

LES MALADIES DES PLANTES TRANSMISES PAR ALEURODES
EN AFRIQUE DE L'OUEST

projet CEE (TS2A-0137-C)

Programme scientifique du projet	p 2
Rapport semestriel # 1 Mars 1989 - Août 1989	p 20
Rapport semestriel # 2 Septembre 1989 - Février 1990	p 25
Rapport semestriel # 3 Mars 1990 - Août 1990	p 31
Rapport semestriel # 4 Septembre 1990 - Février 1991	p 39

Denis Fargette
Chargé de Recherches à l'ORSTOM

Septembre 1991

LES MALADIES DES PLANTES TRANSMISES PAR ALEURODES EN AFRIQUE DE L'OUEST

Programme scientifique du projet CEE (TS2A-0137-C)

SOMMAIRE

1. PRESENTATION GENERALE DU PROJET

- 1.1. Introduction
- 1.2. Objet du document
- 1.3. Objectifs du projet
- 1.4. Unité thématique
- 1.5. Etudes pluridisciplinaires
- 1.6. Dimension régionale
- 1.7. Contenu scientifique du projet

2. EPIDEMIOLOGIE DES MALADIES

- 2.1. Introduction
- 2.2. Développement de la maladie dans l'espace
- 2.3. Développement de la maladie au cours du temps
- 2.4. Etude des réservoirs de virus et de vecteurs

3. IDENTIFICATION ET CARACTERISATION DES AGENTS PATHOGENES

- 3.1. Introduction
- 3.2. Mise au point des techniques de détection
- 3.3. Inventaire des virus
- 3.4. Caractérisation des agents pathogènes
- 3.5. Etude des souches et de leur variabilité
- 3.6. Mécanismes de transmission

4. METHODES DE LUTTE

- 4.1. Introduction
- 4.2. La Mosaïque africaine du manioc
- 4.3. Relations avec le projet "Cassava-trans"
- 4.4. Application des mesures prophylactiques
- 4.5. L'Enroulement de la tomate
- 4.6. Les autres maladies

5. CONCLUSION

6. ANNEXE

1. PRESENTATION GENERALE DU PROJET

1.1. Introduction. Le projet intitulé "les maladies virales transmises par aleurodes en Afrique de l'Ouest", soumis par l'Orstom en février 1988, a été retenu par la Commission des Communautés Européennes. Y sont réunies des équipes appartenant à sept organismes de recherche (Orstom, ODNRI, SCRI, ISRA, INERA, CIRAD, INRA) et implantées dans cinq pays (Côte d'Ivoire, Grande-Bretagne, Sénégal, Burkina-Faso, France). Ce projet pluridisciplinaire, qui dispose d'un budget d'un peu plus de deux millions de francs, rassemble pour une période de trois ans, des virologues, des entomologistes, des généticiens et des mathématiciens. Le projet débutera le 1er mars 1989 pour l'Orstom et le 1er septembre pour les autres participants. Il doit s'achever le 1er septembre 1992. L'Orstom, à titre de "proposant principal", a la responsabilité scientifique et administrative de ce programme. Si chacune des équipes engagées possède une expérience approfondie dans son domaine de compétence, il revient à l'Orstom d'articuler les programmes, de coordonner les efforts, de susciter les collaborations, bref d'animer ce projet.

1.2. Objet du document. J'ai cherché à réunir dans ce document les informations essentielles à la compréhension du programme, je retrace "l'historique" du projet et je m'efforce d'en faire ressortir le "fil conducteur". Les formulaires remis à la CEE (jointes en annexe à ce document) fixent les orientations générales des programmes mais ne détaillent pas les travaux à conduire. Ce texte envisage plus précisément comment les objectifs fixés pourront être atteints et présente un plan d'ensemble pour y parvenir. Il détaille les opérations qui seront conduites et discute celles qui seraient susceptibles de l'être. Enfin, il établit sous quelles formes les travaux des différentes équipes pourraient, par une coordination réfléchie, bénéficier les uns aux autres afin de faire progresser au mieux l'ensemble des activités.

Il ne s'agit évidemment pas de présenter ici une liste exhaustive et définitive de tout ce qui sera ou doit être réalisé. Ce texte est conçu plutôt comme une proposition; ainsi il accueillera les conseils, remarques et critiques qui seront formulées. Le projet lui-même reste ouvert et sera sujet à des évolutions, des infléchissements et des modifications, conséquences inévitables du déroulement des différents programmes, au gré des résultats acquis et des difficultés apparues. Ce texte n'en est pas moins important. Par la vue d'ensemble qu'il s'efforce de donner, il sera utile à la mise en place du programme et à la coordination des différentes activités.

1.3. Objectifs du projet. Deux documents ont servi de support de réflexion lors de l'élaboration du projet. Il s'agit de "l'Inventaire des Virus de Côte d'Ivoire" (Collection Orstom Initiations et Documentation techniques n°46, Fauquet & Thouvenel, mars 1987, 243 pp) et des "Actes du séminaire International sur la Mosaïque africaine du manioc" (Collection Colloques et Séminaires ORSTOM/CTA, Fauquet & Fargette, juin 1988, 278 pp). Le premier document fait ressortir l'importance économique des maladies transmises par aleurodes, tout en soulignant le peu de connaissance dont on dispose à leur égard, exception faite de la Mosaïque du manioc. Le second propose un bilan sur cette dernière maladie et suggère les orientations à suivre à l'avenir. Nous souhaitons donc poursuivre les travaux sur la Mosaïque du manioc en tenant compte des conclusions émises et élargir notre étude aux autres géminivirus moins connus. Nous avons voulu que ce projet se caractérise par:

- Une unité thématique.
- Des études pluridisciplinaires.

--- Une dimension régionale.

Ce canevas retenu (unité thématique, études pluridisciplinaires, dimension régionale, coopération nord/sud) répondait, nous semble-t-il, aux orientations contenues dans les directives de la Commission des Communautés Européennes. Aussi avons-nous cherché à bénéficier d'un appui de la CEE et avons-nous présenté le projet intitulé "Les maladies virales transmises par aleurodes en Afrique de l'Ouest".

1.4. Unité thématique. Soulignons d'abord que le titre du projet "Les maladies virales transmises par aleurodes en Afrique de l'Ouest", par souci de brièveté, est incomplet. C'est aux virus transmis par aleurodes du groupe des gémiviruses auxquels nous nous intéressons ici. Si de nombreux résultats relatifs à l'étiologie et à l'épidémiologie de la Mosaïque africaine du manioc sont disponibles, (presque) tout reste à faire avec les autres gémiviruses. Or l'étude de ces gémiviruses moins connus peut bénéficier, nous en sommes convaincus, des connaissances acquises avec la Mosaïque du manioc. Deux exemples, choisis l'un en relation avec le vecteur, l'autre avec le virus illustrent notre propos. Un travail exhaustif sur la biologie de *Bemisia tabaci* en conditions tropicales est prévu. Dans le paragraphe 2.1, on envisage comment cette étude, menée initialement sur manioc, bénéficiera à d'autres maladies. Les gémiviruses transmis par aleurodes présentent des relations sérologiques étroites. Dans le paragraphe 3.2, on met à profit ces relations lors de l'étude de virus nouveaux ou insuffisamment caractérisés. C'est ce souci de complémentarité qui nous a amené à élargir notre travail sur la Mosaïque africaine du manioc aux autres gémiviruses et à proposer une étude globale de ces maladies.

1.5. Etudes pluridisciplinaires. Les problèmes abordés exigent une collaboration étroite entre virologues et scientifiques d'autres disciplines. Ainsi virologues et entomologistes sont réunis ici pour comprendre le développement des maladies. Les généticiens impliqués dans le projet s'attacheront, toujours en association avec les virologues, à la mise en place de méthodes de lutte basées sur l'utilisation de la résistance. Les progrès récents de la biologie moléculaire ont eu des répercussions importantes en virologie: ainsi des groupes de virus nouveaux, tel celui des gémiviruses, ont-ils pu être étudiés. Nous avons donc intégré dans notre projet un laboratoire disposant de ces techniques et familier des gémiviruses. Enfin, l'application des mathématiques à la biologie a ouvert des perspectives nouvelles en phytopathologie et nous avons associé des mathématiciens à notre projet.

1.6. Dimension régionale. Si les maladies virales transmises par aleurodes sont peu connues en Côte d'Ivoire, elles le sont moins encore dans la plupart des autres pays d'Afrique de l'Ouest. Nous avons donc voulu donner une dimension régionale à notre projet et nous avons associé des équipes de deux de ces pays, le Sénégal et le Burkina-Faso. Du coup, les problèmes dus à ces maladies seront étudiés dans des régions climatiques entièrement différentes permettant ainsi, nous l'espérons, des comparaisons intéressantes.

1.7. Contenu scientifique du projet. Les différents travaux sont regroupés dans ce document en trois chapitres intitulés respectivement, "épidémiologie des maladies", "identification et caractérisation des agents pathogènes" et "méthodes de lutte". Les deux premiers chapitres, "épidémiologie" et "caractérisation" sont en fait essentiellement le prolongement des activités antérieures de l'Orstom et du SCRI. Ainsi les études prévues dans le volet "épidémiologie" comprennent-elles l'approfondissement et l'élargissement, par de nouvelles approches et souvent originales, des recherches menées par l'Orstom en Côte d'Ivoire de 1980 à 1987. De même, la recherche et la caractérisation de nouveaux gémiviruses se poursuivra au SCRI, parfois à l'aide de techniques nouvelles. Le dernier volet

"méthodes de lutte" a un statut particulier. Il faudra en effet, au cours du projet, procéder à des choix: choix des maladies, choix des méthodes de lutte. Ces choix, discutés dans ce document, seront dictés par les résultats obtenus dans les deux premiers volets, par les possibilités matérielles et par l'évolution d'autres programmes.

2. EPIDEMIOLOGIE DES MALADIES

2.1. Introduction. La Mosaïque africaine du manioc est vraisemblablement la maladie virale des plantes la plus grave en Afrique. Les pertes annuelles qui lui sont attribuées sont de l'ordre de 30 millions de tonnes (Fargette et al., Trop. Pest. M. 34, 89-91). A ce titre, l'essentiel des efforts lui a été consacré jusqu'à présent. Au laboratoire Orstom d'Adiopodoumé l'épidémiologie de la maladie a fait l'objet d'études approfondies de 1980 à 1987. Les études réalisées peuvent se regrouper en trois volets:

- Le développement de la maladie dans l'espace.
- Le développement de la maladie au cours du temps.
- L'étude des réservoirs de virus et de vecteurs.

Notre souci, au cours des programmes antérieurs, était de comprendre les facteurs clés qui régissent le développement des épidémies de la Mosaïque africaine du manioc et d'en déduire les méthodes de lutte à mettre en oeuvre. Or, ces études restaient inachevées. Si nous avons établi les caractéristiques principales des épidémies, nous n'avions pas réellement cerné l'ensemble des processus biologiques sous-jacents. Pour approfondir l'étude du développement de la maladie dans l'espace, au cours du temps et la recherche des réservoirs de virus et de vecteurs, nous avons décidé d'orienter nos efforts dans trois directions:

- Une étude de la biologie de *Bemisia tabaci*.
- Une exploitation mathématique originale des données accumulées.
- L'application de nouvelles techniques de détection.

Avant de détailler, volet par volet, les travaux qui seront entrepris j'expose les raisons qui nous ont conduit à procéder à un tel choix.

De nombreuses caractéristiques du développement des épidémies virales reflètent des propriétés de la biologie de l'insecte vecteur. Une meilleure connaissance de la biologie de *B. tabaci* devrait logiquement conduire à une compréhension plus fine de l'épidémiologie. En outre, bien que ces travaux soient réalisés essentiellement sur manioc, ils permettront aussi de mieux cerner l'épidémiologie d'autres maladies virales transmises par *B. tabaci*. Par exemple, nous savons dès à présent que le développement des épidémies d'Enroulement du gombo dans l'espace et au cours du temps présente des caractéristiques identiques à celles de la Mosaïque du manioc (gradients de contamination, fluctuation annuelle de la pression d'inoculum, variation régionales) (N'Guessan, 1986; 1987; rapports Orstom), conséquences respectives des mouvements et de la dynamique de population de l'aleurode vecteur.

Les travaux menés de 1980 à 1987 ont conduit à l'accumulation d'un grand nombre de données. Parallèlement, l'application à la biologie de nouvelles méthodes mathématiques a connu ces dernières années des développements intéressants en phytopathologie: certaines d'entre elles permettent une analyse plus poussée des données, d'autres ouvrent des perspectives nouvelles. Du coup, sont prévues dans le projet CEE, la poursuite des travaux entrepris et la mise en place de nouvelles collaborations.

Récemment, suite aux progrès de la biologie moléculaire, de nouvelles techniques de détection sont apparues en virologie végétale. La mise au point de tels tests avec les géminivirus est évoquée dans le paragraphe 3.2. Nous envisageons dans le paragraphe 2.5 comment ces techniques permettent d'aborder ou d'approfondir certains points de l'épidémiologie, mal compris jusqu'à présent, et tout particulièrement la recherche des réservoirs de virus.

