

Diagnostic d'infection à geminivirus à l'aide

1. Introduction

Le manioc, plante pérenne originaire d'Amérique du Sud, a été introduit par les Portugais en Afrique vers la fin du 16^e siècle. C'est la première grande culture vivrière dans de nombreux pays d'Afrique ; dans les autres, il suit immédiatement le sorgho, l'igname ou le riz. Il s'agit d'une plante rustique qui se reproduit par bouturage et donne au bout de 12 mois un faisceau d'énormes tubercules pesant chacun en moyenne 3 kg. Le grand avantage de cette culture est que les tubercules peuvent n'être récoltés qu'au bout de 18 à 24 mois, mettant ainsi à l'abri des dures périodes de soudure que connaissent bien les populations qui se consacrent à cette culture.



avec des cellules myéломateuses PAI [STOCKER *et al.*, 1982]. Le milieu de culture des hybridomes est additionné de macrophages ; la sélection a été faite par dilution limite en phase liquide, par deux sous-clonages successifs. La présence d'AcMc dans les surnageants de culture a été testée simultanément par des tests ACP (Antigen Coated Plate) et DAS (Double Antibody Sandwich) ELISA. En ACP-ELISA, le virus purifié est directement fixé au polystyrène des plaques de microtitration et constitue donc la première couche du test, tandis qu'en DAS-ELISA, le virus est capté par des immunoglobulines G (IgG) de lapin, spécifiques de l'ACMV. Dans les deux cas, l'antigène est ensuite reconnu par un AcMc spécifique, lui-même mis en évidence à l'aide d'un anticorps anti-IgG de souris, conjugué à la phosphatase alcaline. Les hybridomes stables sélectionnés ont été reproduits en liquides d'ascites de souris.

Les tests de reconnaissance d'isolats et de souches de l'ACMV, ainsi que d'autres geminivirus, ont été réalisés à partir d'extraits bruts de plantes virosées.

3. Résultats et conclusions

Tous les isolats de l'ACMV de la collection de l'ORSTOM de Côte-d'Ivoire, ainsi que de celle de l'INRA à Colmar (isolats originaires de Côte-d'Ivoire, du Kenya, de République Centrafricaine, du Togo, du Zaïre, de Madagascar et de l'Inde), sont reconnus par les AcMc développés à l'IBMC de Strasbourg. Les réactions non spécifiques liées à l'extrait brut de plante saine (bruit de fond) sont toujours très faibles.

Nous avons testé, en parallèle, la réactivité des AcMc de l'IBMC et du SCRI, à l'égard de plusieurs geminivirus originaires de différents pays (Tableau I). Comme l'AcMc 20 du SCRI, les AcMc de la série 11 de l'IBMC reconnaissent tous les geminivirus testés, quelles que soient leurs origines géographiques ; ils sont donc dirigés contre un site antigénique commun à ces différents geminivirus. Par contre, l'AcMc 7x1 ne reconnaît que les virus africains, il se rapproche de l'AcMc 17 du SCRI.

Une première application de la reconnaissance de geminivirus sérérologues à l'aide des AcMc anti-ACMV de l'IBMC, a été réalisée en

Tableau I. Comparaison de la réactivité des anticorps monoclonaux (AcMc) dirigés contre l'ACMV à l'égard de geminivirus d'origines diverses. Réactivité de monoclonal antibodies (AcMc) raised against ACMV towards geminiviruses from different origins.

SÉRIE (1)	ANTICORPS MONOCLONAUX (2)							23	20	18	17	14	11x9	11x6	11x4	11x3	7x1	
	7x1	11x3	11x4	11x6	11x9	11x9	11x6											
1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

4 = Tomato Yellow Leaf Curl du Sénégal.

5 = Tomato Yellow Leaf Curl de l'Inde.

6 = Okra Leaf Curl, isolat Côte-d'Ivoire.

7 = Euphorbia Mosaic Virus, Amérique.

8 = Tomato Yellow Leaf Curl du Sénégal.

9 = Tomato Yellow Leaf Curl de l'Inde.

10 = Okra Leaf Curl, isolat Côte-d'Ivoire.

11 = Euphorbia Mosaic Virus, Amérique.

12 = Tomato Yellow Leaf Curl du Sénégal.

13 = Tomato Yellow Leaf Curl de l'Inde.

14 = Okra Leaf Curl, isolat Côte-d'Ivoire.

15 = Euphorbia Mosaic Virus, Amérique.

16 = Tomato Yellow Leaf Curl du Sénégal.

17 = Tomato Yellow Leaf Curl de l'Inde.

18 = Okra Leaf Curl, isolat Côte-d'Ivoire.

19 = Euphorbia Mosaic Virus, Amérique.

20 = Tomato Yellow Leaf Curl du Sénégal.

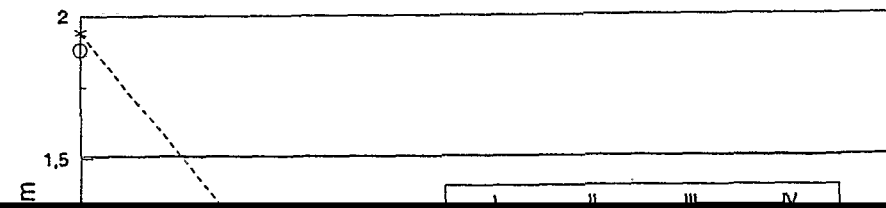
21 = Tomato Yellow Leaf Curl de l'Inde.

22 = Okra Leaf Curl, isolat Côte-d'Ivoire.

23 = Euphorbia Mosaic Virus, Amérique.

Nigeria et de Sicile. Comme le montre la figure 1, pour la détection du TYLCV (virus hétérologue) à l'aide d'AcMc de l'ACMV, il est cependant nécessaire de remplacer le tampon conventionnel de broyage des échantillons (PBS-Tween + PVP) par un tampon Tris-HCl contenant un agent réducteur.

Enfin, nous avons mis au point pour l'ACMV et le TYLCV (Sénégal) un test DAS-ELISA utilisant deux anticorps monoclonaux, ce qui nous permet de nous libérer de la limite quantitative liée à l'utilisation



Bibliographie

BOCK K.R., GUTHRIE E.J. [1978]. Transmission of African cassava mosaic by mechanical inoculation. *Plant Dis. Rep.* 62, 580-581.

FARCETTE D., THOUVENEL J.C., FAHOUEF C. [1987]. Viriic content of leaves of