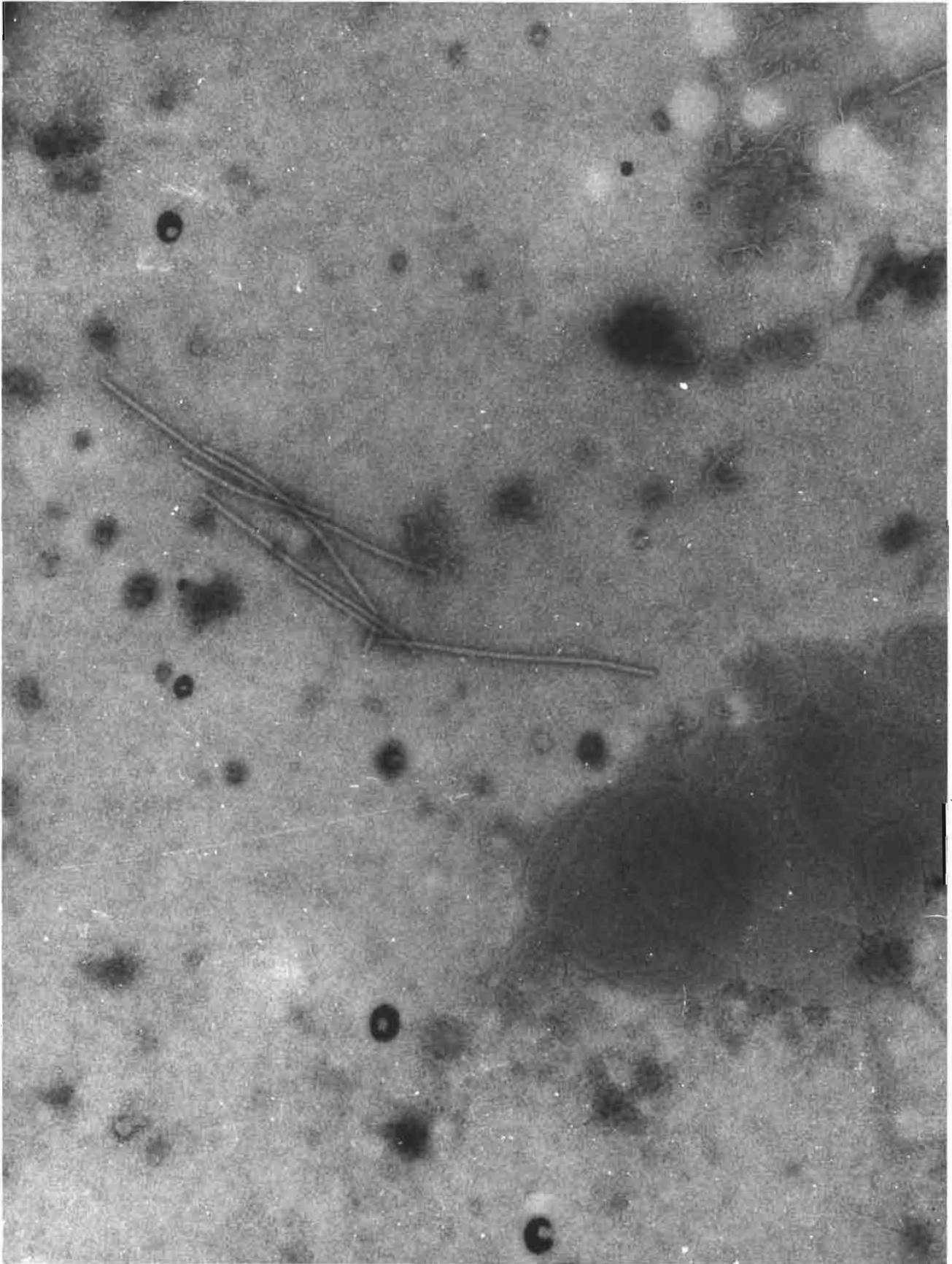
Une autre méthode d'extraction a été utilisée : la concentration par addition de polyéthylène-glycol 20000 (Albretchova and Klir, 1970). Le système de purification qui suit reste le même : centrifugation en gradient de saccharose 10-40%. Cette méthode permet de traiter des quantités importantes de feuilles mais conduit à un rendement très faible.