2.2. Développement de la maladie dans l'espace. Il est caractérisé par des effets de bordure prononcés. La contamination est marquée par des gradients d'infection suivant un axe sud-ouest, direction du vent dominant (Fargette et al., Ann. Appl. Biol. 106, 285-294). La dispersion de la maladie à partir de foyers situés à l'intérieur des parcelles (contamination secondaire) se fait selon un processus différent, marqué par une diffusion limitée à quelques mètres, s'exprimant dans toutes les directions. L'essentiel de la propagation de la maladie a cependant pour origine la contamination primaire (Fargette et al., Proc. 3d Internat. Work. of Epidemiol. Plant. Viruses. VII 19-21). Une meilleure connaissance des mouvements de l'insecte en relation avec les caractéristiques du vent permettra de mieux comprendre la dispersion de ces viroses à l'échelle de la parcelle et de la région.

En fait, les processus biologiques à l'origine des épidémies ont été abordés dès 1986 dans un programme pluridisciplinaire où les travaux d'épidémiologie ont été complétés par un volet d'entomologie et de climatologie. Les résultats acquis ont permis une première synthèse pluridisciplinaire (Fargette et al 1989; In "La Mosaïque africaine du manioc" CTA/ORSTOM, à paraître). Il est ainsi apparu que les deux modes de dispersion (primaire, secondaire) de la maladie étaient liés aux différents déplacements de l'insecte vecteur, des mouvements "passifs" dans le sens du vent dominant au dessus de la couche limite de vol de l'insecte et des mouvements "actifs", largement indépendants de la direction du vent dominant, à l'intérieur de la couche limite de vol, c'est à dire essentiellement au sein de la canopée.

Ces travaux sont approfondis actuellement suite à l'affectation à Adiopodoumé en 1987 d'un entomologiste britannique de l'ODNRI. Une étude plus complète de la biologie de *B. tabaci* est en cours et se prolongera dans le cadre du projet CEE. Il faut souligner que si de nombreuses études ont été réalisées récemment sur la biologie de *B. tabaci* dans les régions intertropicales ou méditerranéennes, aucune étude approfondie n'a été conduite jusqu'à présent dans les régions équatoriales. (Presque) tout restait à faire. L'évaluation de l'activité du vecteur se poursuivra à l'aide de piégeages, afin de quantifier les vols immigrants, émigrants et internes d'une culture de manioc. Les stratégies d'échantillonnage des aleurodes, très élaborées sur cotonnier mais rudimentaires sur d'autres plantes, seront établies.

Dès 1985 une collaboration a été mise en place avec le laboratoire de Biomodélisation du CIRAD pour l'application des géostatistiques à l'analyse du développement de la maladie dans l'espace. Ce travail fait l'objet d'une publication: il s'agit de la première utilisation approfondie des géostatistiques en phytopathologie (Lecoustre et al., Phytopathology, sous presse). L'application des géostatistiques permet la détection des hétérogénéités, d'éventuels gradients, des anomalies dans la distribution spatiale d'une variable aléatoire. En outre elle permet l'utilisation d'une technique d'interpolation sans biais, le krigage, qui sur la base d'un échantillonnage de taille limitée, reconstitue fidèlement la répartition de la maladie dans l'espace. Les travaux entrepris vont s'étendre à l'application des géostatistiques aux mouvements des aleurodes (répartition horizontale, répartition verticale, modification des caractéristiques de ces distributions au cours du temps, efficacité des méthodes de piégeage...). On cherche en définitive à relier dans le

détail les mouvements de l'aleurode à la distribution de la maladie afin d'aboutir à une compréhension fine du développement de la maladie dans l'espace.

2.3. Développement de la maladie au cours du temps. Il est marqué par des variations importantes, une périodicité annuelle et saisonnière nette (Fargette et al., Proc. 3d Internat. Work. of Epidemiol. Plant. Viruses. VII 25-27). La fluctuation de la pression d'inoculum au cours du temps reflète pour une part au moins le développement des populations de l'insecte vecteur. L'étude de la dynamique des populations permettra de saisir l'origine des fluctuations annuelles et saisonnières de la pression d'inoculum. Aussi une étude détaillée du cycle biologique de *B.tabaci* est-elle prévue qui s'attachera à définir la fécondité, la durée des différents stades de développement, l'effet des conditions climatiques sur le développement des populations, les causes de mortalité et les variations de ces caractéristiques au cours du temps et en fonction du développement de la plante hôte. Les parasites et les prédateurs naturels des aleurodes ainsi que les autres causes de variation de la densité des populations seront recherchés.

Nous disposons d'une séquence de résultats relatifs au développement de la maladie, aux dynamiques de l'aleurode et aux caractéristiques climatiques répartis sur une période de sept ans. L'analyse menée initialement par l'application des statistiques temporelles et multivariées va être approfondie dans le cadre d'une collaboration ponctuelle avec un spécialiste de la modélisation analytique de l'ODNRI. Cette collaboration nous permettra non seulement d'approfondir l'analyse des données recueillies mais aussi de nous initier à l'utilisation de ces outils mathématiques.

Les collaborations en cours et celles envisagées montrent que nous avons délibérément choisi d'utiliser les mathématiques pour éclaircir quelques points précis. L'objectif final de ces collaborations entre virologues, entomologistes et mathématiciens pourrait être plus ambitieux avec la mise au point d'un modèle de développement des maladies articulé avec la dynamique des populations d'aleurodes, les conditions climatiques et la croissance de la plante. Un tel objectif doit toutefois être envisagé avec prudence. D'une part, les informations obtenues à l'issue de notre programme ne seront peut-être pas suffisantes pour mettre au point un tel modèle. Rappelons que les modèles épidémiques des maladies virales transmises par aphides pour lesquelles on dispose d'une somme d'information considérable sont encore rudimentaires... D'autre part, la finalité même de tels modèles en phytopathologie varie selon les auteurs. Dans notre projet la modélisation est conçue uniquement comme une aide à la compréhension de l'épidémiologie.

2.4. Etude des réservoirs de virus et de vecteurs. Faute de techniques de détection adéquates, l'étude des réservoirs des géminivirus n'a jamais jusqu'à présent été abordée de façon satisfaisante. La recherche des réservoirs de ces virus constitue donc une des priorités de notre projet. Dans le cas de la Mosaïque africaine du manioc, nous avons établi indirectement que la manioc lui-même était la principale source de virus (Fargette et al., Ann. Appl. Biol. 110, 65-73; Fauquet et al., Trop. Pest. M. 34, 92-96), mais nous n'avions pas pu caractériser avec certitude les autres plantes réservoirs. Le problème doit être résolu non seulement pour mieux comprendre l'épidémiologie de la maladie mais aussi pour en connaître l'origine. En effet, aucun élément ne permet actuellement d'appuyer (ou de réfuter) l'hypothèse souvent émise selon laquelle le virus préexistait en Afrique dans des plantes adventices avant l'introduction du manioc d'Amérique du Sud. La découverte de telles plantes adventices, réservoirs de la Mosaïque africaine du manioc et originaires d'Afrique, sans la prouver entièrement, soutiendrait toutefois une telle hypothèse.

Cependant, l'étude par sérologie des réservoirs de la Mosaïque africaine du manioc, comme celle des autres géminivirus, se heurte à une difficulté essentielle: les géminivirus transmis par aleurodes sont reliés sérologiquement. En d'autres termes, un sérum préparé contre l'un d'entre eux réagira "positivement" avec d'autres, compliquant ainsi l'interprétation des réactions positives. Cependant cet obstacle est en passe d'être contourné avec l'utilisation des anticorps monoclonaux (Cf. paragraphe 3.2). Nous sommes donc en mesure de reprendre l'étude des réservoirs de virus, tant de ceux de la Mosaïque du manioc, que ceux d'autres géminivirus.

Enfin, le rôle joué par les différentes espèces et races d'insectes vecteurs devrait être clarifié. *B. hancocki*, espèce proche de *B. tabaci* et susceptible de participer à la dispersion des maladies virales fait l'objet d'une étude préliminaire. On recherche aussi si il existe, au sein de l'espèce *B. tabaci*, très polyphage, des biotypes inféodés à certaines plantes ou susceptibles de différer par leur aptitude à la transmission des géminivirus. Les conséquences épidémiologiques seront envisagées.

3. IDENTIFICATION ET CARACTERISATION DES AGENTS PATHOGENES

3.1. Introduction. Les géminivirus sont caractérisés par leur acide désoxyribonucléique monocaténaire, par la forme très particulière de leurs particules associées en doublets et par leur mode de transmission, par aleurodes ou par cicadelles. En fait, la plupart des propriétés des géminivirus n'a été mise en évidence que récemment. Ainsi le groupe des géminivirus a-t-il été défini il y a une dizaine d'années à peine. Depuis, le nombre des virus de ce groupe ne cesse d'augmenter. Lors du dernier congrès de phytopathologie à Kioto en août dernier par exemple, les géminivirus ont fait l'objet d'une session spéciale au cours de laquelle la description de nouveaux membres a été rapportée. Les progrès récents sont avant tout liés à l'introduction de techniques nouvelles en virologie.

3.2. Mise au point des techniques de détection. La nécessité des tests de détection est soulignée à plusieurs reprises dans ce texte. En effet, de leur mise au point dépendra la bonne réalisation de plusieurs des phases du projet dont l'inventaire des maladies (3.3), la recherche des réservoirs (3.5), l'évaluation de la variabilité des isolats (3.5), la compréhension des mécanismes de transmission (3.6), le "screening" de variétés et recherche de gènes de résistances (4), l'étude du mode d'action de tels gènes (4)... La mise au point et le perfectionnement de tels tests est donc un des objectifs majeurs de ce projet.

Nous avons développé, au cours des programmes antérieurs, un test immuno-enzymatique ELISA, basé sur un sérum polyclonal contre la Mosaïque du manioc. Les possibilités d'un tel test avaient alors été exploitées (Fargette et al., Ann. Appl. Biol. 110, 65-73). Récemment, la sensibilité et surtout la spécificité des tests de détection ont été considérablement améliorées par l'emploi des anticorps monoclonaux. On sait en effet que les anticorps monoclonaux sont spécifiques d'un seul épitope. Des virus distincts mais apparentés ont certains épitopes en commun, tandis que d'autres sont propres à chacun d'eux. Il devient possible dès lors, de choisir des anticorps monoclonaux capables de réagir soit à un épitope commun, ce qui permettra de détecter tous les virus apparentés, soit à un épitope propre à un virus particulier, ce qui permettra de le distinguer de ceux qui lui sont reliés.

Le SCRI a développé une série d'anticorps monoclonaux contre la Mosaïque africaine du manioc. L'intérêt de tels anticorps est immédiat; les difficultés engendrées par la présence de relations sérologiques entre les géminivirus sont ainsi levées. L'étude des

plantes réservoirs évoquée dans le paragraphe 2.4 peut ainsi être réalisée. Ils permettront aussi lors de la phase d'inventaire, de décider si des isolats appartiennent effectivement au groupe des gémiviruses. Des tests quantitatifs basés sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux seront aussi utilisés dans les programmes d'évaluation variétale contre des virus non caractérisés. La purification de nouveaux virus sera du coup facilitée (par exemple, la fraction de virus conservée et celle éliminée pourra être évaluée à chaque étape).

Les tests sérologiques, basés sur la reconnaissance par les anticorps de quelques épitopes de la protéine capsidique, ne prennent en compte qu'une portion finalement minime de l'information codée par le virus. Les techniques d'hybridation moléculaire permettent quant à elles d'utiliser, si nécessaire, l'ensemble de l'information contenue dans l'acide nucléique du virus. C'est l'approche qu'a utilisée avec succès M. Laterrot - qui est associé au projet - avec l'Enroulement de la tomate. La technique dite du "squash blot" (encore appelée "dot blot") a été mise au point contre ce virus par le laboratoire de la Faculté d'Agriculture de Jérusalem (Czosnek et Navot, In "Advances in Biotechnological Processes, sous presse). Un extrait de plante est fixé sur un support de nitro-cellulose. Au laboratoire on ajoute, après traitement, une sonde radioactive constituée de l'acide nucléique complémentaire au virus recherché. Le "squash blot", qui a permis de détecter l'Enroulement de la tomate dans plusieurs pays d'Afrique et du Moyen-Orient, sera utilisé dans le cadre de notre étude lors de la phase d'inventaire de cette maladie.

On dispose aussi de sondes pour la détection du virus de la Mosaïque africaine du manioc. La mise au point d'autres sondes, si possible non radioactives, est envisagée dans le cadre du projet. Pour chaque application, on recherchera les techniques les plus adaptées (tests sérologiques ou hybridation moléculaire). A priori, les tests sérologiques sont plus faciles à mettre en oeuvre "sur le terrain". lors des phases d'inventaire et de screening, surtout si des sondes non radioactives ne sont pas disponibles. En revanche, une étude fine des mécanismes de résistance (4.3) ou de transmission (3.6) devra vraisemblablement utiliser les deux techniques de concert.

