

43
EPIDEMIOLOGIE DE LA MOSAÏQUE AFRICAINE DU MANIOC : METHODES
D'ETUDES ET DIFFICULTES RENCONTREES.

EPIDEMIOLOGY OF AFRICAN CASSAVA MOSAIC DISEASE : METHODS OF STUDY
AND DIFFICULTIES FACED.

FARGETTE, D., FAUQUET, C., J-C THOUVENEL
Laboratoire de Virologie. ORSTOM. BP V 51. ABIDJAN. COTE D'IVOIRE

RESUME Les difficultés apparues au cours des travaux sur l'épidémiologie de la mosaïque africaine du manioc sont décrites. Elles se rapportent à la symptomatologie, à la détection de l'agent pathogène et à l'identification du vecteur, à l'échantillonnage des populations et à l'évaluation de leur pouvoir virulifère. Certains points de méthodologie concernant l'étude des sources d'infection (localisation et importance des contaminations primaires et secondaires) sont précisés.

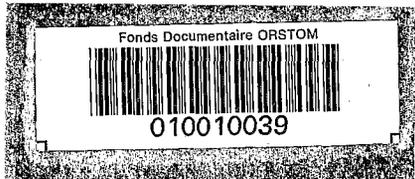
INTRODUCTION En milieu tropical les maladies virales transmises par *Bemisia tabaci* provoquent des dégâts importants mais ont cependant été peu étudiées. En particulier la connaissance de leur épidémiologie, pourtant indispensable pour la mise au point des méthodes de lutte, reste souvent succincte. Cette situation peut s'expliquer par les difficultés propres aux études épidémiologiques : le travail de terrain souvent rébarbatif, le temps nécessaire pour accumuler le grand nombre de données de base, les connaissances pluridisciplinaires pour étudier simultanément l'agent pathogène, la plante hôte et le vecteur. Avec les gémiviruses transmis par *B. tabaci* le travail d'épidémiologie est rendu plus délicat en raison de la transmission et de l'identification difficile de l'agent pathogène et des particularités du vecteur.

Notre étude de l'épidémiologie de la mosaïque du manioc (gémivirus transmis par *B. tabaci* et par voie végétative) a débuté en 1980. Une première synthèse des travaux est faite dans ce même volume (Fargette et al, 1985 I; 1985 II; 1985 III; Fauquet et al, 1985 I; 1985 II). Préciser certains points de méthodologie, décrire les difficultés rencontrées et les solutions adoptées pour les surmonter facilitera peut-être des travaux ultérieurs d'épidémiologie d'autres maladies virales transmises par aleurodes.

LES DIFFICULTES RENCONTREES

L'observation des symptômes : l'étude du développement de la maladie dans le temps et dans l'espace est basée sur l'observation des symptômes. Or des symptômes non spécifiques ou, au contraire, des infections sans

Fonds Documentaire ORSTOM
Cote : B* 10039



apparition de mosaïque, en particulier avec des infections tardives, peuvent introduire un biais dans les résultats, biais qu'il s'agit d'évaluer. (Thresh, 1983). Cette imprécision semble cependant limitée avec la mosaïque africaine du manioc (MAM), la très grande majorité (99% environ) des boutures issues de maniocs sains donnant des pieds sains et celles issues de plants malades donnant des pieds virosés. Cette étroite relation symptôme/infection a été vérifiée à plusieurs reprises avec la variété CB utilisée dans notre travail. L'apparition de la mosaïque, si elle traduit effectivement l'infection n'apporte d'informations sur la date de contamination que si la période de latence est déterminée. A partir des infections artificielles en serre et de l'étude des fluctuations décalées des pics de vecteurs et de maladie, elle semble être de l'ordre de 4 semaines pour les jeunes maniocs de un mois, et de six semaines pour les maniocs plus âgés.

