

VIROLOGIE. — *Un nouveau virus du groupe de la Mosaïque Jaune du Navet : le virus de la Mosaïque du Gombo* (*Hibiscus esculentus* L. *Malvacée*). Note (*) de M^{me} Louise Givord, MM. Pierre Pfeiffer et Léon Hirth, présentée par M. Roger Gautheret.

Un nouveau virus des Malvacées a été découvert en Côte-d'Ivoire. Il provoque une Mosaïque sur *Hibiscus esculentus* et peut infecter des plantes de familles diverses. Sa purification et ses propriétés sont décrites. On a montré qu'il s'agissait d'un virus du groupe du virus de la Mosaïque Jaune du Navet (VMJN).

INTRODUCTION. — Au début de 1969, une mosaïque et des bandes vert clair le long des nervures principales ont été observées sur une plante vivrière, le Gombo (*Hibiscus esculentus* L.) dans les champs de la station d'expérimentation agricole de Bouaké puis dans les cultures villageoises de la Basse Côte-d'Ivoire.

La présente Note démontre la nature virale de la maladie et décrit la purification et les propriétés physicochimiques du virus qui s'est révélé n'avoir jamais été signalé jusqu'ici.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — a. *Transmissions*. — L'inoculum initial était constitué de feuilles de *H. esculentus* infectées prélevées dans les champs. Ces feuilles ont été broyées et l'extrait brut qui en est résulté a été inoculé mécaniquement à son hôte naturel : *H. esculentus*, var. Clemson spineless. La croissance des plantes et leur inoculation sont toujours effectuées en cages mettant les plantes à l'abri des insectes. Les plantes sont soumises aux conditions climatiques naturelles (température moyenne 28 °C, humidité moyenne 90 %).

Les essais de transmission par aphides ont été effectués selon la technique de Swenson (1) avec *Aphis gossypii* Glov. ; la transmission par Aleyrodes (*Bemisia tabaci* Genn.) a été tentée dans les conditions décrites par Capoor et Varma (2).

La méthode classique de transmission par Cuscute (*Cuscuta subinclusa* Durr. et Hilg.) a été également expérimentée.

b. *Sur l'extrait brut ont été déterminés :*

— le point d'inactivation thermique de l'agent pathogène, en chauffant 2 ml de l'extrait brut pendant 10 mn à différentes températures (de 50 à 100 °C) ;

— la survie de l'agent pathogène par conservation des échantillons à température ambiante (24 °C) pendant plusieurs jours ;

— la résistance à la dessiccation par l'exposition des feuilles de *H. esculentus* malades à l'air ambiant pendant plusieurs semaines ; chaque semaine, une feuille est broyée et le pouvoir infectieux de l'extrait brut éprouvé sur *H. esculentus*.

La détermination du pouvoir infectieux de l'extrait brut traité de ces différentes manières a été examinée par la méthode de Raymer et Diener (3) en utilisant comme plante hôte *H. esculentus*.

c. *Purification du virus*. — Les feuilles de plantes malades sont congelées et broyées en présence de tampon phosphate de sodium 0,01 M, pH 7,0, additionné

30 NOV. 1972

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n°

5779 Phyt

GIVORD

de bisulfite de Na à 3 % et de bentonite à 1 %. Après clarification, on a additionné à l'extrait 1/2 volume de *n*-butanol, agité 5 mn et conservé pendant 1 h à 4 °C. L'émulsion a été cassée par une centrifugation à 8 000 g, puis la phase aqueuse a subi trois cycles de centrifugation alternée à haute et basse vitesse.

d. *Microscopie électronique*. — A partir des suspensions obtenues après purification, des grilles de microscopie électronique ont été préparées selon la technique de Mellena et coll. (4) et observées avec un microscope électronique « Siemens Elmiscop 1 A ».

e. *Immunologie*. — Un antisérum spécifique de l'agent pathogène a été fabriqué par la méthode de Van Regenmortel (5). La réaction entre l'antigène et l'anticorps a été étudiée par double diffusion en gel d'agar (6) et par précipitation en tubes.

RÉSULTATS. — La transmission mécanique de la maladie a été obtenue très facilement de Gombo à Gombo et du Gombo à 40 espèces de Malvacées ainsi qu'à des plantes appartenant à d'autres familles (Amaranthacées, Chenopodiacees, Convolvulacées, Cucurbitacées, Euphorbiacées, Légumineuses, Solanacées et Urticacées). La liste complète des espèces sensibles et non sensibles au virus sera publiée dans un mémoire en préparation.

La transmission par cuscute, tentée à partir de différentes espèces infectées à différentes plantes saines, est restée sans succès.

Les résultats des essais de transmission par insecte ont été négatifs.

Le virus produit essentiellement des symptômes de Mosaïque, d'éclaircissement des nervures, des bandes vert clair plus ou moins larges le long des nervures principales chez les Malvacées (*fig. A*). Dans les autres familles, il fait apparaître une tacheture plus ou moins fine et régulière ou bien des taches annulaires (en particulier chez les Chenopodiacees).