3.3. Inventaire des virus. La liste ci-dessous reprend certains des gémiviruses identifiés ou signalés dans des régions équatoriales et tropicales : Bean golden mosaic (Légumineuses), Euphorbia mosaic (Euphorbiaceae), Honeysuckle yellow vein mosaic (Caprifoliaceae), Mung bean yellow mosaic (Légumineuses), Squash leaf curl (Cucurbitaceae), Tobacco leaf curl (Solanaceae, Caricaceae), Tomato golden mosaic (Solanaceae), Tomato leaf curl et Tomato yellow leaf curl (Solanaceae), Coton leaf crumple (Malvaceae), Eupatorium yellow vein (Compositae), Jatropha mosaic (Euphorbiaceae), African and Indian cassava mosaic (Euphorbiaceae), Soybean crinkle leaf (Légumineuses), Horsegram yellow mosaic (Légumineuses), Cowpea yellow mosaic.... Cette liste date de 1985. Depuis lors, le nombre de maladies dont l'agent pathogène ne s'apparente au groupe des gémiviruses ne cesse de croître.

"L'Inventaire des Virus de Côte d'Ivoire" recense les maladies transmises par aleurodes. Sont citées la Mosaïque africaine du manioc, l'Enroulement de la tomate, la Frisolée du tabac, l'Enroulement du gombo, la Mosaïque et la Frisolée du cotonnier. Faute d'étude approfondie, l'inventaire des gémiviruses de Côte d'Ivoire est vraisemblablement incomplet et la plupart des virus cités n'ont en outre pas été caractérisés. D'autre part, aucune étude n'a été réalisée dans d'autres pays d'Afrique de l'Ouest. Il semble donc vraisemblable que l'utilisation de nouveaux tests, plus sensibles et plus spécifiques, révélera de nouveaux gémiviruses, lors des inventaires à venir. Les virologues de l'ISRA au Sénégal et de l'INERA au Burkina Faso jouent à cet égard, par leur connaissance du terrain, un rôle déterminant pour le succès du projet. Le projet CEE permet le recrutement d'un chercheur au Sénégal et au Burkina Faso pendant trois ans et d'assurer ses frais de

fonctionnement. Ces chercheurs seront encadrés par un virologue national "sénior" et bénéficierons, nous y veillerons, de la dynamique créée par le projet. Nous disposerons donc au Sénégal et au Burkina-Faso d'un interlocuteur permanent et compétent. Il aura pour mission de dresser l'inventaire des principales maladies transmises par aleurodes, d'évaluer les dégâts occasionnés et de propager, en conditions contrôlées, ces maladies. (Les autres tâches qui lui sont imparties sont décrites dans les paragraphes 4.5 et 4.6). Les viroses seront initialement repérées sur la base des symptômes et le diagnostic sera confirmé par des tests sérologiques mis à leur disposition. Des missions dans d'autres pays d'Afrique de l'Ouest permettront de compléter ces inventaires.

3.4. Caractérisation des agents pathogènes. Pour plusieurs raisons les géminivirus sont difficiles à purifier. Ils sont souvent "non transmissibles" mécaniquement, présents en très faible concentration dans la plante et faiblement immunogènes. Sous peine de se heurter à des difficultés insurmontables, l'identification de ces nouveaux virus doit être réalisée de préférence dans un laboratoire de virologie parfaitement équipé, doté d'un matériel de centrifugation performant et d'un microscope électronique. Il doit disposer en outre des tests de détection évoqués dans le paragraphe précédent, indispensables lors des différentes étapes de purification.

Les caractéristiques biologiques seront précisées, la méthode de purification mise au point et les propriétés biophysiques, sérologiques et biochimiques seront établies. Naturellement on cherchera à identifier l'ensemble des géminivirus repérés lors des phases d'inventaire. Cependant, on s'attachera en priorité à la caractérisation de l'Enroulement de la tomate et de l'Enroulement du gombo, deux maladies signalées dans plusieurs pays d'Afrique et dont l'importance économique est reconnue.

3.5. Etude des souches et de leur variabilité. L'identification de ces maladies ira de pair, pour les plus importantes d'entre elles, avec la recherche des différentes souches et l'étude de la variabilité entre isolats. Connaître la variabilité entre les isolats est non seulement essentiel à la compréhension de l'épidémiologie mais a aussi des conséquences pratiques importantes qui sont envisagées dans la partie 4.3.

L'étude de la variabilité de la Mosaïque africaine du manioc, basée sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux, révèle l'existence de trois souches dont la répartition géographique apparaît à l'heure actuelle bien distincte: la souche A présente dans la majeure partie de l'Afrique, la souche B que l'on retrouve en Afrique de l'Est et à Madagascar et la souche C isolée pour l'instant uniquement en Inde. En fait, des études exhaustives sur la nature et la répartition des souches sont encore rares et l'on est loin de disposer avec la Mosaïque du manioc de la masse d'information que l'on possède avec certaines viroses des pays tempérés. Il n'est donc pas exclu que les résultats d'études complémentaires conduisent à revoir les conclusions évoquées et à compliquer une situation qui apparaît actuellement d'une simplicité remarquable.

Une étude des souches et la variabilité de la Mosaïque africaine du manioc en Côte d'Ivoire a déjà été conduite en collaboration avec le laboratoire de virologie du SCRI. Dès maintenant, ces résultats conduisent à distinguer en fait non plus un mais deux niveaux de variabilité. En effet, et toujours sur la base des réactions aux anticorps monoclonaux, il a été mis en évidence au sein des trois souches principales, une variabilité secondaire dont l'ampleur semble dépendre des pays et des souches. Il y aurait donc des variants majeurs (entre les souches) et des variants mineurs (au sein des souches). L'étude des souches de la Mosaïque africaine du manioc est à poursuivre. Nous envisageons aussi d'entreprendre l'étude des souches de l'Enroulement de la tomate, maladie importante qui, comme la

Mosaïque africaine du manioc, sévit dans de nombreux pays situés dans des régions écologiques différentes

3.6. Mécanismes de transmission. Le mode de transmission par aleurodes des virus reste peu connu. Si les caractéristiques biologiques de la vection sont maintenant bien établies, on en ignore en revanche les mécanismes sous-jacents. La mise au point des tests de détection évoqués dans le paragraphe 3.2 laisse espérer des progrès comparables à ceux réalisés dans le cas des virus transmis par aphides. Une telle étude est en cours au SCRI. Un élevage d'aleurodes a ainsi été mis en place. Cet élevage -qui de surcroît facilite la propagation des gémiviruses non-transmissibles mécaniquement- est à la base d'un travail approfondi sur les mécanismes de transmission. On s'attache actuellement à détecter le virus dans l'insecte par l'utilisation conjuguée du microscope électronique et des techniques sérologiques. Par la suite, il est prévu de localiser les particules virales directement dans les tissus de l'insecte par l'utilisation des techniques de marquage sur coupes minces en microscopie électronique (immuno-gold labelling par exemple).

4. METHODES DE LUTTE

4.1. Introduction. La mise au point de méthodes de lutte est évidemment l'objectif final et l'aboutissement logique de ce programme. Les recherches en étiologie, la mise au point des techniques procurent les connaissances de base et les tests virologiques indispensables aux autres programmes. Les travaux d'épidémiologie apportent quant à eux les informations nécessaires à la mise en oeuvre des méthodes de lutte. En fonction du "risque" encouru par la culture, on définira les pratiques culturales à adopter, celles à éviter et on décidera de la résistance à utiliser: quelle doit être la nature de la résistance, quel est le degré de résistance nécessaire, quelles sont les pratiques culturales à respecter si l'on veut en tirer le meilleur parti? A ce titre, les relations étroites qui unissent épidémiologie et méthodes de lutte sont examinées en détail pour le contrôle de la Mosaïque africaine du manioc dans le paragraphe 4.4. En fait, dans le contexte africain où les possibilités techniques et les ressources financières sont limitées, la résistance variétale est assurément l'élément central des méthodes de lutte. Elle doit en conséquence recevoir toute l'attention nécessaire. C'est la raison pour laquelle la recherche, la création et l'évaluation des variétés résistantes constituent un des objectifs majeurs de notre programme.

Dans ce domaine aussi, l'avancement des travaux est très variable selon les maladies. En règle générale, la lutte contre ces maladies n'a pas ou peu été étudiée. Si le contrôle de la Mosaïque africaine du manioc a fait l'objet de programmes de recherche, l'efficacité et même le fondement de certaines des méthodes de lutte proposées actuellement restent controversées. Afin d'éviter une dispersion des efforts, nous avons procédé à un premier tri des problèmes que nous étudierons prioritairement. Ce choix est dicté par la gravité des problèmes économiques et par les perspectives de succès à court terme. Nous porterons ainsi une attention particulière à la Mosaïque africaine du manioc. L'Orstom a suivi, pour étudier cette maladie majeure, des voies d'approches originales qu'il convient de poursuivre. Nous étudierons aussi l'Enroulement de la tomate qui fait l'objet depuis plusieurs années d'un programme d'amélioration variétale, initialement mené avec les pays du Proche-Orient et qui sera étendu à l'Afrique de l'Ouest. Enfin, les autres maladies seront traitées cas par cas en fonction des informations acquises au cours du programme avec toutefois une référence spéciale à l'Enroulement du gombo, en raison des travaux préliminaires que l'Orstom a menés à son sujet.

4.2. La Mosaïque africaine du manioc. Les recommandations pour le contrôle de la Mosaïque africaine du manioc sont basées actuellement sur l'utilisation de la résistance variétale ou sur l'application de mesures prophylactiques. Cependant, l'efficacité et la validité des méthodes proposées restent sujettes à discussion, comme l'ont fait ressortir les débats du Séminaire International sur la Mosaïque africaine du manioc. Les incertitudes qui persistent nous conduisent à proposer des recherches complémentaires sur certains points et à étudier les modalités d'une collaboration à des travaux où de nouvelles voies d'approches sont suivies.

Un rappel des principales données du problème est ici nécessaire. La Mosaïque africaine du manioc a fait l'objet, depuis plus de cinquante ans, de programmes d'amélioration variétale. Menés initialement en Afrique de l'Est, les travaux ont été poursuivis à l'IITA au Nigeria. La source de résistance utilisée est le manioc sauvage *Manihot glaziovii*. Les gènes ont été introduits par hybridation et les propriétés agronomiques ont été rétablies par croisements "en retour" successifs avec le manioc cultivé. On dispose donc maintenant de variétés améliorées. Plusieurs interrogations subsistent cependant à propos de ces maniocs "résistants":

- 1°) Le déterminisme génétique de la résistance n'est pas connu avec certitude.
- 2°) Le mécanisme de la résistance introduite n'a pas été suffisamment étudié. Ainsi on ne sait pas si les variétés améliorées sont réellement résistantes (multiplication limitée du virus) ou bien si elles sont en fait tolérantes (pertes de production limitées ou expression des symptômes faible en dépit d'une multiplication effective du virus). Certains auteurs affirment même que ces variétés améliorées sont, dans une certaine mesure, sensibles.
- 3°) Les variétés améliorées ne sont pas appréciées de toutes les populations en Afrique, en raison principalement du goût amer de leurs tubercules.
- 4°) Enfin certaines variétés locales seraient résistantes sans posséder les défauts apparents des variétés améliorées. On ignore cependant si ce comportement est lié à l'action de gènes de résistance nouveaux ou bien si la résistance observée est en fait consécutive à des hybridations naturelles entre *M. glaziovii* et certaines variétés locales.

Jusqu'à présent, les efforts de l'Orstom ont porté essentiellement sur les points 2 et 4. Un matériel végétal (naturel et amélioré) d'origine très diverse, a été réuni. Son comportement vis à vis de la Mosaïque africaine du manioc a été étudié plusieurs années consécutives, en prenant en compte plusieurs composantes de la résistance (Fauquet et al. Actes du Séminaire sur la Mosaïque africaine du manioc pp 171-174). Certaines d'entre elles se révèlent étroitement liées (expression des symptômes, multiplication des virus, résistance "en champ"), ce qui suggère un déterminisme génétique identique. D'autre part, nous avons confirmé que la production de certaines variétés améliorées dites "résistantes" est en fait sensiblement réduite par la maladie (Fauquet et Fargette, non publié). La résistance de certaines variétés améliorées est donc relative. En revanche, il est apparu que quelques variétés locales présentaient effectivement des caractères de résistance intéressants. Le laboratoire de Génétique de l'ORSTOM d'Adiopodoumé a poursuivi l'étude de l'origine de la résistance en recherchant, par comparaison des profils enzymatiques, les filiations entre variétés améliorées, variétés locales résistantes et sensibles. Les résultats préliminaires suggèrent que les variétés locales résistantes sont le fruit d'une introgression naturelle avec *M. glaziovii*.