Microscopie électronique

Deux particules filamenteuses ont été observées dans les extraits bruts et les préparations purifiées en gradient de saccharose (voir histogramme ci-joint). La longueur moyenne de la classe la plus fréquente est de 650 nm et le diamètre moyen de 13 nm. 148 particules ont été mesurées. Des dimères et polymères sont observés puis que des classes de particules de 1300, 2000, 2600 et même 3200 nm ont été mesurées.

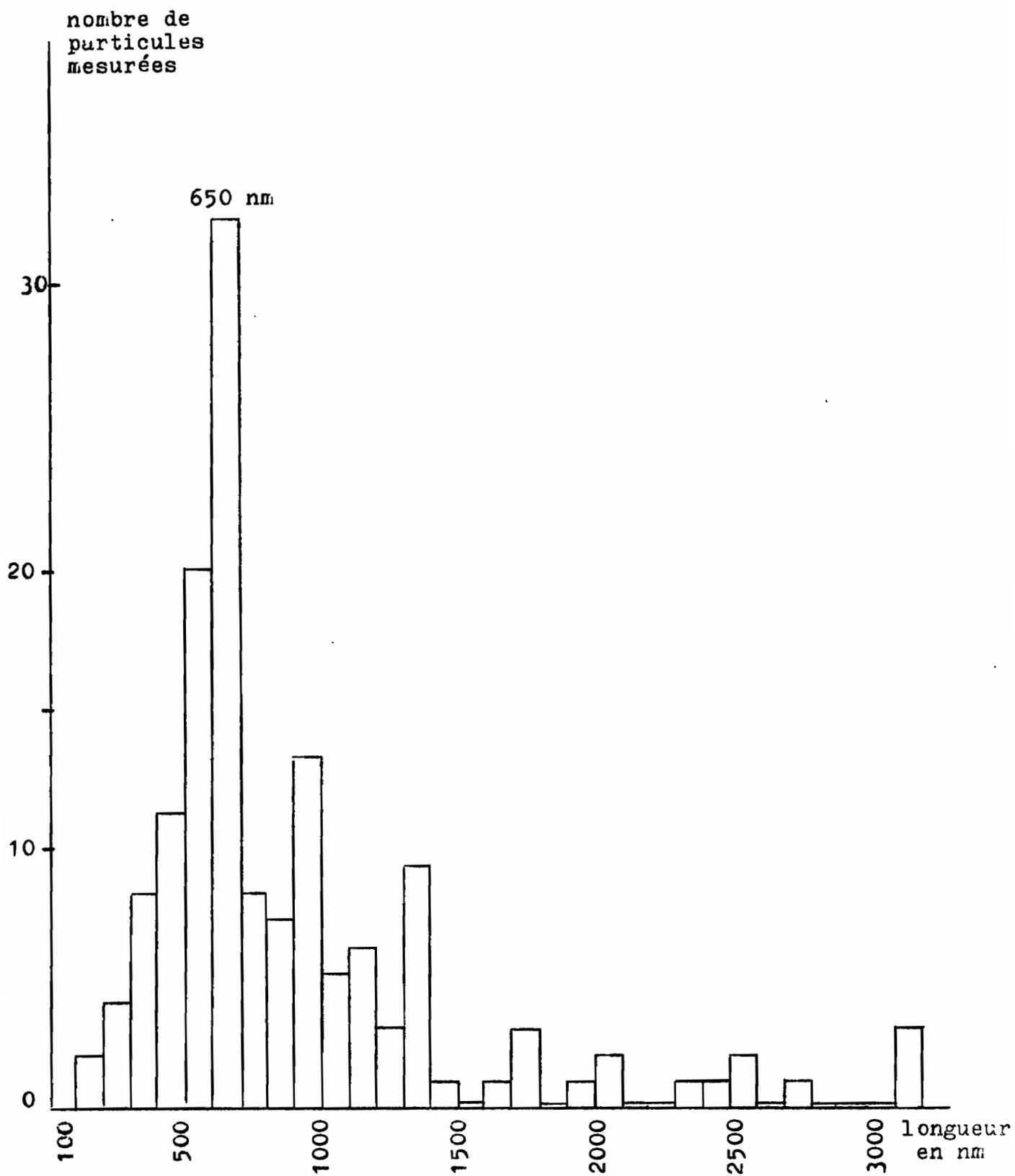
Sérologie

Aucune réaction de séroagglutination n'a été observée entre les suspensions purifiées, ou les suspensions clarifiées selon la méthode de Van Regenmortel, et les sérums des virus mentionnés précédemment.