Les propriétés de l'extrait brut sont les suivantes :

Température d'inactivation :	80 °C
Longévité <i>in vitro</i> :	9 jours
Point de dilution limite :	10 ⁻⁶ .

Notons enfin que le pouvoir pathogène de l'agent infectieux se manifeste encore après 76 jours d'exposition des feuilles de *H. esculentus* à la dessiccation.

Les suspensions purifiées sont toujours hautement infectieuses. Leur observation

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Fig. A. — Symptômes systémiques provoqués par l'inoculation mécanique du VMG sur le Gombo variété Clemson spineless : a. Feuille saine ; b. Feuille primaire montrant la Mosaïque ; c. Feuille primaire montrant le symptôme d'éclaircissement des nervures ; d. Feuille secondaire montrant la formation des bandes vert clair le long des nervures ; e. Feuille secondaire montrant le « vein banding » ; f. Feuille tertiaire montrant le « vein banding » réduit à une seule nervure.

Fig. B. — Aspect en microscopie électronique de quelques particules de VMG purifié : virions et capsides.

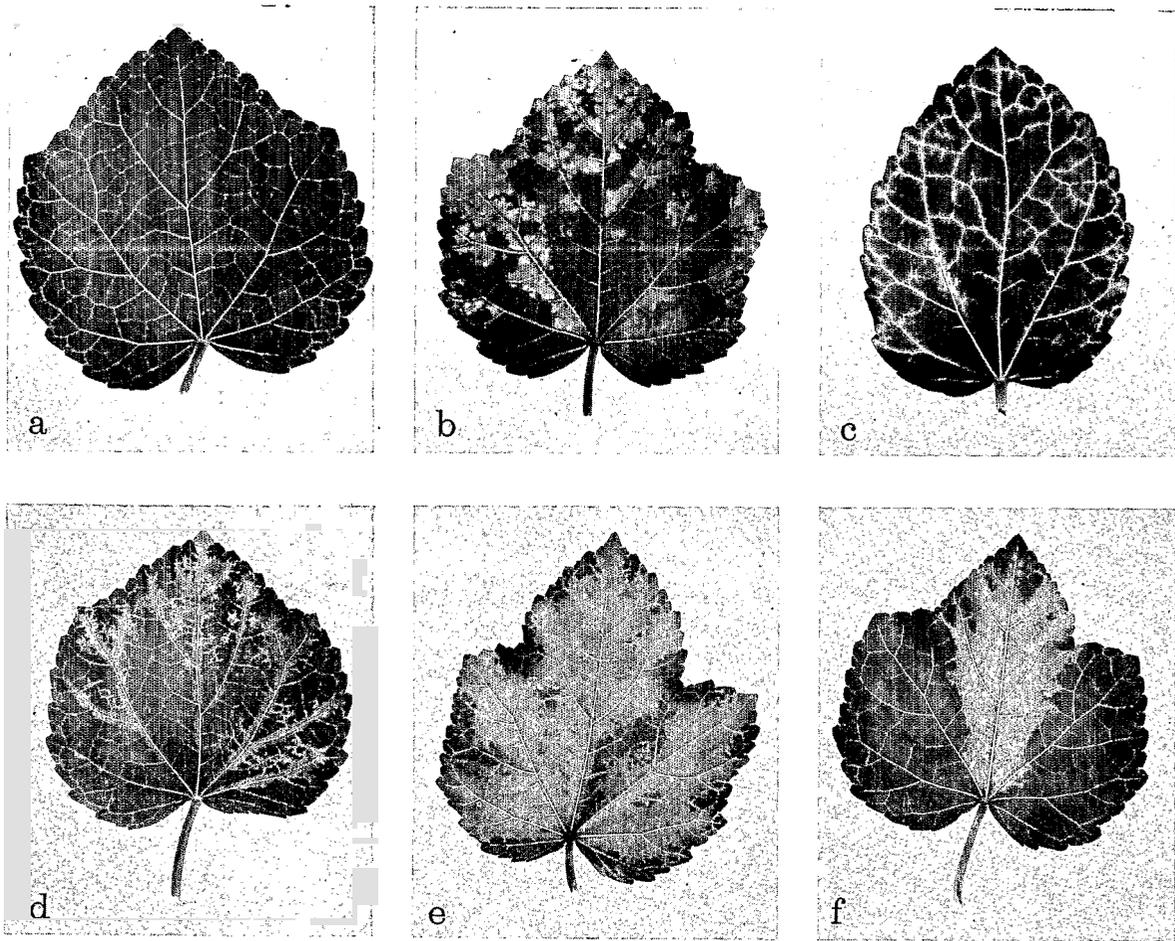


Fig. A

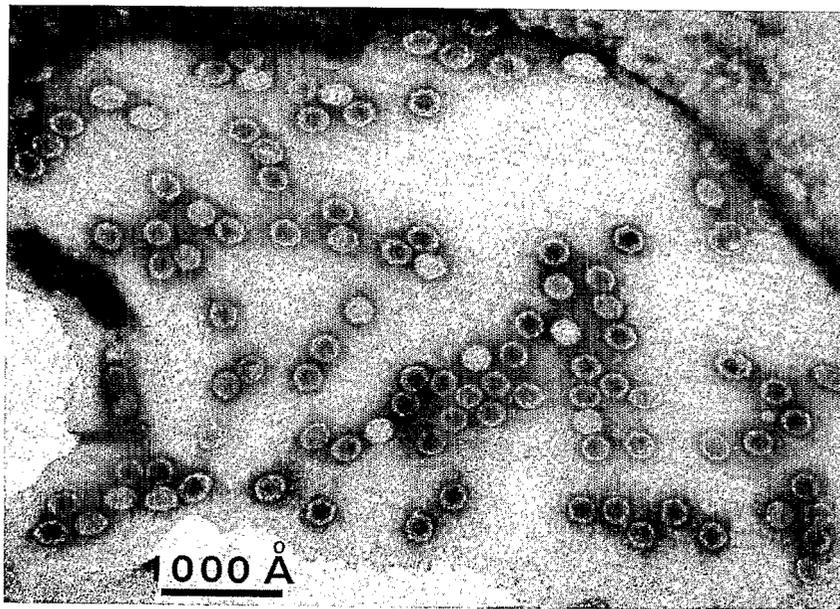


Fig. B

en microscopie électronique (*fig. B*) a révélé des particules isométriques de deux sortes : des particules pleines et des particules apparemment vides. Leur diamètre est de $28,5 \pm 2,5$ nm. On peut en déduire que l'agent pathogène est un virus.

L'analyse des suspensions purifiées par ultracentrifugation en gradient de saccharose (10-50 %) a permis d'obtenir deux pics dont les caractéristiques ont été examinées au spectrophotomètre. C'est ainsi que le composant léger a son maximum d'absorption à 278 nm et le lourd à 261 nm. Le rapport absorption à 260 nm/absorption à 280 nm a une valeur de 1,61. Le composant lourd est donc une nucléoprotéine (virus) et le composant léger est protéinique (capside).

L'ultracentrifugation analytique a révélé, elle aussi, deux composants dont les coefficients de sédimentation sont : 106 S et 42 S. La comparaison de l'action de la ribonucléase et de la désoxyribonucléase sur l'acide nucléique du virus ainsi que les tests de Meijbaum et de Dish ont montré que le virus contenait de l'acide ribonucléique à un brin.