Nous porterons donc notre attention à la poursuite des travaux engagés par l'Orstom. Quelques points restent à clarifier en priorité. Ainsi nous nous appliquerons à élucider, par deux approches différentes, la réponse des maniocs résistants à l'infection

virale. D'une part, la concentration en virus de ces variétés sera réévaluée, à l'aide des nouveaux sérums disponibles. Nous étudierons de même les différents cultivars de manioc créés par le laboratoire de génétique qui présentent plusieurs niveaux d'introgression avec *M. glaziovii*. Nous pourrions ainsi tester l'hypothèse émise sur l'acquisition de la résistance chez certaines variétés par introgression naturelle avec le manioc sauvage. D'autre part, à partir de données sur la croissance de plusieurs variétés de manioc, saines et virosées, nous développerons, en collaboration avec le laboratoire de Biomodélisation du CIRAD, une approche originale basée sur la modélisation de la croissance des plantes. Ceci nous permettra de mieux comprendre l'action de la maladie sur le développement de la plante et d'analyser les modalités selon lesquelles une plante dite résistante est en mesure d'en limiter l'impact.

Ces travaux supplémentaires nous permettront, nous l'espérons, de mieux comprendre le comportement des variétés améliorées et locales. Cependant, il est dès maintenant clair que les variétés améliorées proposées actuellement présentent des faiblesses notables, principalement en raison du goût amer de leur tubercules (point 3) et de leur faible degré de résistance (point 2); autant d'obstacles à une diffusion généralisée de ces variétés. Les insuffisances des travaux de sélection "classiques" ont d'ailleurs conduit l'Orstom à mettre en place un nouveau programme où des nouvelles voies sont explorées. Intitulé "Cassava-trans", il a pour objectif l'introduction, par les techniques de génie génétique, de nouvelles sources de résistance. Ce n'est plus le transfert de gènes de plantes, mais l'insertion de séquences nucléiques de l'agent pathogène qui confèrent la résistance que l'on recherche, en l'occurrence celles du gène de la protéine capsidaire du virus. Cette nouvelle approche a été utilisée avec succès ces trois dernières années avec plusieurs virus appartenant à des groupes divers et infectant des plantes de familles différentes. Si on aboutit avec la Mosaïque du manioc à des résultats comparables, on disposera alors de manioc dotés d'une résistance monogénique, vraisemblablement plus performante que celle disponible actuellement, mais surtout affranchie des caractères indésirables consécutifs à l'introduction de gènes de *M. glaziovii*. En effet, les manioc "transgéniques" ne différeront des manioc cultivés dont ils sont issus que par le seul caractère de résistance introduit, toutes les qualités agronomiques et organoleptiques de la variété étant conservées.

4.3. Relations avec le projet "Cassava-trans". La logique scientifique des deux projets et l'intérêt de l'Orstom concourent à ce que la réalisation des deux programmes soit articulée au mieux. Les deux projets sont en fait complémentaires en plusieurs points. Le contrôle de la Mosaïque africaine du manioc par l'utilisation de la résistance variétale ("classique" ou transgénique) constitue naturellement un des objectifs prioritaire de notre programme. Réciproquement, les informations acquises et les tests de détection mis au point au cours de notre projet contribueront à la réussite de "Cassava-trans". La complémentarité des deux programmes se situe à trois niveaux: l'étude des souches, les tests de détection et l'évaluation du matériel végétal. Le souci de coordination des deux programmes nous amènent à détailler chacun de ces trois volets. Soulignons cependant que les relations entre les deux projets ne se limitent pas aux trois aspects évoqués ci-dessous. Elles devront être réévaluées au fur et à mesure de la progression des travaux.

Si l'on ignore encore précisément le mécanisme de résistance au virus des plantes transgéniques, les différents auteurs s'accordent à y reconnaître une parenté étroite avec les phénomènes de "cross-protection" connus depuis longtemps en virologie. Ceux-ci, rappelons le, se traduisent par la résistance d'une plante préalablement inoculée par un virus à une contamination ultérieure par une souche proche du même virus. En revanche, la plante n'est pas protégée contre des souches plus distantes, ni contre des virus diffé-

rents. Si la résistance des plantes transgéniques est effectivement de même nature, une plante améliorée par l'insertion du gène de la protéine capsidaire d'une souche particulière de virus risque de ne pas être résistante à l'ensemble des souches de ce virus. Notons à ce propos que jusqu'à présent aucune protection croisée n'a été observée entre la souche de virus provenant d'Afrique de l'Ouest et celle d'Afrique de l'Est. Une connaissance aussi approfondie que possible des différentes souches est donc nécessaire pour apprécier les possibilités et les limites des maniocs transgéniques (Cf. paragraphe 3.5). La poursuite de l'étude des souches est donc le premier volet de complémentarité entre les deux programmes. Signalons, enfin l'intérêt qu'il y aurait, toujours en relation avec le programme "Cassava-trans", à reprendre, à l'aide des nouveaux tests de détection, les études de protection croisée "classiques" entre les variants majeurs et entre certains variants mineurs.

Il faut être en mesure, au cours des différentes phases de création de plantes transgéniques (plasmide, protoplaste, plante régénérée...), de déceler l'activité du gène introduit, d'évaluer la concentration de son ARN messager et de la protéine associée. Les techniques de séparation correspondantes (respectivement Southern blot, Northern blot et Western-blot) sont basées sur le fractionnement par électrophorèse des acides nucléiques ou des protéines, suivi du transfert sur support (généralement) de nitro-cellulose. La détection du matériel fixé se fait finalement à l'aide de sondes. Ces dernières utilisent les anticorps monoclonaux pour déceler la protéine capsidaire ou sont basées, pour la détection d'un acide nucléique, sur l'hybridation moléculaire avec une séquence complémentaire. Notre projet envisage la création de telles sondes (Cf. paragraphe 3.2). Elles pourront, suivant des modalités qui restent à définir, être fournies au programme "Cassava-trans", épargnant ainsi la répétition d'un travail délicat et fastidieux. Mise au point des sondes et fourniture de celles-ci constitue donc le deuxième volet de complémentarité entre les deux programmes.

La caractérisation des souches et la fourniture des sondes se situent en quelque sorte "en amont" du projet "Cassava-trans". En revanche la troisième volet des collaborations est en revanche résolument en "aval". Le matériel transformé quel qu'il soit (initialement le tabac puis le manioc) doit naturellement faire l'objet d'études approfondies avant que l'on puisse envisager sa diffusion. Etant donné la rapidité des techniques de transformation par génie génétique, les modalités de l'évaluation du matériel végétal doivent être définies dès que possible. Il faudra naturellement étudier en détail la réaction de la plante transgénique à l'infection (cinétique de l'infection, expression des symptômes, pertes de production, "héritabilité" de la résistance", comportement vis à vis d'autres souches et d'autres virus...). Une évaluation du comportement général de la plante est aussi nécessaire. De telles études, pour être conduites avec succès, doivent être menées dans un laboratoire ayant une expérience approfondie de l'évaluation du matériel végétal résistant en général et des plantes transgéniques en particulier. Il doit disposer aussi d'un grand nombre d'isolats de la Mosaïque du manioc et si possible d'autres virus du manioc. Il doit enfin posséder les tests de détection correspondants.

4.4. Application des mesures prophylactiques. Une autre approche a été proposée pour contrôler la Mosaïque africaine du manioc dans les années 70 par une équipe britannique. Dans les pays où ont été réalisés les travaux (Kenya, Malawi), l'aleurode joue apparemment un rôle mineur dans la transmission de la maladie. C'est en fait l'agriculteur, lorsqu'il replante des boutures issues de maniocs virosés, qui perpétue la maladie. La sélection répétée de manioc sans symptômes a alors permis de disposer rapidement de nombreuses variétés locales indemnes de virus. Les surfaces ainsi obtenues sont maintenues saines grâce à une surveillance périodique où l'agriculteur élimine lui même les pieds virosés.

Ces travaux d'épidémiologie ont été repris et approfondis dans les années 80 par l'Orstom en Côte d'Ivoire. Il faut rappeler les différents points acquis:

1°) En milieu de savane, nous avons pu multiplier et maintenir du manioc sain, issu de plusieurs variétés, plusieurs années de suite et sur de grandes surfaces (Fauquet et al., Trop. Pest. M. 34, 92-96).

2°) En région forestière en revanche, où la pression d'inoculum est forte, il n'est pas possible pour la plupart des variétés locales de maintenir du matériel végétal sain (Fauquet et al., Trop. Pest. M. 34, 92-96).

3°) Néanmoins on dispose maintenant d'au moins une variété locale, possédant un degré de résistance "en champ" suffisant pour être maintenue avec un taux de plantes virosées faible, dans la zone forestière de Côte d'Ivoire (Fargette et Fauquet, non publié) où la pression d'inoculum est forte.

Les résultats exposés dans le point 3 sont encourageants. On peut ainsi envisager la poursuite et l'extension de ces travaux afin de répondre à la question suivante: le contrôle de la maladie par des mesures prophylactiques est-il généralisable, y compris dans des régions où la pression d'inoculum est élevée? Un tel programme doit se baser sur un essai multilocal où l'on suivrait la recontamination de parcelles initialement saines. Un tel essai doit, selon nous, être réalisé selon un protocole expérimental aussi simple que possible et se concentrer, au moins au préalable, sur un nombre restreint de sites. Pour être significatif l'essai doit être répété plusieurs années consécutives. Le choix de sites se ferait dans les différents pays en fonction des zones écologiques considérées comme prioritaires, des interlocuteurs intéressés et des facilités matérielles dont ils disposent. Une variété serait choisie en raison de sa résistance élevée et de ses propriétés agromonomiques et organoleptiques. Le matériel sain nécessaire serait alors multiplié puis fourni aux différents interlocuteurs. Ceux-ci suivraient la progression de la maladie sur de petites surfaces. L'année suivante, le matériel resté sain serait replanté et suivi dans les mêmes conditions. L'élimination du matériel végétal devenu virosé pourrait se faire peu après la plantation à une période où les symptômes sont évidents et où les pieds sont faciles à éliminer. (En milieu paysan, les maniocs ainsi retirés peuvent être remplacés par d'autres maniocs, voire par d'autres plantes). Des éradications répétées sont inutiles, l'essentiel de la contamination étant de type primaire (Fargette et al., Proc. 3d Internat. Work. of Epidemiol. Plant. Viruses. VII 19-21).

Un tel projet est, selon nous, scientifiquement fondé. Est-il pour autant réalisable? Plusieurs difficultés, d'ordre théorique et pratique, apparaissent. Une telle méthode repose sur l'assurance en une réinfection limitée des parcelles, assortie de l'éradication périodique des pieds malades. Faute de quoi, les surfaces de maniocs initialement saines se recontaminent progressivement. Il est évidemment difficile, sur la base d'expériences nécessairement limitées, d'extrapoler les résultats acquis à d'autres régions et à d'autres périodes. A ces incertitudes s'ajoutent la méconnaissance de l'épidémiologie de la Mosaïque du manioc en culture associée. Les résultats préliminaires obtenus suggèrent que les épidémies peuvent s'y développer de façon différente, plus rapidement parfois, qu'en monoculture (Fargette et al. Asp. Appl. Biol. 17, 195-202). Le contrôle de la Mosaïque africaine du manioc par l'emploi de mesures prophylactiques comporte donc un risque: risque d'une épidémie inattendue, risque d'une carence dans la surveillance des parcelles... Est-il donc souhaitable de proposer en milieu paysan une méthode de lutte qui comporte une part, fut-elle minime, de risque ?

En pratique, peut-on réaliser un tel essai pluri-national et, dans l'affirmative, quelles en sont les modalités? Il faut identifier les interlocuteurs compétents et disposer de

moyens financiers nécessaires à la multiplication et au transfert du matériel végétal, aux déplacements... Ces conditions ne sont pas nécessairement rédhibitoires mais chacun sait les difficultés auxquelles on se heurte dans la réalisation de tels essais en Afrique. Une possibilité consisterait à exploiter les possibilités du Réseau Manioc dont l'animation a été confiée à l'Orstom. D'autre part, il reste à définir si la réalisation de tels essais, très proches en fin de compte du développement, relèvent effectivement du travail de l'Orstom ou bien si les structures de développement ou les organismes internationaux comme la FAO ne sont pas plus à même d'en assurer la charge. Enfin, faut-il conduire une telle étude de façon isolée? N'est-il pas préférable au contraire de mener une telle opération de concert avec l'étude de la résistance du manioc à d'autres ravageurs? Ces questions devront être résolues avant qu'une décision définitive ne soit prise. En tout état de cause, et afin d'éviter une trop grande dispersion des programmes, il nous faudra décider des méthodes de lutte contre la Mosaïque du manioc auxquelles notre programme s'attachera en priorité.

4.5. L'Enroulement de la tomate. L'Enroulement de la tomate a fait l'objet de collaborations entre le laboratoire d'Amélioration des plantes maraîchères de l'INRA de Montfavet, le laboratoire de la faculté d'Agriculture de Rehovot et plusieurs laboratoires de pays du Moyen-Orient. Cette collaboration a permis la détection du virus de l'Enroulement de la tomate dans de nombreux pays méditerranéens et du Moyen-Orient. Cette collaboration a aussi permis de dégager plusieurs géniteurs de résistance et de commencer un programme de sélection au Moyen-Orient et en Afrique soudano-sahélienne. Nous envisageons dans ce projet d'étendre cette étude aux pays d'Afrique de l'Ouest où cette maladie sévit aussi.

