

LES VIROSES DE L'IGNAME EN CÔTE D'IVOIRE

par

J-C. THOUVENEL et C. FAUQUET

Centre ORSTOM d'Adiopodoumé
B.P. V51
ABIDJAN, Côte d'Ivoire

RAPPORT SUR LES RECHERCHES EFFECTUÉES AU LABORATOIRE
DE VIROLOGIE DES PLANTES DE 1979 À 1982

Fonds Documentaire ORSTOM



010010742

Fonds Documentaire ORSTOM

Cote: B*10742 Ex: 1

1982

La culture de l'Igname a toujours tenu une bonne place en Côte d'Ivoire, comme d'ailleurs dans toute l'Afrique de l'Ouest. Parmi les différentes atteintes pathologiques, les maladies causées par virus ont particulièrement été rapportées pour cette plante ; aussi, le laboratoire de Virologie de l'ORSTOM, dans le cadre de l'inventaire des viroses des plantes cultivées, a été amené à prospecter les diverses zones où se cultive l'Igname en Côte d'Ivoire.

En 1957, MIEGE avait signalé la présence d'une maladie causée par un virus en Côte d'Ivoire, mais déjà en 1938 WEST au Nigeria, en 1956 DEIGHTON en Sierra Leone ainsi que ... GIRARDOT au Liberia avaient rapporté l'existence de viroses sur igname. Après quelques années où les recherches ont peu avancé, probablement en raison des difficultés rencontrées avec ce matériel végétal, l'étude de ces maladies a été reprise et plusieurs virus ont été identifiés en Afrique et dans d'autres parties du monde (HARRISON & ROBERTS, 1973 ; WATERWORTH et *al.*, 1974 ; MIGLIORI & CADILHAC, 1976 ; THOUVENEL & FAUQUET, 1977 ; MARCHOUX et *al.*, 1979 ; MOHAMED & TERRY, 1979).

En Côte d'Ivoire, la diversité des symptômes rencontrés laissait supposer la présence de nombreuses maladies, en fait les essais de transmission et l'identification de l'agent causal de la principale maladie ont montré que à de rares exceptions près, on se trouvait en présence d'un seul responsable, un virus non encore décrit appartenant au groupe des Potyvirus. De ce fait, nous parlerons surtout de l'agent de cette maladie, principalement caractérisée par une mosaïque des feuilles.

- Mosaïque de l'Igname

C'est la principale virose rencontrée en Côte d'Ivoire. L'agent causal, un nouveau virus appartenant au groupe des Potyvirus, a été décrit par ailleurs (THOUVENEL & FAUQUET, 1977, 1979). Nous résumerons ici ses propriétés, en y ajoutant les derniers résultats obtenus.

La mosaïque constitue un problème majeur justifiant l'étude approfondie qui en a été faite. Assez rare dans le nord du pays (où les maladies sont en général plus rares du fait du climat), elle peut atteindre certains champs à 100% dans la région forestière.

Les symptômes sont très variables en fonction des cultivars et suivant l'état physiologique de la plante. Ils sont parfois presque imperceptibles, se réduisant à de légères chloroses sur certaines feuilles ; à d'autres moments ils sont très violents, déformant la feuille par des cloques et des boursouflures ; il est parfois possible d'observer une moucheture ou des ponctuations régulières, ou encore un liseré des nervures qui ressemble beaucoup au "vein-banding" signalé par TERRY au Nigeria (1976). Sur un même plant les symptômes

peuvent varier considérablement d'une feuille à l'autre. Les plants obtenus à partir de graines et inoculés très jeunes présentent en général les symptômes les plus forts.

Le virus a été transmis mécaniquement à des Dioscoreaceae : *Dioscorea alata*, *D. burkilliana*, *D. cayenensis*, *D. dumetorum*, *D. liebrechtsiana*, *D. praehensilis*, *D. preusii*, *D. schimperiana*, *D. smilacifolia* et *D. trifida*. Il a également été transmis de la même manière à une Solanacée : *Nicotiana benthamiana*. Il n'a pas pu être transmis mécaniquement à *D. bulbifera*, *D. composita* et *D. florbunda*.