Un outil plus sensible que la simple observation des symptômes pourrait peut-être permettre de suivre plus précisément le développement des épidémies. La transmission mécanique est difficile à réaliser et l'identification sur la gamme d'hôte non praticable. La microscopie électronique n'est pas envisageable en raison vraisemblablement d'une faible concentration et d'une distribution hétérogène du pathogène. La sérologie classique (double-diffusion) échoue probablement pour les mêmes raisons. Le test ELISA, malgré certaines limites exposées ci-dessous apporte des informations complémentaires dans certaines expériences mais ne peut-être appliqué au cours des relevés dans les parcelles en raison du grand nombre d'observations à réaliser (plusieurs centaines de milliers de feuilles à suivre à chaque relevé).

En fin de compte le développement de la maladie ne peut être suivi dans nos études que sur la base des symptômes. Cette approche est globalement satisfaisante malgré les réserves exposées - réserves qu'il faut considérer lors de l'interprétation des résultats - et a été largement utilisée dans notre travail (Fargette et al, 1985 I; 1985 II; 1985 III; Fauquet et al, 1985 I; 1985 II)

La détection de l'agent pathogène : les espèces spontanées sont fréquemment réservoirs de virus mais souvent n'extériorisent pas de symptômes (Duffus, 1971). La détection des sources d'infection parmi les plantes adventices ne peut donc se faire sur la seule observation des symptômes. Un test ELISA, de sensibilité moyenne (50 ng) en raison vraisemblablement du caractère faiblement immunogénique du virus, a été mis au point.

Certaines difficultés sont apparues : un inhibiteur de réaction ELISA contenu dans le jus de manioc interdit d'associer une densité optique à une teneur en virus. Une clarification au chloroforme des échantillons permet de lever en grande partie l'inhibition. Par ailleurs l'interprétation des résultats positifs doit être réservée lorsqu'ils ne sont

pas corroborés par d'autres méthodes. Des réactions positives peuvent être des artéfacts dus à la présence, dans certains extraits de plante de phosphatase alcaline, ou traduire la présence d'autres géminivirus sérologiquement proches (Roberts et al, 1984). Nous avons donc, dans nos expériences, pour éviter une interprétation erronée des résultats, mis à part les espèces où tous les échantillons donnaient des réactions positives et nous avons par ailleurs testé des plantes issues de graines (la transmission ne se fait pas par graine) et cultivées en serre "insect-proof" puis distingué les espèces qui réagissaient de celles qui ne réagissaient pas.

La confrontation des réactions observées en ELISA (fréquence et intensité des réactions positives) avec les autres résultats (symptômes, transmission mécanique, présence et taille des populations d'aleurodes, origine et distribution de l'espèce, gradients d'infection) a permis de recueillir des informations sur le rôle, comme source d'infection au champ, des différentes espèces spontanées (Fargette et al, 1985 III).

Le vecteur *Bemisia tabaci* : l'étude du vecteur présente plusieurs difficultés liées à l'identification de l'aleurode, à l'évaluation de la taille des populations et à l'estimation, à l'intérieur de celles-ci, de la proportion de mouches virulifères.

L'identification des aleurodes se fait exclusivement sur l'aspect de l'exuvie du 4^e stade larvaire du puparium (Mound, 1963) et en conséquence les captures d'aleurodes, dans les pièges jaunes par exemple, ne peuvent être dénombrées ni au niveau de l'espèce, ni même au niveau de la famille. Lors de l'identification par comptage direct sur la plante le problème se pose aussi. Cependant dans ce cas précis, on peut avoir une idée, à posteriori, des populations ayant transité sur la plante en identifiant les pupes présentes sur les feuilles. La très grande majorité des pupes observées était de l'espèce *B. tabaci*, associée parfois à une faible population de l'espèce voisine *B. hancocki*.