Les travaux de sélection ont porté sur l'introduction séparée des résistances de *Lycopersicon peruvianum* et de *L. pimpinellifolium* à du matériel plus proche de la tomate cultivée. Le programme de sélection a débuté avec des "cribles" au Liban et en Egypte puis s'est élargi à d'autres pays méditerranéens (Jordanie, Chypre, Tunisie). L'idée est de poursuivre l'évaluation du matériel résistant dans des pays d'Afrique de l'Ouest. Il faut souligner que le travail entrepris est de longue haleine car les géniteurs intéressés sont relativement éloignés de la tomate cultivée et que les résistances mises en évidence sont probablement polygéniques.

Comme nous l'avons indiqué dans le paragraphe 3.3, la caractérisation de (ou des) agents pathogènes responsables de l'Enroulement de la tomate sera entreprise. Dans le cadre des méthodes de lutttes sont prévues l'évaluation du matériel végétal par nos interlocuteurs au Sénégal et au Burkina-Faso et si possible aussi la recherche des nouvelles sources de résistance dans l'espoir de créer des géniteurs porteurs d'une résistance stable.

4.6. Les autres maladies. Les connaissances sur les agents pathogènes des autres maladies sont presque inexistantes. Aussi n'est-il pas surprenant que les sources de résistance soient mal connues. Le cotonnier semble faire exception: les programmes de sélection menés par l'IRHO ont permis, semble t-il, de réduire sensiblement l'impact des deux maladies transmises par aleurodes, la Mosaïque et l'Enroulement du cotonnier. Les plantes vivrières n'ont pas fait l'objet de tels programmes d'amélioration contre des maladies virales. Nos correspondants au Sénégal et au Burkina-Faso ont pour tâche de repérer, au cours de leurs missions de prospection, si il existe, parmi le matériel infecté, des sources apparentes de résistance. Un "screening" des variétés vis à vis de maladies particulièrement importantes est aussi envisagé.

Le laboratoire de virologie de l'Orstom, en collaboration avec celui de génétique, a débuté un programme d'étude des mécanismes de résistance à l'Enroulement du gombo. Plusieurs sources de résistance, intra et interspécifiques ont été introduites dans des variétés de consommation courante. Cependant cette collaboration n'a pas pu aboutir, faute de tests de détection appropriés. En effet, l'évaluation précise des comportements des parents, puis celle des hybrides de première et de deuxième génération, s'est avérée impossible sur la seule base des symptômes. Les symptômes de l'Enroulement du gombo, contrairement à ceux de la Mosaïque africaine du manioc, se révèlent trop hétérogènes pour permettre une appréciation fiable du comportement des variétés. Les tests de détection évoqués dans le paragraphe 3.2 ouvrent de nouvelles possibilités. Une poursuite des travaux est donc à envisager.

4. CONCLUSION

Ce document suscite trois remarques auxquelles je souhaite répondre en conclusion. Ce texte est long; nous l'avons voulu en effet suffisamment précis pour qu'il contienne le détail de chacun des programmes soumis à la CEE et présentés en annexe, qu'il retrace les interactions entre les différents volets et souligne les collaborations qui en découlent et qu'il fasse ressortir la logique scientifique qui soutend le projet.

De nombreux sujets de recherche sont envisagés dans ce texte. Dans quelle mesure pourront-ils être réalisés dans le cadre d'un projet de trois ans? Si, comme nous l'avons souligné, un choix aura lieu à propos de quelques opérations, nous sommes persuadés que l'essentiel des propositions sera effectivement mené à bien. Il faut rappeler à ce propos que plusieurs des travaux sont en fait la poursuite, l'approfondissement ou l'achèvement de recherches menées antérieurement. Ensuite, les moyens dont bénéficie ce projet dépassent largement ceux qui lui sont fournis par la CEE. Le coût de ce projet est en fait partagé avec l'Orstom, l'ODNRI, l'ODA et le SCRI qui assurent le salaire de la plupart des chercheurs et financent déjà plusieurs des opérations évoquées.

Nous avons souligné à plusieurs reprises que des orientations et des choix auront lieu. Ils seront dictés par le développement des différents travaux, de ceux menés dans le cadre de notre programme naturellement, mais aussi de ceux issus d'autres projets susceptibles d'avoir des conséquences pour nous. Les bilans et les évaluations envisagés exigent une coordination étroite des programmes et demandent une bonne communication entre les différents participants. Nous nous y attacherons. Ainsi une réunion générale des participants est-elle prévue à l'occasion du 4ème Colloque International d'Epidémiologie des Virus de Plantes (Montpellier 3-8 septembre 1989). Ce colloque, au cours duquel une attention particulière sera portée aux plantes tropicales en général et aux maladies transmises par aleurodes en particulier, sera l'occasion de faire, peu après la mise en place des programmes, un premier bilan des résultats, d'évoquer les difficultés rencontrées et de préciser les collaborations nécessaires pour les surmonter.

6. ANNEXE

(présentation scientifique du projet dans les formulaires remis à la CEE).

Notre programme comprend trois volets. Les deux premiers débiteront en 1988 et sont relativement autonomes. Il s'agit du volet virologique intitulé "Inventaire et identification des virus" et du volet entomologique "Biologie et écologie de *Bemisia tabaci*". Le calendrier de réalisation du troisième volet "Epidémiologie et contrôle" dépendra largement de l'état d'avancement des deux premiers.

1. Identification des virus: (Côte d'Ivoire, Sénégal, Burkina Faso, Togo...; Ecosse). Notre programme comprend l'étude de l'ensemble des maladies virales transmises par aleurodes en Afrique de l'Ouest mais sera particulièrement centré sur les gémiovirus dont l'étiologie est la plus mal connue et qui paraissent provoquer les maladies les plus graves. On étudiera dans une première phase les maladies déjà signalées. On s'attachera ainsi à identifier l'agent causal de l'Enroulement de la tomate, ceux de l'Enroulement du gombo, de la Mosaïque du tabac et du cotonnier et à caractériser les différentes souches de la Mosaïque africaine du manioc. Les autres maladies repérées au cours des prospections seront étudiées.

a) L'inventaire des maladies virales transmises par mouches blanches en Afrique de l'Ouest se fera sur la base d'enquêtes. Des prospections permettront d'établir une "cartographie" de ces maladies, aussi bien de celles déjà signalées que de celles qui seront mises en évidence au cours du programme.

b) La réalisation de ces inventaires dépendra pour une large part de la création d'outils virologiques de détection. La mise au point de tests, très sensibles et spécifiques des gémiovirus, constitue donc une priorité.

c) Des échantillons seront ramenés des prospections, multipliés et purifiés puis caractérisés. Les relations entre les différents isolats, souches et virus seront étudiées.

d) Lorsque les échantillons seront prélevés dans des pays d'Afrique de l'Ouest autres que la Côte d'Ivoire (et le Sénégal), le virus sera multiplié et étudié dans la mesure du possible dans les structures locales puis sera envoyé au SCRI pour des études complémentaires. L'association avec le SCRI situé au nord de l'Europe permet d'éviter les risques de contamination accidentelle.

2. Biologie de Bemisia tabaci : (Côte d'Ivoire). L'écologie et la biologie de Bemisia tabaci sur manioc fait l'objet d'un programme d'étude détaillé en Côte d'Ivoire établi par l'ORSTOM et l'ODNRI. Cette étude pourra servir de modèles à d'autres plantes.

a) Le Laboratoire de Biomodélisation s'attachera, dans un premier temps, à clarifier les points délicats de méthodologie et à établir les stratégies d'échantillonnage. Dans une deuxième temps, si l'état d'avancement des travaux le permet, un modèle de dynamique des populations d'aleurodes sera construit et articulé avec le développement des maladies.

b) Une étude détaillée du cycle biologique de Bemisia tabaci, principal vecteur de la Mosaïque du manioc sera réalisée et s'attachera à définir la fécondité, la durée des différents stades de développement, l'effet des conditions climatiques sur le développement des populations, les causes de mortalité et les variations de ces caractéristiques au cours du temps et en fonction du développement de la plante hôte.

c) L'importance de Bemisia hancocki espèce proche de Bemisia tabaci et susceptible de jouer un rôle dans la transmission de la maladie sera établie. Une étude des fluctuations saisonnières de chaque espèce sur la base des caractéristiques larvaires sera mise en oeuvre. La mise au point de cultures pures de chaque espèce permettra de préciser leur importance relative dans la dissémination des maladies virales.

d) Les parasites et les prédateurs naturels des aleurodes seront identifiés. L'étude de leur impact sur la dynamique des populations permettra de tester la possibilité de les utiliser en lutte biologique. Les autres causes de variation de la densité de population seront aussi recherchées.

e) L'évaluation de l'activité du vecteur se fera à l'aide de piégeages (aspiration, glu, filets et pièges à eau...) et permettra de quantifier les vols immigrants, émigrants et internes d'une culture. Les changements phénologiques du vecteur en relation avec la croissance de la plante seront aussi étudiés.

f) L'étude des réservoirs naturels de vecteur et de virus sera entreprise. On étudie-

ra tout particulièrement si il existe des biotypes d'aleurodes inféodés à certaines espèces de plantes.

3. Méthodes de lutte: (Côte d'Ivoire, Sénégal, Burkina Faso). Ce troisième volet bénéficiera des informations et des techniques obtenues au cours des parties 1 et 2 et son calendrier d'exécution sera donc fonction de leur état d'avancement.

a) Pour chaque maladie les caractéristiques de la transmission seront établies et le pouvoir virulifère des groupes d'aleurodes sera déterminé. Une étude plus fondamentale du mécanisme de transmission des virus par aleurodes sera entreprise au SCRI.

b) La création d'outils virologiques de détection permettra de résoudre des points essentiels relatifs à l'épidémiologie et à la résistance variétale. Ils faciliteront en particulier l'identification des réservoirs de ces virus et permettront l'évaluation et la sélection de variétés résistantes ou tolérantes.

c) Le Laboratoire ORSTOM-Adiopodoumé dispose actuellement d'un modèle épidémiologique d'une maladie transmise par aleurode, la Mosaïque africaine du manioc. La participation du Laboratoire de Biomodélisation permettra d'affiner ce modèle et de l'articuler avec les connaissances relatives à la dynamique des populations d'aleurodes.

d) L'étude de l'épidémiologie des autres maladies s'appuiera sur ce modèle et sur les résultats de l'étude de la biologie du vecteur mais sera plus directement en rapport avec les perspectives de lutte. Pour chaque maladie on cherchera à définir les périodes et les zones "à risque". Leur connaissance permettra de décider des stratégies de lutte à mettre en oeuvre.

e) L'influence de certaines pratiques culturelles sera testée. En tout état de cause, quelle que soit la stratégie de lutte retenue, l'utilisation de variétés résistantes ou tolérantes en constituera vraisemblablement l'élément essentiel. Aussi l'accent est-il mis dans notre programme sur l'étude des mécanismes de résistance et sur leur utilisation pratique. Seront donc poursuivis les travaux entrepris à l'INRA de Montfavet concernant le déterminisme génétique de la résistance et la création de variétés résistantes à l'Enroulement de la tomate. Le comportement des variétés, vis à vis d'autres maladies transmises par aleurodes, sera évalué chez d'autres plantes et tout particulièrement dans les collections de manioc et de gombo des laboratoires de génétique de l'ORSTOM d'Adiopodoumé.

RAPPORT SEMESTRIEL #1

Mars 1989 -Août 1989

INTRODUCTION

Selon l'article 4.2 a de l'Annexe 1 des projet CEE/STD, les "rapports périodiques" -semestriels- que doit remettre le coordonnateur ont un double objectif.

- a) "Ils décriront, pour chaque période indiquée dans le contrat, les travaux et recherches effectués ainsi que les résultats obtenus au cours de ladite période."
- b) "Ils préciseront les modifications intervenues dans le plan de travail au cours de la période de référence ainsi que celles à apporter dans le plan de travail de la période suivante."

Aucune indication n'est donnée sur le mode de présentation du rapport. Une certaine latitude étant donc laissée au responsable du projet pour atteindre ce double objectif, nous avons voulu que ce rapport donne aussi une vue synthétique, concise et précise des travaux effectués. J'explicite, dans le paragraphe suivant, le mode de présentation retenu pour y parvenir. Si un tel mode de présentation est jugé satisfaisant par le lecteur, nous l'adopterons pour les rapports semestriels suivants.

ORGANISATION DU RAPPORT

Ce rapport est constitué de deux parties principales:

--- (1) dans l'une, intitulée "Déroulement du Programme", je fais état des "modifications intervenues dans le plan de travail" et plus généralement, je retrace la mise en place du projet, je rappelle les changements essentiels survenus relatifs à l'organisation du programme et j'explicite les solutions adoptées.

--- (2) Dans l'autre, intitulée "Résultats Scientifiques", je "décris les recherches effectuées et les résultats obtenus". En fait, j'ai adopté pour la description des résultats scientifiques une présentation en "trois temps", centrée sur le document présent et étayée par des documents supplémentaires:

(a) Une présentation concise. Le lecteur trouvera dans ce rapport les résultats essentiels présentés en quelques lignes, ce qui lui permettra de se faire immédiatement une idée de l'avancement des travaux. Cette partie a été conçue pour se lire de façon indépendante. Cependant pour plus de précisions, le lecteur aura intérêt à se reporter aux documents joints en annexe.