La composition en bases du RNA, rapportée dans une publication en cours de rédaction (Bouley et Givord), est la suivante : U : 25,5 % : C 39,8 % : G 17,2 % : A 17,5 %. Enfin des expériences préliminaires d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide ont montré que le poids moléculaire de la sous-unité protéique était de 20 000.

Les propriétés de ce virus, en particulier la teneur importante du RNA en cytosine (40 %), la température élevée d'inactivation (80 °C) et la présence d'un composant léger, le font ressembler au virus de la Mosaïque Jaune du Navet (VMJN). Cette parenté a été confirmée par l'étude immunologique ; en faisant réagir le virus de la Mosaïque du Gombo contre un sérum anti-VMJN dont le titre homologue est de $1/8\ 000^e$, celui-ci a réagi jusqu'à une dilution de $1/32$.

CONCLUSION. — De nombreuses maladies à virus ont été décrites chez les Malvacées. L'agent causal de la plupart de ces maladies n'a pas été isolé. Toutes ces maladies sont distinctes de la Mosaïque du Gombo par une ou plusieurs propriétés (symptômes, transmission, propriétés de l'extrait brut, morphologie du virus éventuellement).

Les propriétés du virus qui viennent d'être décrites démontrent que celui-ci est entièrement nouveau et fait partie du groupe du virus de la Mosaïque Jaune du Navet décrit par Gibbs (7).

Des expériences permettant d'établir les relations sérologiques entre le virus de la Mosaïque du Gombo et les autres membres du groupe de VMJN sont actuellement en cours. Nous proposons de donner à l'agent responsable de cette maladie l'appellation suivante : virus de la Mosaïque du Gombo dont l'abréviation serait VMG.

(*) Séance du 3 juillet 1972.

(1) K. G. SWENSON, dans : *Methods in Virology*, K. Maramorosch et H. Koprowsky, Academic Press, New York et Londres, 1, 1967, p. 286.

- (2) S. P. CAPOOR et P. M. VARMA, *Indian J. agric. sc.*, 20, 1950, p. 217.
- (3) W. B. RAYMER et T. O. DIENER, *Virology*, 37, 1968, p. 343.
- (4) J. E. MELLENA, E. F. J. VAN BRUGGEN et M. GRUBER, *J. Mol. Biol.*, 31, 1968, p. 75.
- (5) M. H. V. VAN REGENMORTEL, *Adv. Virus Res.*, 12, 1966, p. 207.
- (6) Ö. OUCHTERLONY, *Prog-Allergy*, 5, 1958, p. 1.
- (7) A. GIBBS, *Adv. Virus Res.*, 14, 1969, p. 263.

Laboratoire de Virologie,
Centre ORSTOM Adiopodoumé,
B. P. n° 20, Abidjan, Côte-d'Ivoire ;
Laboratoire des Virus des Plantes,
8, rue Gæthe, 67-Strasbourg, Bas-Rhin.