Le piège à eau jaune est un moyen commode et peu coûteux pour évaluer la densité des populations d'aleurodes mais l'attraction provoquée par la couleur jaune introduit un biais difficile à évaluer. Cependant cette approche offre l'avantage d'être un indicateur du nombre cumulé d'aleurodes et donc de faire ressortir des tendances qui n'apparaîtraient pas nécessairement par comptage direct sur les pieds si les différences sont faibles ou fugaces. A plusieurs reprises cependant, les résultats se rapportant à la répartition de l'aleurode dans la parcelle obtenus dans les pièges et par échantillonnage concordent (Fargette et al, 1985b I). Le piège à aspiration permet d'estimer sans biais la taille des populations de vecteur mais son coût en interdit l'utilisation en de nombreux exemplaires.

L'estimation du pourcentage d'insectes virulifères, lorsqu'il est faible, ne peut se faire en plaçant des nombres croissants d'aleurodes sur des plantes tests. Les résultats obtenus sont alors discontinus et non

exploitables. On adopte une procédure différente en déposant des nombres constants d'aleurodes. On en déduit le pourcentage p d'aleurodes par la formule de Gibbs et Gower (1960) $p = 1 - (1 - R/N)^{1/I}$ où N est le nombre de plantes tests utilisés, I le nombre d'aleurodes sur chaque plante et R le nombre de plantes tests qui deviennent infectées. La proportion d'aleurodes qui transmet la MAM est toujours très faible (Fargette et al, 1985 I) et ces résultats sont corroborés par des résultats obtenus sur le terrain, par la comparaison de la taille des populations d'aleurodes sur manioc et la contamination ultérieure.

METHODES D'ETUDES

La démarche adoptée pour aborder l'épidémiologie de la MAM est illustrée par le problème des sources d'infection : nous nous sommes intéressés à la nature, à la position des sources d'infection et la part respective des sources intérieures et extérieures à la parcelle (contaminations primaire et secondaire).

Localisation des sources d'infection : les études conduites à l'échelle de la plante (Fargette et al, 1985 III) suggèrent que le manioc cultivé *Manihot esculenta* est la source d'infection la plus importante.

L'étude des sources d'infection, à l'échelle de la parcelle et de la région ont confirmé le rôle majeur du manioc cultivé, le rôle limité des autres espèces végétales dont le manioc sauvage *M. glaziovii* et souligné l'importance des positions relatives vis à vis du vent des parcelles suivies et des réservoirs de virus. On a cherché à tirer parti, dans un premier temps, des particularités de l'environnement de certaines parcelles en suivant les gradients d'infection à partir de bosquets de *M. glaziovii* et de champs de manioc malades limitrophes. Cette approche est cependant limitée par le faible nombre de cas particuliers exploitables. Nous avons suivi parallèlement la recontamination de parcelles de manioc et la répartition de la maladie dans plusieurs sites écologiques et enregistré la distribution des captures d'aleurodes. Les caractéristiques de la répartition du vecteur et de la maladie (captures d'aleurodes plus importantes et incidence de la maladie plus élevée dans les bordures au vent) et l'aspect des gradients d'infection ainsi créés apportent des informations sur la position des sources d'infection (Thresh, 1976) et précisent qu'elles sont situées à une certaine distance au vent des parcelles étudiées (Fargette et al, 1985 II).

Contamination primaire/secondaire : le problème de la contamination primaire et secondaire a été abordé sous trois angles : en observant les gradients d'infection à partir des foyers de manioc malades, en étudiant la répartition de la maladie, et en suivant les cinétiques de contamination dans des parcelles avec des taux d'inoculum différents. Chacune des

approches apporte des informations mais présente des défauts. Les résultats ont donc été confrontés.

La dispersion de la maladie à partir des foyers indique que les maniocs malades à l'intérieur de la parcelle peuvent être sources d'infections mais n'éclaircit pas leur rôle sur le plan quantitatif.