(b) Un document de synthèse. Ce texte intitulé "Programme Scientifique du Projet CEE" est en fait une présentation générale du programme, complément détaillé des formulaires remis à la CEE lors de la proposition du projet. Il s'efforce de faire ressortir le fil conducteur des recherches et donne la justification, la logique et l'articulation des travaux à mener et des collaborations à établir. Ce document a été soumis à l'ensemble des participants avant le début du projet, permettant ainsi d'incorporer leurs avis et re-

marques; en outre, certains chapitres ont été revus par des spécialistes. Le lecteur pourra se référer à ce document de synthèse si il a besoin de remettre "en situation" tel ou tel résultat. s'il cherche plus de précisions sur la justification de telle ou telle étude ou s'il s'interroge sur les relations entre différents volets des recherches. Ce texte donné en annexe I sera un document de référence pour tous les rapports semestriels.

(c) Des documents complémentaires. Il peut s'agir de rapports de missions, de compte-rendus de congrès, d'articles scientifiques, de rapports à usage interne... Ces textes décrivent de façon précise les travaux effectués: la méthodologie et la démarche expérimentale sont rapportés en détail, les résultats exhaustifs sont donnés, discutés de façon approfondie puis mis en relation avec d'autres études par des références bibliographiques. Le lecteur pourra s'y rapporter lorsqu'il a besoin de précisions sur un résultat particulier.

1. DEROULEMENT DU PROJET

La première phase du projet (mars-août 1989) a été marquée par la modification, au mois de mai, du statut administratif de la station de recherche d'Adiopodoumé (Côte d'Ivoire) qui entraîne l'arrêt, à court terme, des travaux d'entomologie et de virologie (de laboratoire et de terrain) qui y sont ou devaient y être conduits. A la suite de discussions avec les partenaires du projet, les responsables de l'ORSTOM et de la CEE, un nouveau schéma de travail permettant d'atteindre les objectifs fixés a été élaboré, proposé, puis adopté. Le schéma retenu prévoit:

1. Poursuite à Adiopodoumé, jusqu'en avril 1990, de l'étude de la biologie de *Bemisia tabaci*.
2. Localisation d'une autre station de recherche ORSTOM où seront poursuivis les travaux d'entomologie.
3. Transfert des travaux "de laboratoire" qui devaient se dérouler à Adiopodoumé et affectation du chercheur qui devait les réaliser au laboratoire de virologie du SCRI.
4. Signature d'un sous-contrat avec le virologue Ivoirien chargé des recherches de virologie "de terrain", dès que la situation administrative de celui-ci aura été clarifiée. A défaut, les sous-contrats avec nos partenaires Burkinabé et Sénégalais seront étendus.

Les sous-contrats avec nos autres partenaires (ISRA, INERA, INRA, CIRAD) ne sont pas affectés par les changements intervenus à Adiopodoumé. Cependant, pour diverses raisons administratives, la signature prévue en avril des sous-contrats n'aura pas lieu avant la fin du mois d'août. Tous les sous-contrats devraient être signés au cours du mois de septembre. Signalons un retard du même ordre en ce qui concerne le "contrat associé" du SCRI.

Enfin, les participants du projet participeront au 4ème Colloque International d'Epidémiologie Virale qui se tiendra à Montpellier du 1 au 9 septembre à Montpellier et où une session spéciale est consacrée aux maladies transmises par aleurodes. La participation à ce colloque de nos partenaires africains a été financée par un crédit spécial que nous avons obtenu du CTA. Nous avons prévu une journée supplémentaire pour tous les partenaires du projet CEE. Cette réunion sera l'occasion de dresser un premier bilan des résultats obtenus et de préciser les travaux et les collaborations à venir.

2. RESULTATS SCIENTIFIQUES

La première phase du projet comprend essentiellement des travaux d'entomologie et de virologie. Les travaux d'entomologie ont été réalisés à Adiopodoumé (Côte

d'Ivoire) par trois chercheurs L. Fishpool (chargé de recherche ODNRI, en poste à l'ORSTOM), C. Burban (allocataire de recherche ORSTOM) et J. Abisgold (chargé de recherche ODNRI). Certains des travaux de virologie ont été réalisés au cours de la mission que j'ai effectuée à Adiopodoumé du 7 au 17 mai. J'ai aussi réalisé un travail en collaboration avec les départements de virologie et de statistiques du SCRI.

Les travaux sont présentés selon le plan du document de synthèse donné en annexe 1. Ainsi, les résultats sont regroupés sous les mêmes têtes de chapitres, avec la même nomenclature (rappelée après le titre) et selon le même enchaînement. Les résultats sont complétés par le (ou les) documents indiqués par la mention "*pour plus de précisions se rapporter à l'annexe X*".

Epidémiologie des maladies/Développement de la maladie dans l'espace. (2.2. Annexe 1). L'étude approfondie des vols des aleurodes dans les champs de manioc a été poursuivie. Il s'agissait (a) d'étudier l'activité des aleurodes au cours de la journée; (b) de déterminer, par différentes méthodes de piégeage, la hauteur et la direction du vol; (c) d'examiner les relations entre l'activité de l'insecte et différents facteurs climatiques (intensité et direction du vent, température ambiante...).

Les résultats acquis confirment et précisent les conclusions antérieures. Lorsque le manioc est jeune (moins de trois mois), la plupart des aleurodes sont capturés dans les 3 à 4 heures qui suivent le lever du jour, à une période où la température et la vitesse du vent sont faibles. Enfin, il se confirme que l'âge du manioc a une importance déterminante: les populations diminuent passées trois mois et l'activité des aleurodes est modifiée. Il est possible que se produise alors des mouvements de type migratoire.

Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 2.

Epidémiologie des maladies/Développement de la maladie au cours du temps (2.3. Annexe 1). L'étude de la dynamique de population de *Bemisia tabaci* est poursuivie. De nouvelles données sur la vitesse de développement et le taux de mortalité de chaque stade, la distribution à l'intérieur de la plante et l'évolution des populations dans le temps ont été acquises. Les mensurations morphométriques ont révélé qu'on peut distinguer les sexes au dernier stade larvaire.

Pour plus de précisions se rapporter aux annexes 6 et 7.

Epidémiologie des maladies/Etude des réservoirs de virus et de vecteur (2.4. Annexe 1).

a) La recherche de réservoirs de la Mosaïque africaine du manioc parmi les plantes adventices a été réalisée à l'aide d'anticorps monoclonaux utilisés selon la méthode ELISA indirecte dite du "triple-sandwich". Ces études ont confirmé que le rôle des plantes adventices dans l'épidémiologie de la maladie est vraisemblablement très réduit et que c'est donc la culture de manioc elle-même qui est le principal réservoir de virus.

L'utilisation d'anticorps monoclonaux a permis de réduire le taux de "faux positifs" enregistré au cours d'études comparables menées avec des anticorps polyclonaux. Quatre échantillons ont réagi positivement dans nos essais avec les anticorps monoclonaux. Cependant, l'isolement du virus par transmission mécanique n'ayant pas été possible, il n'est pas possible de conclure avec certitude que nous avons effectivement affaire à la Mosaïque africaine du manioc dans ces quatre cas.

Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 4.

b) La recherche des réservoirs de vecteurs de l'aleurode *Bemisia tabaci* est conduite selon une approche originale. On étudie, par l'analyse des profils estérasiques et

par la caractérisation des gammes d'hôtes, si il existe des races de *B. tabaci* inféodées à des plantes hôtes particulières. L'ensemble des résultats obtenus tend à démontrer qu'il existe en Basse Côte d'Ivoire deux types de *B. tabaci* ayant des comportements différents vis à vis de leurs plantes hôtes. Un premier type se développerait sur un grand nombre de plantes hôtes, mais non sur manioc; un second type serait inféodé au genre *Manihot*. Il semble, de plus, que le principal réservoir de *B. tabaci* vecteur de la Mosaïque africaine du manioc soit le manioc lui-même.

Ces travaux sont poursuivis. La confirmation de l'existence de plusieurs biotypes inféodés à des gammes de plantes hôtes différentes permettrait une compréhension plus fine, non seulement de la Mosaïque africaine du manioc, mais aussi de celles d'autres maladies virales transmises par aleurodes et des relations écologiques qu'elles entretiennent. *Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 3.*

Identification et caractérisation des agents pathogènes/Etudes des souches et de leur variabilité (3.5. Annexe 1). Nous avons appliqué les analyses statistiques multivariées à l'étude de la variabilité sérologique des gémiviruses associés à la Mosaïque du manioc. Ces analyses s'avèrent utiles pour grouper les isolats de virus (classification hiérarchique ascendante), pour montrer la variation à l'intérieur et entre les groupes (analyses en composantes principales), pour illustrer les relations entre les différents types de réaction des anticorps monoclonaux (analyses en composantes principales) et pour sélectionner les anticorps nécessaires à la discrimination des groupes (analyse discriminante). Ces méthodes confirment et affinent les interprétations antérieures des données. Elles permettent une illustration claire et précise des relations entre les souches et entre les isolats; elles sont suffisamment puissantes pour permettre, à l'avenir, l'analyse d'un plus grand nombre d'isolats ou de virus.

Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 5.

Méthodes de lutte/La mosaïque Africaine du manioc (4.2. Annexe 1). La concentration en virus de la collection de variétés de manioc réunie par C. Fauquet à la station expérimentale d'Adiopodoumé a été réévaluée. Du point de vue pratique, nous avons trouvé plusieurs variétés de manioc sans symptôme et sans virus, en dépit de plusieurs années consécutives d'exposition à de fortes pressions d'inoculum. Ces variétés sont des variétés améliorées au cours des programmes de sélection en Afrique de l'Est, au Kenya ou en Afrique de l'Ouest, à l'ITA. Ce résultat, si il se confirme, suggère que des plants de manioc de variétés hautement résistantes peuvent être cultivés, indemnes de virus, en Afrique de l'Ouest, même exposés à de fortes pressions d'inoculum.

Du point de vue théorique cette étude confirme que la relation entre la teneur en virus d'une variété et l'intensité des symptômes qu'elle extériorise est complexe. Des études complémentaires dans lesquelles les teneurs en virus seraient dosées au cours du temps, en plein champ et en conditions contrôlées, seraient nécessaires pour mieux comprendre le comportement des variétés résistantes et notamment de celles issues de croisement interspécifiques.

Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 4.

Méthodes de lutte/Les autres maladies (4.6. Annexe 1). Sont présentés dans ce paragraphe des résultats préliminaires qui ont été acquis avant le début du projet. Nous avons cru nécessaire de les inclure dans ce rapport car ces études seront approfondies par la suite en Côte d'Ivoire dans le cadre du projet CEE par notre collègue virologue Ivoirien. Ces études sont consacrées à l'Epidémiologie de l'Enroulement du Gombo et à l'étude des mécanismes de résistance.

Pour plus de précisions de rapporter à l'annexe 8.

CONCLUSION GENERALE

Les résultats exposés montrent le bon déroulement des programmes. Nous nous attacherons à ce que les travaux d'entomologie puissent se poursuivre dans d'aussi bonnes conditions après la fermeture du centre d'Adiopodoumé en avril 1990. En dépit des modifications survenues à Adiopodoumé, j'ai pu mener, en Côte d'Ivoire et au SCRI, les travaux de virologie. La réorganisation du projet maintenant achevée, la réalisation, dans des conditions satisfaisantes, des travaux de virologie de laboratoire est donc possible. Enfin, le début des "sous-contrats" et du "contrat associé" au mois de septembre marquera l'extension du projet.

LISTE DES ANNEXES

Document de synthèse

(1) Fargette, D. 1988. Les maladies virales transmises par aleurodes en Afrique de l'Ouest. Programme scientifique du projet CEE. Rapport ORSTOM multigraphié. 27 pp.

Documents complémentaires

- (2) Abisgold, J.D. 1989. A detailed investigation of the flight activity of the whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.) on cassava in Côte d'Ivoire. Comptes-Rendus du 4ème Colloque International d'Epidémiologie Virale. 2-9 septembre 1989. Montpellier. France. pp 265-267.
- (3) Burban, C., Fishpool, L.D.C. & Abisgold, J.D. 1989. Caractérisation des populations de *Bemisia tabaci* en fonction des plantes hôtes: recherche de marqueurs électrophorétiques et transferts d'hôtes. Comptes-Rendus du 4ème Colloque International d'Epidémiologie Virale. 2-9 septembre 1989. Montpellier. France. pp 267e-267h.
- (4) Fargette, D. 1989. Rapport de la mission effectuée à l'IIRSDA (Adiopodoumé, Côte d'Ivoire) du 7 au 17 mai 1989. Rapport ORSTOM multigraphié. 15 pp.
- (5) Fargette, D., P.F. McGrath, J.W. McNicol, M.M. Aiton and B.D. Harrison. 1989. Multivariate analysis of antigenic variation among geminivirus isolates associated with cassava mosaic disease. Comptes-Rendus du 4ème Colloque International d'Epidémiologie Virale. 2-9 septembre 1989. Montpellier. France. pp 280-283.
- (6) Fishpool, L.D.C., Burban, C. & Abisgold, J.D. 1989. Ecological studies on the immature stages of the whitefly *Bemisia tabaci* on cassava. Comptes-Rendus du 4ème Colloque International d'Epidémiologie Virale. 2-9 septembre 1989. Montpellier. France. pp 267a-267d.
- (7) Fishpool, L.D.C. & Burban, C. 1989. Report on activities March to August 89 of the Entomological section of the EEC project (N° TS2A0137C) "Whitefly transmitted plant diseases in West Africa". Rapport ORSTOM multigraphié. 3 pp.
- (8) N'Guessan, P.N. Fargette, D., Fauquet, C. & J-C. Thouvenel. 1989. Some aspects of the epidemiology of Okra leaf curl in Côte d'Ivoire. Comptes-Rendus du 4ème Colloque International d'Epidémiologie Virale. 2-9 septembre 1989. Montpellier. France. 4 pp.