La Mosaïque se transmet par le tubercule ; par contre, à ce jour, les essais effectués avec plusieurs milliers de graines provenant de pieds malades n'ont pas permis de mettre en évidence une transmission par la graine.

Les propriétés biologiques ont été déterminées : le point de dilution limite est de 10^{-2} à 10^{-3} , le point de thermoinactivation est entre 55 et 60°C. L'extrait brut perd très vite son infectivité à 25°C, mais il la conserve plus de 40 j à 4°C plus de 5 mois à 30°C.

Détermination du vecteur

Des essais de transmission ont été effectués avec plusieurs espèces d'insectes, en particulier avec ceux trouvés le plus fréquemment sur igname. Ils ont été négatifs à l'exception des essais effectués par puceron. Le tableau ci-dessous résume les résultats.

Tableau 1 : Résultats des tests de transmission du virus de la Mosaïque de l'Igname par aphides, toutes les expériences sont effectuées avec 10 pucerons par plante.

Espèce de puceron	Temps du repas d'acquisition	Temps du repas d'inoculation	Nombre de plantes inoculées	Nombre de plantes malades
<i>Aphis gossypii</i>	5 mn	...	30	10
<i>Aphis gossypii</i>	5 mn	15 mn	20	7
<i>Aphis gossypii</i>	15 mn	...	10	6
<i>Aphis gossypii</i>	1 h	...	20	11
<i>Aphis gossypii</i>	24 h	...	12	4
<i>Toxoptera citricidus</i>	15 mn	...	30	21
<i>Rhopalosiphum maidis</i>	15 mn	...	20	1
<i>Aphis craccivora</i>	5 mn	...	24	3

De ce tableau nous pouvons conclure que le virus de la Mosaïque de l'Igname est transmis sur le mode non-persistant par les principaux pucerons présents en Côte d'Ivoire. Il faut ajouter cependant que nous n'avons pas trouvé de colonies de pucerons sur igname, et que nous n'avons pas pu y en faire survivre au-delà de 48 heures.

Essais de thermothérapie *in vitro*

L'étude des propriétés biologiques ayant montré que le point de thermo-inactivation du virus dans le jus brut d'igname est situé entre 55 et 60°C, des essais de thermothérapie ont été entrepris sur des tubercules provenant de pieds malades, les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2 : Résultats des essais de traitement par la chaleur de tubercules provenant de pieds malades ou supposés malades

Temps et température de traitement	Nombre de tubercules plantés	Nombre de tubercules germés %	Nombre de plantes malades	% de plantes malades
Témoin	35	88,6	24	77,4
15 mn à 45°	27	70,4	14	73,7
30 mn à 45°	30	60,0	15	83,3
15 mn à 50°	54	55,6	18	60,0
30 mn à 50°	51	44,1	18	75,0
45 mn à 50°	36	16,7	18	66,7

Il ressort de ces résultats que le traitement par la température du tubercule est sans effet sur la maladie. Des temps de traitement plus long à ces températures ont entraîné une perte du pouvoir germinatif et un pourrissement rapide des tubercules. La thermothérapie n'est donc pas envisageable dans le cas de cette maladie pour produire des tubercules indemnes.

Purification du virus

La purification du virus à partir des feuilles d'igname est rendue difficile par la présence de substances mucilagineuses ; elle a pu cependant être menée à bien, dernièrement, par une série de centrifugations différentielles après une clarification au chloroforme, suivie d'un passage sur gradient de saccharose. L'observation en microscopie du virus purifié a montré un virus filamenteux de 13 nm de diamètre et de 785 ± 15 nm de long. Le point iso-électrique du virus purifié est de pH $4,3 \pm 0,3$; le poids moléculaire de la protéine de la coque est de 34 000 d.

Un antisérum a été préparé en injectant le virus purifié à des lapins, le titre homologue est de 1/2 048. Comparé aux virus trouvés en Côte d'Ivoire, le virus de la Mosaïque de l'Ignome s'est révélé apparenté au virus de la Mosaïque du *Panicum* (THOUVENEL et al., 1976) et au virus des tâches ocellées de l'arachide (DUBERN & DOLLET, 1978) qui appartiennent tous deux aux Potyvirus. Ce virus qui ne ressemble par ailleurs à aucun autre virus décrit sur ignome est donc un nouveau virus appartenant au groupe des Potyvirus.