Particules filamenteuses du virus de la Frisolée de l'Arachide observées en microscopie électronique.

(G = 125 000).



Histogramme des longueurs des particules de G F V.

DISCUSSION

La rangée d'hôtes du virus de la Frisolée de l'Arachide paraît limitée à la famille des Légumineuses. Il n'a pas en effet été possible d'infecter des plantes habituellement très sensibles telles *Nicotiana clevelandii*, *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. quinoa* ou *Tetragonia expansa*. Cependant il infecte avec certitude *Centrosema pubescens*, *Soja max*, *Vigna sinensis* et *Canavalia ensiformis* et probablement, bien que le virus n'ait pu être récupéré, *Desmodium polycarpum*, *Dolichos jacquini*, *Psophocarpus tetragonolobus*, *Cassia sp.* et *Phaseolus lathyroides*. Ce virus infecte donc de nombreuses Légumineuses cultivées et notamment des cultures dont le développement est prévu sur de grandes surfaces, telles *Soja* et *Psophocarpus*.

Centrosema pubescens est une plante réservoir de la maladie ; il a en effet été possible de récupérer le virus dans les haies près des champs d'expérimentation de l'ORSTOM.

Vigna, *Centrosema*, *Soja*, *Dolichos* et *Phaseolus* sont de bonnes plantes tests par suite de la production de lésions locales. Elles ne sont pas pour autant de bonnes plantes diagnostiques car elles peuvent être infectées par de très nombreux virus.

Le tableau 1 résume les maladies à virus qui infectent l'Arachide. Aucune de ces maladies ne peut être considérée comme identique à la Frisolée de l'Arachide.

Seul le "Rugose leaf curl" de l'Arachide, signalé par Grylls (1954) en Australie, puis par Monsarrat (1976, communication personnelle) en Côte d'Ivoire, provoque un gaufrage assez semblable à la frisolée, quoique beaucoup plus intense. Cependant, cette maladie, n'a pas été transmise par voie mécanique, sa rangée d'hôte semble différente et aucun agent n'a pour l'instant été isolé.

Aucune relation sérologique n'a été obtenue avec les virus du groupe Y de la Pomme de Terre (Potyvirus), du groupe X de la Pomme de terre (Potexvirus), du groupe de la Mosaïque du Tabac (Tobamovirus), du groupe du "Rattle" du Tabac (Tobravirus). Ceci concorde avec les observations de microscopie électronique qui ont permis d'identifier une particule filamenteuse de 650 nm x 13 nm, de morphologie identique aux Carlavirus. La comparaison sérologique entre le Virus de la Frisolée et les virus de ce dernier groupe n'a pu être effectuée faute de temps, mais devrait confirmer l'appartenance du virus de la Frisolée à ce groupe.

Parmi les Carlavirus, seul le "Cowpea mild mottle virus" possède des propriétés très voisines : absence de transmission par puceron, même morphologie, même propriétés de l'extrait brut, transmission mécanique aisément réalisée ; cependant les symptômes produits sur Arachides et les rangées d'hôtes sont très différentes ; les symptômes produits sur ces plantes hôtes sont aussi différents.

CONCLUSION

De l'étude présentée dans ce rapport, il résulte que la Frisolée de l'Arachide est provoquée par un virus nouvellement répertorié. Ce virus, appelé virus de la Frisolée de l'Arachide (Groundnut Frisolée Virus) est caractérisé par le cryptogramme (Gibbs, 1969) suivant */* : */ (5) : E/E : S/*. Ce virus appartient probablement au groupe des Carlavirus et est probablement très proche du "Cowpea mild mottle virus", avec lequel il n'y a cependant pas identité.