Programme scientifique du projet CEE

Novembre 1988

Dennis Smith.

SOMMAIRE

1. PRESENTATION GENERALE DU PROJET

- 1.1. Introduction
- 1.2. Objet du document
- 1.3. Objectifs du projet
- 1.4. Unité thématique
- 1.5. Etudes pluridisciplinaires
- 1.6. Dimension régionale
- 1.7. Contenu scientifique du projet

2. EPIDEMIOLOGIE DES MALADIES

- 2.1. Introduction
- 2.2. Développement de la maladie dans l'espace
- 2.3. Développement de la maladie au cours du temps
- 2.4. Etude des réservoirs de virus et de vecteurs

3. IDENTIFICATION ET CARACTERISATION DES AGENTS PATHOGENES

- 3.1. Introduction
- 3.2. Mise au point des techniques de détection
- 3.3. Inventaire des virus
- 3.4. Caractérisation des agents pathogènes
- 3.5. Etude des souches et de leur variabilité
- 3.6. Mécanismes de transmission

4. METHODES DE LUTTE

- 4.1. Introduction
- 4.2. La Mosaïque africaine du manioc
- 4.3. Relations avec le projet "Cassava-trans"
- 4.4. Application des mesures prophylactiques
- 4.5. L'Enroulement de la tomate
- 4.6. Les autres maladies

5. CONCLUSION

6. ANNEXE

1. PRESENTATION GENERALE DU PROJET

1.1. Introduction. Le projet intitulé "les maladies virales transmises par aleurodes en Afrique de l'Ouest", soumis par l'Orstom en février 1988, a été retenu par la Commission des Communautés Européennes. Y sont réunies des équipes appartenant à sept organismes de recherche (Orstom, ODNRI, SCRI, ISRA, INERA, CIRAD, INRA) et implantées dans cinq pays (Côte d'Ivoire, Grande-Bretagne, Sénégal, Burkina-Faso, France). Ce projet pluridisciplinaire, qui dispose d'un budget d'un peu plus de deux millions de francs, rassemble pour une période de trois ans, des virologues, des entomologistes, des généticiens et des mathématiciens. Le projet débutera le 1er janvier 1989 pour l'Orstom et le premier avril pour les autres participants. Il doit s'achever le 1er avril 1992. L'Orstom, à titre de "proposant principal", a la responsabilité scientifique et administrative de ce programme. Si chacune des équipes engagées possède une expérience approfondie dans son domaine de compétence, il revient à l'Orstom d'articuler les programmes, de coordonner les efforts, de susciter les collaborations, bref d'animer ce projet.

1.2. Objet du document. Le bon déroulement du programme nécessite l'attention de tous, notamment de celle des responsables de l'Orstom et des coordinateurs scientifiques du projet. J'ai eu l'occasion de travailler, seul ou en collaboration, dans chacune des disciplines impliquées, je connais personnellement les responsables des équipes associées et nous avons, mon collègue Fishpool et moi-même, longuement réfléchi à la mise en oeuvre du programme. Encore nous faut-il, pour réussir l'animation de ce projet, bénéficier de l'aide de nos responsables scientifiques et nous assurer de l'appui de nos supérieurs hiérarchiques, à charge pour nous de les informer régulièrement et précisément et de tirer profit de leurs instructions. Aussi ai-je rédigé ce document: j'ai cherché à réunir les informations essentielles à la compréhension du programme, je retrace "l'historique" du projet et je m'efforce d'en faire ressortir le "fil conducteur". Les formulaires remis à la CEE dont vous avez eu connaissance (jointes en annexe à ce document) fixent les orientations générales des programmes mais ne détaillent pas les travaux à conduire. Ce texte envisage plus précisément comment les objectifs fixés pourront être atteints et présente un plan d'ensemble pour y parvenir. Il détaille les opérations qui seront conduites et discute celles qui seraient susceptibles de l'être. Enfin, il établit sous quelles formes les travaux des différentes équipes pourraient, par une coordination réfléchie, bénéficier les uns aux autres afin de faire progresser au mieux l'ensemble des activités.

Il ne s'agit évidemment pas de présenter ici une liste exhaustive et définitive de tout ce qui sera ou doit être réalisé. Ce texte est conçu

plutôt comme une proposition; ainsi il accueillera les conseils, remarques et critiques que vous voudrez bien formuler. Le projet lui-même reste ouvert et sera sujet à des évolutions, des infléchissements et des modifications, conséquences inévitables du déroulement des différents programmes, au gré des résultats acquis et des difficultés apparues. Ce texte n'en est pas moins important. Par la vue d'ensemble qu'il s'efforce de donner, il sera utile à la mise en place du programme et à la coordination des différentes activités. Je souhaite donc qu'il retienne l'attention des responsables scientifiques de l'Orstom. Aussi vous serais-je vivement reconnaissant si vous pouviez me faire connaître votre jugement sur tout ou partie de ce texte et plus généralement me donner votre avis sur la conduite à tenir pour ce programme.

1.3. Objectifs du projet. Deux documents ont servi de support de réflexion lors de l'élaboration du projet. Il s'agit de "l'Inventaire des Virus de Côte d'Ivoire" (Collection Orstom Initiations et Documentation techniques n°46, Fauquet & Thouvenel, mars 1987, 243 pp) et des "Actes du séminaire International sur la Mosaïque africaine du manioc" (Collection Colloques et Séminaires ORSTOM/CTA, Fauquet & Fargette, juin 1988, 278 pp). Le premier document fait ressortir l'importance économique des maladies transmises par aleurodes, tout en soulignant le peu de connaissance dont on dispose à leur égard, exception faite de la Mosaïque du manioc. Le second propose un bilan sur cette dernière maladie et suggère les orientations à suivre à l'avenir. Nous souhaitons donc poursuivre les travaux sur la Mosaïque du manioc en tenant compte des conclusions émises et élargir notre étude aux autres géminivirus moins connus. Nous avons voulu que ce projet se caractérise par:

- Une unité thématique.
- Des études pluridisciplinaires.
- Une dimension régionale.

Ce canevas retenu (unité thématique, études pluridisciplinaires, dimension régionale, coopération nord/sud) répondait, nous semble-t-il, aux orientations contenues dans les directives de la Commission des Communautés Européennes. Aussi avons-nous cherché à bénéficier d'un appui de la CEE et avons-nous présenté le projet intitulé "Les maladies virales transmises par aleurodes en Afrique de l'Ouest".

1.4. Unité thématique. Soulignons d'abord que le titre du projet "Les maladies virales transmises par aleurodes en Afrique de l'Ouest", par souci de brièveté, est incomplet. C'est aux virus transmis par aleurodes du groupe des géminivirus auxquels nous nous intéressons ici. Si de nombreux résultats relatifs à l'étiologie et à l'épidémiologie de la Mosaïque africaine du manioc sont disponibles, (presque) tout reste à faire avec les autres géminivirus. Or l'étude de ces géminivirus moins connus peut

bénéficier, nous en sommes convaincus, des connaissances acquises avec la Mosaïque du manioc. Deux exemples, choisis l'un en relation avec le vecteur, l'autre avec le virus illustrent notre propos. Un travail exhaustif sur la biologie de *Bemisia tabaci* en conditions tropicales est prévu. Dans le paragraphe 2.1, on envisage comment cette étude, menée initialement sur manioc, bénéficiera à d'autres maladies. Les géminivirus transmis par aleurodes présentent des relations sérologiques étroites. Dans le paragraphe 3.2, on met à profit ces relations lors de l'étude de virus nouveaux ou insuffisamment caractérisés. C'est ce souci de complémentarité qui nous a amené à élargir notre travail sur la Mosaïque africaine du manioc aux autres géminivirus et à proposer une étude globale de ces maladies.

1.5. Etudes pluridisciplinaires. Les problèmes abordés exigent une collaboration étroite entre virologues et scientifiques d'autres disciplines. Ainsi virologues et entomologistes sont réunis ici pour comprendre le développement des maladies. Les généticiens impliqués dans le projet s'attacheront, toujours en association avec les virologues, à la mise en place de méthodes de lutte basées sur l'utilisation de la résistance. Les progrès récents de la biologie moléculaire ont eu des répercussions importantes en virologie: ainsi des groupes de virus nouveaux, tel celui des géminivirus, ont-ils pu être étudiés. Nous avons donc intégré dans notre projet un laboratoire disposant de ces techniques et familier des géminivirus. Enfin, l'application des mathématiques à la biologie a ouvert des perspectives nouvelles en phytopathologie et nous avons associé des mathématiciens à notre projet.

1.6. Dimension régionale. Si les maladies virales transmises par aleurodes sont peu connues en Côte d'Ivoire, elles le sont moins encore dans la plupart des autres pays d'Afrique de l'Ouest. Nous avons donc voulu donner une dimension régionale à notre projet et nous avons associé des équipes de deux de ces pays, le Sénégal et le Burkina-Faso. Du coup, les problèmes dus à ces maladies seront étudiés dans des régions climatiques entièrement différentes permettant ainsi, nous l'espérons, des comparaisons intéressantes.

1.7. Contenu scientifique du projet. Les différents travaux sont regroupés dans ce document en trois chapitres intitulés respectivement, "épidémiologie des maladies", "identification et caractérisation des agents pathogènes" et "méthodes de lutte". Les deux premiers chapitres, "épidémiologie" et "caractérisation" sont en fait essentiellement le prolongement des activités antérieures de l'Orstom et du SCRI. Ainsi les études prévues dans le volet "épidémiologie" comprennent-elles l'approfondissement et l'élargissement, par de nouvelles approches et

souvent originales, des recherches menées par l'Orstom en Côte d'Ivoire de 1980 à 1987. De même, la recherche et la caractérisation de nouveaux géminivirus se poursuivra au SCRI, parfois à l'aide de techniques nouvelles. Le dernier volet "méthodes de lutte" a un statut particulier. Il faudra en effet, au cours du projet, procéder à des choix: choix des maladies, choix des méthodes de lutte. Ces choix, discutés dans ce document, seront dictés par les résultats obtenus dans les deux premiers volets, par les possibilités matérielles et par l'évolution d'autres programmes.

2. EPIDEMIOLOGIE DES MALADIES

2.1. Introduction. La Mosaïque africaine du manioc est vraisemblablement la maladie virale des plantes la plus grave en Afrique. Les pertes annuelles qui lui sont attribuées sont de l'ordre de 30 millions de tonnes (Fargette et al., Trop. Pest. M. 34, 89-91). A ce titre, l'essentiel des efforts lui a été consacré jusqu'à présent. Au laboratoire Orstom d'Adiopodoumé l'épidémiologie de la maladie a fait l'objet d'études approfondies de 1980 à 1987. Les études réalisées peuvent se regrouper en trois volets:

- Le développement de la maladie dans l'espace.
- Le développement de la maladie au cours du temps.
- L'étude des réservoirs de virus et de vecteurs.

Notre souci, au cours des programmes antérieurs, était de comprendre les facteurs clés qui régissent le développement des épidémies de la Mosaïque africaine du manioc et d'en déduire les méthodes de lutte à mettre en oeuvre. Or, ces études restaient inachevées. Si nous avons établi les caractéristiques principales des épidémies, nous n'avons pas réellement cerné l'ensemble des processus biologiques sous-jacents. Pour approfondir l'étude du développement de la maladie dans l'espace, au cours du temps et la recherche des réservoirs de virus et de vecteurs, nous avons décidé d'orienter nos efforts dans trois directions:

- Une étude de la biologie de *Bemisia tabaci*
- Une exploitation mathématique originale des données accumulées.
- L'application de nouvelles techniques de détection.

Avant de détailler, volet par volet, les travaux qui seront entrepris j'expose les raisons qui nous ont conduit à procéder à un tel choix.