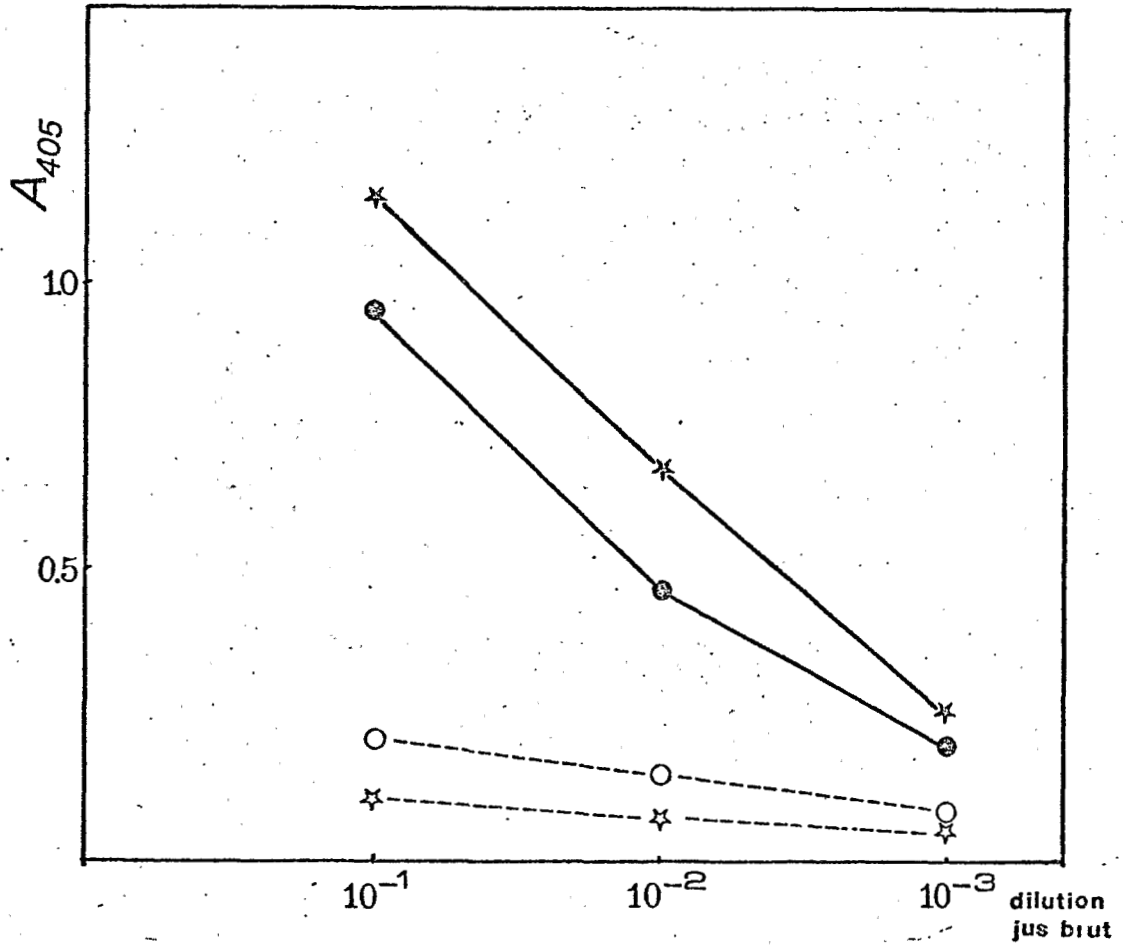
Mise au point d'un test sérologique de routine pour l'indexation des plants d'ignome

La méthode de micro-précipitation sous huile de paraffine utilisée pour les tests sérologiques n'est efficace qu'en utilisant du virus purifié, ou un extrait brut bien clarifié au chloroforme, et concentré par une centrifugation. Dans le but de mettre au point une méthode rapide d'indexage des plants d'ignome dans les différentes collections de Côte d'Ivoire, nous avons essayé la méthode ELISA. Cette méthode en couplant un enzyme aux anticorps du sérum augmente la sensibilité du test et permet également d'effectuer les tests sérologiques directement sur le jus brut dans certains cas.