Tableau 1 - Comparaison du GFV avec les virus
Infectant l'Arachide

Virus	Références	Symp- tômes	Rangée d'hôtes	Transmissions Mécani- que	Par Puceron	Propri- étés de l'extrait	Morpho- logie
Groundnut frisolée		+	+	+	-	+	+
G. eyespot	Dubern, 1977	-	-	+	+	-	-
G. chlorotic spot	Haragopal, Nayudu, 1971	-	-	+	o	-	o
G. ringspot, America	Kuhn and al. 1964	-	-	-	-	o	o
G. ringspot, Africa	Klessner, 1966	-	-	+	+	o	o
G. veinbanding	Klessner, 1967	-	-	+	+	o	o
G. green rosette	Klessner, 1968	-	-	-	++	o	o
G. chlorotic rosette	Okusanya, Watson, 1966	-	-	+	++	+	-
G. latent	Bock and al. 1968	-	-	+	-	+	-
G. ring mottle	Sharma, 1966	-	-	-	-	o	o
G. mosaic, India	Narlan and Dhingra, 1963	-	-	-	-	o	o
G. mosaic, Java	Bergman, 1956	-	-	-	-	o	o
G. bunchy top	Sharma, 1966	-	-	-	-	o	o
G. chlorosis	Sharma, 1966	-	-	+	++	o	o
G. rugose leaf curl	Grylls, 1954	+	-	-	-	o	o
G. witches broom	Bergman, 1956	-	-	-	-	o	o
G. marginal chlorosis	Van Velsen, 1961	-	-	-	o	o	o
Peanut stunt	Mink, 1973	-	-	+	+	+	-
P. mottle, America	Kuhn, 1965	-	-	+	+	+	-
P. mottle, Africa	Bock, 1973	-	-	+	+	+	-
P. clump	Thouvenel, and al., 1976	-	-	+	-	+	-
Tomato spotted wilt	Helms, 1961	-	-	+	-	-	-
Tobacco mosaic	Niazl, 1973	-	-	+	-	-	-
Okra mosaic	Glvoid and Hirth, 1973	-	-	+	-	-	-
Cowpea mild mottle	Brunt and Kenten, 1974	-	-	+	-	+	+

+ Indique les mêmes propriétés ; - indique des propriétés différentes et o aucune connaissance sur le sujet. Pour "symptômes", + indique un aspect approximativement semblable. Pour "Transmission par puceron", + indique transmission non persistante et ++ transmission persistante.

REFERENCES

- ALBRETCHOVA, L. & KLIR, O. (1970). Precipitation of S, M, X and Y potato viruses by polyethyleneglycols with different molecular weights. Biologia Plantarum 12, 31-40.
- BERGMAN, B.H.H. (1956). Het mozaiek I en de keksenbezemziekte van de aardnoot (*Arachis hypogaea* L.) in West Java en hun vector, de jasside *Orosius argentatus* (Evans). Tijdschr. PZiekt 62, 291-304.
- BOCK, K.R. (1973). Peanut mottle virus in East Africa. Annals of Applied Biology 74, 171-179.
- BOCK, K.R., PERRY, J., WAINDI, E.N., AMBETSA, T. & MWATHI G.K. (1968). Record of Research for the period 1 st January to 31 December 1968. Annual Report 1968, East African Agriculture and Forest Research Organization, 183 pp.
- BOS, L., HAGEDORN, D.J. & QUANTZ, L. (1960). Suggested procedures for international identification of legume viruses. Tijdschrift overplantenziekten 66, 328-343.
- BRANDES, J. & BERCKS, (1965). Gross morphology and serology as a basis for classification of elongated plant viruses. Advances in Virus Research 11, 1-24.
- BRANDES, J. & WETTER, C. (1963). Studies on the characteristics and relationships of Passiflora latent virus. Phytopath. Z. 49, 61-70.
- BRUNT, A.A. & KENTEN, R.H. (1974). Cowpea mild mottle virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses. n° 140.
- DAMIRDAGH, I.S. & SHEPHERD, R.J. (1970). Purification of the tobacco etch and other viruses of the potato virus Y group. Phytopathology 60, 132-142.
- DE WIJS, J.J. (1973). Pepper vein mottle virus in Ivory Coast. Netherlands Journal of Plant Pathology 79, 189-193.
- DE WIJS, J.J. (1974). A virus causing ringspot of *Passiflora edulis* in the Ivory Coast. Annals of Applied Biology 77, 33-40.
- DUBERN, J. (1977a). Le Virus des Taches Ocellées de l'Arachide, un nouveau potyvirus. Rapport ORSTOM, multigr. 12 pp.
- GIBBS, A. (1969). Plant virus classification. Advances in Virus Research 14, 263-328.
- GRYLLS, N.E. (1954). Rugose leaf curl - a new virus disease transmitted by the leafhopper *Austroagallia torrida*. Aust. J. Biol. Sci. 7, 47-58.
- HARAGOPAL, T. & NAYUDU M.V. (1971). A new sap transmissible groundnut chlorotic spot virus. Phytopathologische Zeitschrift 71, 33-41.
- DUBERN, J. (1977b). La Rosette Chlorotique de l'Arachide: contribution à l'étude de la transmission. Rapport ORSTOM, multigr. 13pp.