La distribution des pieds malades peut aussi apporter des indications sur le développement de la maladie. Une contamination primaire se manifesterait plutôt par une dispersion aléatoire des pieds malades, une contamination secondaire par une propagation en foyers. Pour évaluer plus finement cette répartition on s'appuie sur le nombre de doublets de pieds malades adjacents. Une contamination secondaire sera caractérisée par un nombre de doublets supérieur au nombre calculé D dans le cas d'une répartition aléatoire par la formule de Vanderplank (1946) $D = X(X-1)/N$ où X est le nombre de pieds malades et N le nombre total de pieds. Or cette méthode, satisfaisante sur le plan théorique, très souvent citée dans les manuels, n'a pas abouti à des résultats probants dans nos expériences. Nous avons noté la position des pieds malades dans deux parcelles. Dans l'une nous avons recensé un nombre de doublets légèrement supérieur à D . Cependant nous ne savons pas si ce résultat est dû à la manifestation de la contamination secondaire ou si il est lié à la distribution hétérogène de la maladie, une distribution homogène étant indispensable pour l'utilisation du test. A l'inverse, dans une autre parcelle, l'existence de la contamination secondaire entre pieds adjacents était établie. Or le nombre de doublets n'était pas significativement supérieur à D . Ce résultat souligne l'absence d'informations relatives à la sensibilité de ce test.

Le manque de résultats probants obtenus par ces deux approches nous a conduit à développer une expérience particulière dans laquelle la recontamination de parcelles avec des taux d'inoculum différents était suivie. Dans certaines parcelles les pieds malades sont retirés, dans d'autres ils sont maintenus et dans d'autres encore un inoculum de 4 pieds est placé (Fargette et al, 1985 II). Le dispositif expérimental retenu devait intégrer des exigences contradictoires : répéter et randomiser les traitements pour que les résultats soient valables sur le plan statistique et limiter l'erreur cryptique (Vanderplank, 1946) entre blocs ayant des taux d'inoculum différents et donc séparer les parcelles à fort taux d'inoculum de celles à faible taux. Cette exigence est opposée à la précédente et le dispositif expérimental adopté est nécessairement hybride (Fargette et al, 1985 II). La méthode retenue pour maintenir et éliminer les sources est entachée d'une imprécision. L'élimination hebdomadaire des pieds sur la base des symptômes n'exclut pas que certains pieds puissent être réservoirs de virus avant l'apparition des symptômes. L'importance de cette erreur semble limitée, les résultats des tests ELISA ayant indiqué une bonne relation symptôme/présence du virus. Cependant il faut convenir que dans les parcelles, aux sources observables s'ajoutent des sources "cryptiques" dont l'effet est toutefois

marginal. Cette approche confirme et précise des résultats suggérés par l'observation des gradients d'infection et la répartition de la maladie et indique, avec un degré de certitude élevé, que la contamination primaire est prédominante et que si la contamination secondaire varie d'un mois à l'autre elle reste toujours limitée (Fargette et al, 1985 II).

Les essais multiloceaux conduits dans différentes régions précisent que l'intensité de la réaction n'est fonction, ni de la taille des populations d'aleurodes, ni du mode de croissance et confirment, à l'échelle de la région le rôle essentiel dans la contamination de parcelles des surfaces de manioc au vent (Fauquet et al, 1985 I).

CONCLUSION

Ce travail d'épidémiologie est caractérisé par l'étude simultanée des populations de plantes hôtes, de virus et de vecteurs. Ces résultats sont établis, dans leur très grande majorité à partir d'observations de "base" (présence ou absence de symptômes, nombre de vecteurs, position des pieds malades). Les travaux ont été conduits à l'échelle de la plante, de la parcelle, du site et de la région et répétés plusieurs années de suite. Les parcelles sont toujours de grandes tailles (1 ha environ) ce qui s'est révélé indispensable pour faire apparaître les gradients d'infection. Nous avons choisi de rester le plus possible "au champ" et d'étudier les phénomènes sur le terrain. La croissance d'un manioc en pot dans une serre est si différente de celle d'un manioc "en champ" que les résultats obtenus avec la première approche doivent être interprétés avec prudence. Dans la plupart des cas lorsque l'approche "en laboratoire" était inévitable (période de latence, pouvoir virulifère) nous avons cherché à confronter les résultats obtenus avec des observations, mêmes grossières obtenus sur le terrain. Au cours de notre travail nous nous sommes efforcés, dans la mesure du possible, d'étudier un problème (les sources d'infection dans l'exemple retenu) sous différents aspects, à différentes échelles, avec différents outils et de confronter les résultats obtenus.