Les globuline anti-Virus Mosaïque de l'Ignome ont été préparées à partir d'un antisérum de titre 1/1 024, avec une réaction contre les protéines normales de l'Ignome inférieure à 1/8. Une partie de ces globulines a été conjuguée à de la phosphatase alcaline (type VII, Sigma Chem. Co.) d'après la méthode de CLARK & ADAMS (1977). Les tests ELISA ont été effectués d'après la méthode des anticorps doubles (appelée aussi technique du "sandwich"), dans des plaques "Microelisa" en plastique spécial (Dynatech Laboratories).

Les études préliminaires nous ont conduit à adopter une préouverture (coating) des plaques avec une concentration de 10 µg/ml de globulines, et à utiliser pour les tests de routine le conjugué à une dilution de 1:500. Dans ces conditions il ne se produit aucune réaction spécifique avec les extraits de plantes saines. La figure suivante donne les valeurs obtenues au spectrophotomètre avec différentes dilutions obtenues à partir de plantes malades et de plantes saines. Il est possible de détecter le virus à une dilution de 10⁻³ mais on arrive alors à la limite de perception, aussi les tests de routine ont-ils été effectués avec des extraits bruts dilués 10 fois et 50 fois dans un tampon d'extraction phosphate-NaCl (tampon PBS), pH 7,4 contenant 0,05 % de Tween-20, 2 % de polyvinyl pyrrolidone et 0,2 % d'albumine d'oeuf.

La figure 1 donne les valeurs obtenues au spectrophotomètre avec des dilutions variant de 10⁻¹ à 10⁻³ provenant de plantes malades et de plantes saines. Pour l'Ignome, il est possible de détecter le virus de façon significative jusqu'à une dilution de 10⁻³, la valeur obtenue avec l'extrait de plante malade est encore double de celle obtenue avec l'extrait de plante sain.



Détection du Virus de la Mosaïque de l'Ignome par la méthode ELISA. Absorption à 405 nm des échantillons obtenus à partir de différentes dilutions du jus brut dans le tampon PBS-Tween de *Dioscorea cayenensis* malade (●—●) et de *Nicotiana benthamiana* malade (*—*) - Précoating 10 μ /ml, dilution du conjugué 1:200 - ; les témoins respectifs à partir de plantes saines sont figurés en pointillé.

Figure 1

Les valeurs obtenues avec l'extrait de *Nicotiana benthamiana* infecté par la Mosaïque de l'Igname sont plus différenciées. Cela est dû à la concentration plus forte du virus dans le plant de tabac, et à l'absence des protéines normales spécifiques de l'Igname dans l'extrait de tabac sain.

A la suite de ces expériences, nous avons commencé à tester différents cultivars dans les collections de la Côte d'Ivoire. Les tests ont été effectués avec un extrait brut de la plante à tester dilué 10 fois et 50 fois. Les résultats obtenus sont exposés dans les tableaux I et II.

Le tableau I donne le résultat du test sur 29 cultivars de *D. cayenensis*; à l'exception des cultivars Tami et Sepela ils sont tous malades.

Le tableau II donne le résultat pour 17 cultivars de *D. alata*. La majorité est malade à l'exception des cultivars Binagos, Florido, Nza Seguela, Smooth Statia et Yro.

Les cultivars reconnus comme indemnes de Mosaïque ne présentaient évidemment pas de symptômes; par contre, de nombreux autres qui ne présentaient pas de symptômes lors de l'observation en champs, se sont révélés malades à l'analyse, particulièrement chez *D. alata*.

Les tests ont été également effectués sur des cultivars de *D. bulbifera*, *D. dumetorum*, *D. esculenta* et *D. trifida* qui présentaient de légers symptômes de maladie. Ils ont été positifs. Il faut noter que lors des tests par inoculation *D. bulbifera* semblait résister à la Mosaïque (THOUVENEL et FAUQUET, 1979), nous voyons maintenant que certains cultivars de *D. bulbifera* sont susceptibles.