- HELMS, K., GRYLLS, N.E. and PURSS, G.S. (1961). Peanut plants in Queensland infected with tomato spotted wilt virus. Australian Journal of Agricultural Research 12, 239-246.
- KAHN, R.P. & BARTELS R. (1968). The columbian *Datura* virus, a new virus in the potato virus Y group. Phytopathology 58, 587-592.
- KLESSER, P.J. (1966). Groundnut ringspot virus, a new sap transmissible virus of *Arachis hypogaea* and *A. monticola*. South African Journal of Agricultural Science 9, 711-720.
- KLESSER, P.J. (1967). A veinbanding virus of groundnuts, *Arachis hypogaea* L. . South African Journal of Agricultural Science 10, 515-528.
- KLESSER, P.J. (1968). Green rosette virus of groundnuts in South Africa. South African Journal of Agricultural Science 11, 77-86.
- KUHN, C.W., HAMMONS, R.O. & SOWELL G. (1964). A ringspot disease of peanuts. Plant Disease Reporter 48, 729-732.
- KUHN, C.W. (1965). Symptomatology, host range and effect on yield of a seed-transmitted virus. Phytopathology 55, 880.
- LAYNE, E. (1957). Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. In Methods in enzymology 3, 447-454, Ed. N.O. Kaplan, New York, Academic Press.
- MONSARRAT, A. (1977). Communication Personnelle. Le "Rugose Leaf curl" de l'Arachide en Côte d'Ivoire.
- MINK, G.I. (1973). Peanut stunt virus. C.M.I./A.A.B - Descriptions of Plant Viruses n° 92, 4 pp.
- NARIANI, T.K. & DHINGRA, K.L. (1963). A mosaic disease of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Indian Journal of Agricultural Science 33, 25-27.
- NIAZI, F.R., CHANDRA, K.J. & PRADESH N. (1973). A new strain of TMV infecting sunnhemp. Indian Phytopathology 36, 115-121.
- OKUSANYA, B.M.A. & WATSON, M.A. (1966). Host range, and some properties of groundnut rosette virus. Annals of Applied Biology 58, 377-387.
- PURCIFULL, D.E. (1966). Some properties of tobacco etch virus and its alkaline degradation products. Virology 28, 8-14.
- SHARMA, D.C. (1966). Studies on "bunchy top", "chlorosis" and "ring mottle" virus diseases of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Phytopathologische Zeitschrift 57, 127-137.
- SWENSON, K.G. (1967). Plant virus transmission by insects. In : Methods in Virology 1, 267-307. Academic Press, New-York.

- THOUVENEL, J.C., DOLLET, M. & FAUQUET C., (1976). Some properties of peanut clump, a newly discovered virus. Annals of Applied Biology 84, 311-320.
- THOUVENEL, J.C., GIVORD, L. & PFEIFFER, P. (1976). Guinea grass mosaic virus, a new member of the potato virus Y group. Phytopathology 66, 954-957.
- VAN OOSTEN, H.J. (1972). Purification of plum pox (sharka) virus with the use of Triton-X-100. Netherlands Journal of Plant Pathology 78, 33-44.
- VAN SLOGTEREN, D.H.M. (1954). Serological microreactions with plant viruses under paraffin oil. Proceedings of the 2nd Conference on Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, pp. 51-54.
- VAN VELSEN, R.J. (1961). Marginal chlorosis, a seed-borne virus of *Arachis hypogaea* variety Schwarz 21 in New Guinea, Papua and New Guinea Agricultural Journal 14, 38-40.