A l'évidence le développement de l'épidémie dépend des sources de virus et des mouvements de l'insecte. Un outil sérologique plus sensible (anticorps monoclonaux, par exemple) permettrait peut-être d'affiner les résultats concernant les réservoirs et distinguer différentes souches de virus. Une étude entomologique propre s'intéressant à la biologie et à l'éthologie de l'aleurode permettrait de mieux cerner les conséquences épidémiologiques des fluctuations de populations et des mouvements du vecteur.

BIBLIOGRAPHIE

DUFFUS J. E., 1971. Role of weeds in the incidence of virus diseases. A. Rev. Phytopath. 9, 319 - 340.

FARGETTE D., FAUQUET C., THOUVENEL J-C., 1985 I. Epidémiologie de la mosaïque africaine du manioc : développement de la maladie dans l'espace. Proc 28^e Colloq S.F.P. Versailles. France 14-15 mai 1985.

FARGETTE D., FAUQUET C., LAVILLE J., THOUVENEL J-C., 1985 II. Epidémiologie de la mosaïque africaine du manioc: 1) contamination primaire/secondaire. 2) développement de la maladie dans le temps. Proc 28^e Colloq S.F.P. Versailles. France 14-15 mai 1985.

FARGETTE D., FAUQUET C., RAVEN P., LAVILLE J., THOUVENEL J-C., 1985 III. Epidémiologie de la mosaïque africaine du manioc : 1) Ecologie. 2) Les sources d'infection. Proc 28^e Colloq S.F.P. Versailles. France 14-15 mai 1985.

FAUQUET C., FARGETTE D., LAVILLE J., THOUVENEL J-C., 1985 I. Epidémiologie de la mosaïque africaine du manioc : essai multilocal. 28^e Colloque de la Société Française de Phytopathologie (ce volume).

FAUQUET C., FARGETTE D., DESJARDIN, J., COLON L., RAVEN P., THOUVENEL J-C., 1985 II. Etude des composantes de la résistance du manioc à la mosaïque africaine. Proc 28^e Colloq S.F.P. Versailles. France 14-15 mai 1985.

GIBBS R. J., et GOWER J. C. 1960. The use of a multiple transfer method in plant virus transmission studies. Some statistical points arising in the analysis of results. Ann. appl. Biol. 48, 75-83.

MOUND L. A., 1963. Host correlated variation in *Bemisia tabaci* (Genn) (Homoptera, Aleyrodidae). Proc. R. ent. Soc. London 38, 171-180.

ROBERTS I. M., ROBINSON D. J., HARRISON B. D., 1984. Serological relationships and genome homologies among geminiviruses. J. Gen. Virol 65, 1723-1730.

VAN DER PLANK J. E., 1946. A method for estimating the number of random groups of adjacent diseased plants in a homogenous field. Trans. R. Soc. S. Afr 31, 269-278.

VAN DER PLANK J. E., 1963. Plant diseases epidemics and control. Academic Press, 349 pp.

DENIS FARGETTE
LABORATOIRE DE VIROLOGIE
ORSTOM - B.P. V51
ABIDJAN - CÔTE D'IVOIRE

28^e Colloque

de la

Société Française
de Phytopathologie

organisé par

Claudine LAMARQUE

sur

L'ÉPIDÉMIOLOGIE

(Résumés des Communications et Posters)

14 et 15 mai 1985

Versailles

Centre National
de Recherches Agronomiques