Les avantages de cette méthode dans l'indexage de l'Igname sont multiples.

Ce test est utilisable sur un extrait brut de la plante, il est inutile de procéder à une clarification de l'extrait.

Ce test est très sensible (significatif jusqu'à une dilution de 10^{-3} de l'extrait). Il n'est donc pas nécessaire de procéder à une concentration préalable de l'échantillon.

Ce test est rapide, les résultats sont obtenus dans les 24 heures.

Il est donc maintenant possible de tester rapidement un grand nombre de plantes par cette méthode; ceci peut être utilisé pour déterminer avec certitude les plants sains avant de récolter les tubercules destinés à servir de semence. Il devient également possible de reconnaître avec sûreté les cultivars résistants à la maladie; cette information aidera les généticiens dans les programmes de sélection.

Contrôle sérologique par la méthode ELISA de différents cultivars de Dioscorea cayenensis provenant des collections de l'ENSA et de l'ORSTOM en Côte d'Ivoire.

Cultivar	Origine E= ENSA O= ORSTOM	Symptômes présents	Test ELISA
A 10	O	+	+
DAZOPLE	E	+	+
DEZOPLE	E	-	+
GBANGNAN	O	+	+
GNINGNOUGOU	E	+	+
GOROGODO	O	+	+
KANGBA	O	+	+
KEPEPALA	E	-	+
KINGUILIN	E	+	+
KINGUINLE	E	+	+
KOFFI orig. SINKHA	O	+	+
KOTTO	O	+	+
KPAN	O	+	+
KPONA	O	-	+
KRENGLE	O	+	+
KRENGLE JAUNE	O	+	+
LOKOBRE	O	+	+
LOKPA	O	+	+
MAPAN	E	-	+
MAPAN	E	+	+
SAVIE	E	-	+
SAVIE	O	+	+
SEPELA	O	-	-
SIARA	E	+	+
SP DOUCE	O	+	+
TAMI	O	-	-
TANGAMMOUROUGA	O	+	+
TELELA	O	+	+
WABORO	E	+	+

Tableau I

Contrôle sérologique par la méthode ELISA de différents cultivars de Dioscorea alata provenant des collections de l'ENSA et de l'ORSTOM en Côte d'Ivoire.

Cultivar	Origine E= ENSA O= ORSTOM	Symptômes présents	Test ELISA
BETE BETE	O	+	+
BINOGOS	E	-	-
BRAZO FUERTE	O	-	+
DOUOBLE	O	-	+
DOUOBLE feuilles violettes	O	+	+
FLORIDO	E	-	-
KINAMPAY	O	+	+
N'DJUE KOUDOU	O	-	+
NZA ROSE	O	+	+
NZA SEGUELA	E	-	-
NZA SP	O	+	+
NZA YASSOI	O	-	+
N'ZIOUA	O	+	+
SEA 20	O	+	+
SMOOTH STATIA	O	-	-
WHITE LISBON	O	+	+
YRO	E	-	-

Tableau II

Recherche des inclusions dans les cellules de plants d'Igname virosés

Les coupes ultrafines du matériel virosé inclus dans la résine et observées au microscope électronique ont révélé la présence de deux grands types d'inclusions à savoir :

- 1) Des "roues" ou "soleils" composés d'un certain nombre de "bras" issus d'un noyau central et divergeant avec une certaine courbure vers la périphérie. Ce sont les "pinwheels" de la littérature anglo-saxonne.
- 2) Des inclusions à structure laminaire se présentant comme des empilements de fibres.

Ces inclusions sont semblables à celles décrites par EDWARDSON (1966) à propos des virus du groupe des Potyvirus et confirment bien l'appartenance de la Mosaïque de l'Igname à ce groupe de virus.

Viroses autres que la Mosaïque, rencontrées sur Igname en Côte d'Ivoire

- Virus de la Mosaïque du Concombre

L'impact de cette virose est faible, on rencontre peu de plantes malades et les symptômes sont pratiquement imperceptibles excepté chez les plantes déficientes. Les symptômes sont généralement un "vein-greening" qui fait apparaître les nervures vert-foncé.

Cette maladie a été trouvée lors des indexages systématiques des différents clones figurant dans les collections de Côte d'Ivoire sur *N. benthamiana*. Les symptômes apparus alors ne correspondaient pas à ceux de la Mosaïque de l'Igname. La gamme d'hôtes établie par transmission mécanique, ainsi que l'étude des propriétés biologiques a montré que l'on se trouvait en présence d'une souche de la Mosaïque du Concombre. Les tests sérologiques ont été faits par la méthode de double diffusion, en gel d'agarose dans l'eau. Une réaction spécifique a été obtenue à partir du jus brut de l'Igname avec un antisérum préparé contre une souche commune du Virus de la Mosaïque du Concombre. Des expériences de transmission ont été effectuées en utilisant le puceron *Aphis spirichola* comme vecteur ; ce virus a été transmis d'igname à igname et de tabac à igname à un fiable taux (5 ignames malades/36 plantes en utilisant 10 pucerons par plante). La transmission se fait sur le mode non persistant.

- Enroulement de l'Igname (Leaf-curl)

Cette virose trouvée dans la région de N'Douci sur *Dioscorea cayenensis* est en cours d'étude, l'agent causal est encore non identifié. Les pieds malades présentent un enroulement des feuilles

qui par ailleurs s'épaississent et prennent une teinte plus claire. Les bords se gaufrant donnant à la feuille une certaine ressemblance avec un coquillage. Cette maladie se transmet mécaniquement à *D. cayenensis*, les symptômes sur les plantules inoculées apparaissent en cinq à sept jours, d'abord une chlorose internervaire, puis la feuille prend une forme de cuillère ainsi qu'une teinte vert-jaunâtre uniforme. La croissance de la plante est très ralentie. Les essais de transmission par différents insectes ont montré que les aphides étaient vecteurs sur le mode non-persistant.

- Feuilles en lacets de l'Igname (Shoe-string)

Observée en Côte d'Ivoire uniquement dans la région de Bouaké avec des symptômes très caractéristiques, cette maladie encore non identifiée est probablement identique à celle décrite au Nigera (TERRY, 1976). Cette appellation lui a été donnée en raison de l'aspect très particulier que prennent les feuilles, le limbe disparaît presque entièrement, la feuille se vrille sur elle-même. On assiste à une prolifération des bourgeons axillaires donnant un aspect buissonnant à la plante. Cette maladie se transmet par le tubercule, mais nous n'avons pas encore réussi à la transmettre mécaniquement. De plus, des tubercules malades plantés en région côtière (sud de la Côte d'Ivoire) ont donné naissance à des plantes présentant des symptômes très atténués, proches de ceux dus à la Mosaïque de l'Igname ; il n'est donc pas à exclure que les symptômes violents observés en certaines occasions soient les conséquences d'une localisation dans une zone climatique plus sèche. Cette maladie ne doit pas être confondue avec les "balais de sorcière" parfois observables sur les ignames de Côte d'Ivoire dans des conditions de fortes pluviosités, ceux-ci sont causés par un champignon : *Bagnisiopsis dioscoreae*.

- Chlorose de *D. alata* et *D. esculenta*

Ces symptômes particulièrement observables sur les plants de *D. esculenta* semblent causés par une virose transmise par le tubercule ; toutefois les essais de transmission mécanique ont échoué. L'agent causal semble être différent de celui responsable de la Mosaïque. En raison de la fréquence avec laquelle on trouve ces symptômes en champ, les recherches se poursuivent activement. Le vecteur de cette maladie est inconnu.

- Fasciation

Ce type de symptôme est très spectaculaire. La tige s'aplatit et grandit en prenant la forme d'un éventail ou d'un ruban. Cette maladie est apparue pour la première fois en 1978 sur un clône introduit du Bénin à Bouaké. C'est le seul endroit où il a été observé. En 1980 ces symptômes sont réapparus sur certains plants de 3 clônes de *D. cayenensis* également originaires du Bénin. Une attention toute particulière est prêtée à cette maladie dont l'agent est inconnu afin d'éviter qu'elle ne se propage en Côte d'Ivoire.

Conclusion

Cette étude a permis l'identification de la principale virose existant sur les cultures d'Ignames en Côte d'Ivoire et la mise en évidence des différents modes de transmission.

La difficulté rencontrée pour l'indexation des plants d'Ignames a été surmontée en utilisant la méthode "ELISA", cette méthode rapide basée sur la sérologie a permis de commencer un contrôle des plants existant dans les collections de Côte d'Ivoire, ce contrôle se continue actuellement.

REFERENCES

- CLARK, M.F. & A.N. ADAMS, (1977) - Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of plant viruses. *J. gen. Virol.*, 34, 475-483.
- DEIGHTON, F.C. (1956) - Diseases of cultivated and other economic plants in Sierra Leone. 52.3 Govt Printer.
- DUBERN, J. & M. DOLLET, (1978) - Observation d'une nouvelle maladie à virus en Côte d'Ivoire : la maladie des taches ocellées de l'arachide. *Oléagineux*, 33 (4) : 175-177.
- EDWARDSON, J.R. (1966) - Election microscopy of cytoplasmic inclusions in cells infected with rod-shaped viruses. *Amer. J. Bot.* 53, 4, 359-364.
- GIRARDOT, L.V., (1956) - Planting and fertilization experiments with yams. Note 9 cent. agric. Exp. Sta. Sualako. Liberia.
- HARRISON, B.D. & I.M. ROBERTS, (1973) - Association of virus-like particle with internal brown spot of yam (*Dioscorea alata*). *Trop. Agric. (Trinidad)* vol. 50 (4) : 355-340.
- MARCHOUX, G., Sylvianne EDWIGE & A. MIGLIORI (1979) - Sur quelques propriétés biologiques du virus de la Mosaïque de l'igname, *Dioscorea* sp. isolé en Guadeloupe. *Ann. Phytopathol.*, 11, 59-62.
- MIEGE, J. (1957) - Influence de quelques caractères des tubercules semences sur la levée et le rendement des ignames cultivées. *J. Agric. Trop. et de Bot. Appl.* IV (7-8) : 315-342.
- MIGLIORI A. & Brigitte CADILHAC, (1976) - Contribution à l'étude de la maladie à virus de l'igname *Dioscorea trifida* en Guadeloupe. *Ann. Phytopathol.*, 8 (1) : 73-78.
- MOHAMED, N.A. & E.R. TERRY (1979) - Virus-like particles and cytoplasmic inclusions associated with diseased *Dioscorea rotundata* Poir from Nigeria. *Trop. Agric. (Trinidad)*, 56 175-179.
- TERRY, E.R. (1976) - "Incidence, symptomatology and transmission of a *Dioscorea* spp. virus in Nigeria". *Proc. 4th Symp. Int. Soc. Trop. Root Crops*, pp. 170-173.
- THOUVENEL, J.C. & C. FAUQUET, (1977) - Une mosaïque de l'igname (*Dioscorea cayenensis*) causée par un virus filamenteux en Côte d'Ivoire. *C.R. Acad. Sc. Paris*, t. 284, ser. D, 1947-1949.
- THOUVENEL, J.C. & C. FAUQUET, (1979) - Yam mosaic, a new potyvirus infecting *Dioscorea cayenensis* in the Ivory Coast. *Ann. Appl. Biol.*, 93, 279-283.

THOUVENEL, J.C., L. GIVORD & P. PFEIFFER, (1976) - Guinea-Grass Mosaic Virus, a new member of the Potato Virus Y group. *Phytopathology*, 66 (8): 954-957.

WEST, J., (1938) - A preliminary list of plant diseases in Nigeria. *Kew Bull.* n° 1, 3.

WATERWORTH, H.E., R.M. LAWSON & R.P. KAHN, (1974) - Purification, Electron microscopy and serology of *Dioscorea* latent virus. *J. of Agric. Univ. Puerto-Rico* LVII, n° 3 : 351-357.