De nombreuses caractéristiques du développement des épidémies virales reflètent des propriétés de la biologie de l'insecte vecteur. Une meilleure connaissance de la biologie de *B. tabaci* devrait logiquement conduire à une compréhension plus fine de l'épidémiologie. En outre, bien que ces travaux soient réalisés essentiellement sur manioc, ils

permettront aussi de mieux cerner l'épidémiologie d'autres maladies virales transmises par *B. tabaci*. Par exemple, nous savons dès à présent que le développement des épidémies d'Enroulement du gombo dans l'espace et au cours du temps présente des caractéristiques identiques à celles de la Mosaïque du manioc (gradients de contamination, fluctuation annuelle de la pression d'inoculum, variation régionales) (N'Guessan, 1986; 1987; rapports Orstom), conséquences respectives des mouvements et de la dynamique de population de l'aleurode vecteur.

Les travaux menés de 1980 à 1987 ont conduit à l'accumulation d'un grand nombre de données. Parallèlement, l'application à la biologie de nouvelles méthodes mathématiques a connu ces dernières années des développements intéressants en phytopathologie: certaines d'entre elles permettent une analyse plus poussée des données, d'autres ouvrent des perspectives nouvelles. Du coup, sont prévues dans le projet CEE, la poursuite des travaux entrepris et la mise en place de nouvelles collaborations.

Récemment, suite aux progrès de la biologie moléculaire, de nouvelles techniques de détection sont apparues en virologie végétale. La mise au point de tels tests avec les géminivirus est évoquée dans le paragraphe 3.2. Nous envisageons dans le paragraphe 2.5 comment ces techniques permettent d'aborder ou d'approfondir certains points de l'épidémiologie, mal compris jusqu'à présent, et tout particulièrement la recherche des réservoirs de virus.

2.2. Développement de la maladie dans l'espace. Il est caractérisé par des effets de bordure prononcés. La contamination est marquée par des gradients d'infection suivant un axe sud-ouest, direction du vent dominant (Fargette et al., Ann. Appl. Biol. 106, 285-294). La dispersion de la maladie à partir de foyers situés à l'intérieur des parcelles (contamination secondaire) se fait selon un processus différent, marqué par une diffusion limitée à quelques mètres, s'exprimant dans toutes les directions. L'essentiel de la propagation de la maladie a cependant pour origine la contamination primaire (Fargette et al., Proc. 3d Internat. Work. of Epidemiol. Plant. Viruses. VII 19-21). Une meilleure connaissance des mouvements de l'insecte en relation avec les caractéristiques du vent permettra de mieux comprendre la dispersion de ces viroses à l'échelle de la parcelle et de la région.

En fait, les processus biologiques à l'origine des épidémies ont été abordés dès 1986 dans un programme pluridisciplinaire où les travaux d'épidémiologie ont été complétés par un volet d'entomologie et de climatologie. Les résultats acquis ont permis une première synthèse pluridisciplinaire (Fargette et al 1989; In "La Mosaïque africaine du manioc"

CTA/ORSTOM, à paraître). Il est ainsi apparu que les deux modes de dispersion (primaire, secondaire) de la maladie étaient liés aux différents déplacements de l'insecte vecteur, des mouvements "passifs" dans le sens du vent dominant au dessus de la couche limite de vol de l'insecte et des mouvements "actifs", largement indépendants de la direction du vent dominant, à l'intérieur de la couche limite de vol, c'est à dire essentiellement au sein de la canopée.

Ces travaux sont approfondis actuellement suite à l'affectation à Adiopodoumé en 1987 d'un entomologiste britannique de l'ODNRI. Une étude plus complète de la biologie de *B. tabaci* est en cours et se prolongera dans le cadre du projet CEE. Il faut souligner que si de nombreuses études ont été réalisées récemment sur la biologie de *B. tabaci* dans les régions intertropicales ou méditerranéennes, aucune étude approfondie n'a été conduite jusqu'à présent dans les régions équatoriales. (Presque) tout restait à faire. L'évaluation de l'activité du vecteur se poursuivra à l'aide de piégeages, afin de quantifier les vols immigrants, émigrants et internes d'une culture de manioc. Les stratégies d'échantillonnage des aleurodes, très élaborées sur cotonnier mais rudimentaires sur d'autres plantes, seront établies.

Dès 1985 une collaboration a été mise en place avec le laboratoire de Biomodélisation du CIRAD pour l'application des géostatistiques à l'analyse du développement de la maladie dans l'espace. Ce travail fait l'objet d'une publication: il s'agit de la première utilisation approfondie des géostatistiques en phytopathologie (Lecoustre et al., Phytopathology, sous presse). L'application des géostatistiques permet la détection des hétérogénéités, d'éventuels gradients, des anomalies dans la distribution spatiale d'une variable aléatoire. En outre elle permet l'utilisation d'une technique d'interpolation sans biais, le kriégeage, qui sur la base d'un échantillonnage de taille limitée, reconstitue fidèlement la répartition de la maladie dans l'espace. Les travaux entrepris vont s'étendre à l'application des géostatistiques aux mouvements des aleurodes (répartition horizontale, répartition verticale, modification des caractéristiques de ces distributions au cours du temps, efficacité des méthodes de piégeage...). On cherche en définitive à relier dans le détail les mouvements de l'aleurode à la distribution de la maladie afin d'aboutir à une compréhension fine du développement de la maladie dans l'espace.

2.3. Développement de la maladie au cours du temps. Il est marqué par des variations importantes, une périodicité annuelle et saisonnière nette (Fargette et al., Proc. 3d Internat. Work. of Epidemiol. Plant. Viruses. VII 25-27). La fluctuation de la pression d'inoculum au cours du temps reflète pour une part au moins le développement des populations de l'insecte vecteur.

L'étude de la dynamique des populations permettra de saisir l'origine des fluctuations annuelles et saisonnières de la pression d'inoculum. Aussi une étude détaillée du cycle biologique de *B. tabaci* est-elle prévue qui s'attachera à définir la fécondité, la durée des différents stades de développement, l'effet des conditions climatiques sur le développement des populations, les causes de mortalité et les variations de ces caractéristiques au cours du temps et en fonction du développement de la plante hôte. Les parasites et les prédateurs naturels des aleurodes ainsi que les autres causes de variation de la densité des populations seront recherchés.

Nous disposons d'une séquence de résultats relatifs au développement de la maladie, aux dynamiques de l'aleurode et aux caractéristiques climatiques répartis sur une période de sept ans. L'analyse menée initialement par l'application des statistiques temporelles et multivariées va être approfondie dans le cadre d'une collaboration ponctuelle avec un spécialiste de la modélisation analytique de l'ODNRI. Cette collaboration nous permettra non seulement d'approfondir l'analyse des données recueillies mais aussi de nous initier à l'utilisation de ces outils mathématiques.

Les collaborations en cours et celles envisagées montrent que nous avons délibérément choisi d'utiliser les mathématiques pour éclaircir quelques points précis. L'objectif final de ces collaborations entre virologues, entomologistes et mathématiciens pourrait être plus ambitieux avec la mise au point d'un modèle de développement des maladies articulé avec la dynamique des populations d'aleurodes, les conditions climatiques et la croissance de la plante. Un tel objectif doit toutefois être envisagé avec prudence. D'une part, les informations obtenues à l'issue de notre programme ne seront peut-être pas suffisantes pour mettre au point un tel modèle. Rappelons que les modèles épidémiques des maladies virales transmises par aphides pour lesquelles on dispose d'une somme d'information considérable sont encore rudimentaires... D'autre part, la finalité même de tels modèles en phytopathologie varie selon les auteurs. Dans notre projet la modélisation est conçue uniquement comme une aide à la compréhension de l'épidémiologie.

2.4. Etude des réservoirs de virus et de vecteurs. Faute de techniques de détection adéquates, l'étude des réservoirs des géminivirus n'a jamais jusqu'à présent été abordée de façon satisfaisante. La recherche des réservoirs de ces virus constitue donc une des priorités de notre projet. Dans le cas de la Mosaïque africaine du manioc, nous avons établi indirectement que la manioc lui-même était la principale source de virus (Fargette et al., Ann. Appl. Biol. 110, 65-73; Fauquet et al., Trop. Pest. M. 34, 92-96), mais

nous n'avions pas pu caractériser avec certitude les autres plantes réservoirs. Le problème doit être résolu non seulement pour mieux comprendre l'épidémiologie de la maladie mais aussi pour en connaître l'origine. En effet, aucun élément ne permet actuellement d'appuyer (ou de réfuter) l'hypothèse souvent émise selon laquelle le virus préexistait en Afrique dans des plantes adventices avant l'introduction du manioc d'Amérique du Sud. La découverte de telles plantes adventices, réservoirs de la Mosaïque africaine du manioc et originaires d'Afrique, sans la prouver entièrement, soutiendrait toutefois une telle hypothèse.

Cependant, l'étude par sérologie des réservoirs de la Mosaïque africaine du manioc, comme celle des autres géminivirus, se heurte à une difficulté essentielle: les géminivirus transmis par aleurodes sont reliés sérologiquement. En d'autres termes, un sérum préparé contre l'un d'entre eux réagira "positivement" avec d'autres, compliquant ainsi l'interprétation des réactions positives. Cependant cet obstacle est en passe d'être contourné avec l'utilisation des anticorps monoclonaux (Cf. paragraphe 3.2). Nous sommes donc en mesure de reprendre l'étude des réservoirs de virus, tant de ceux de la Mosaïque du manioc, que ceux d'autres géminivirus.

Enfin, le rôle joué par les différentes espèces et races d'insectes vecteurs devrait être clarifié. *B. hancocki*, espèce proche de *B. tabaci* et susceptible de participer à la dispersion des maladies virales fait l'objet d'une étude préliminaire. On recherche aussi si il existe, au sein de l'espèce *B. tabaci*, très polyphage, des biotypes inféodés à certaines plantes ou susceptibles de différer par leur aptitude à la transmission des géminivirus. Les conséquences épidémiologiques seront envisagées.

3. IDENTIFICATION ET CARACTERISATION DES AGENTS PATHOGENES

3.1. Introduction. Les géminivirus sont caractérisés par leur acide désoxyribonucléique monocaténaire, par la forme très particulière de leurs particules associées en doublets et par leur mode de transmission, par aleurodes ou par cicadelles. En fait, la plupart des propriétés des géminivirus n'a été mise en évidence que récemment. Ainsi le groupe des géminivirus a-t-il été défini il y a une dizaine d'années à peine. Depuis, le nombre des virus de ce groupe ne cesse d'augmenter. Lors du dernier congrès de phytopathologie à Kyoto en août dernier par exemple, les géminivirus ont fait l'objet d'une session spéciale au cours de laquelle la description de nouveaux membres a été rapportée. Les progrès récents sont avant tout liés à l'introduction de techniques nouvelles en virologie.

3.2. Mise au point des techniques de détection. La nécessité des tests de détection est soulignée à plusieurs reprises dans ce texte. En effet, de leur mise au point dépendra la bonne réalisation de plusieurs des phases du projet dont l'inventaire des maladies (3.3), la recherche des réservoirs (3.5), l'évaluation de la variabilité des isolats (3.5), la compréhension des mécanismes de transmission (3.6), le "screening" de variétés et recherche de gènes de résistances (4), l'étude du mode d'action de tels gènes (4)... La mise au point et le perfectionnement de tels tests est donc un des objectifs majeurs de ce projet.

Nous avons développé, au cours des programmes antérieurs, un test immuno-enzymatique ELISA, basé sur un sérum polyclonal contre la Mosaïque du manioc. Les possibilités d'un tel test avaient alors été exploitées (Fargette et al., Ann. Appl. Biol. 110, 65-73). Récemment, la sensibilité et surtout la spécificité des tests de détection ont été considérablement améliorées par l'emploi des anticorps monoclonaux. On sait en effet que les anticorps monoclonaux sont spécifiques d'un seul épitope. Des virus distincts mais apparentés ont certains épitopes en commun, tandis que d'autres sont propres à chacun d'eux. Il devient possible dès lors, de choisir des anticorps monoclonaux capables de réagir soit à un épitope commun, ce qui permettra de détecter tous les virus apparentés, soit à un épitope propre à un virus particulier, ce qui permettra de le distinguer de ceux qui lui sont reliés.

Le SCRI a développé une série d'anticorps monoclonaux contre la Mosaïque africaine du manioc. L'intérêt de tels anticorps est immédiat; les difficultés engendrées par la présence de relations sérologiques entre les géminivirus sont ainsi levées. L'étude des plantes réservoirs évoquée dans le paragraphe 2.4 peut ainsi être réalisée. Ils permettront aussi lors de la phase d'inventaire, de décider si des isolats appartiennent effectivement au groupe des géminivirus. Des tests quantitatifs basés sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux seront aussi utilisés dans les programmes d'évaluation variétale contre des virus non caractérisés. La purification de nouveaux virus sera du coup facilitée (par exemple, la fraction de virus conservée et celle éliminée pourra être évaluée à chaque étape).

Les tests sérologiques, basés sur la reconnaissance par les anticorps de quelques épitopes de la protéine capsidaire, ne prennent en compte qu'une portion finalement minime de l'information codée par le virus. Les techniques d'hybridation moléculaire permettent quant à elles d'utiliser, si nécessaire, l'ensemble de l'information contenue dans l'acide nucléique du virus. C'est l'approche qu'a utilisée avec succès M. Laterrot - qui est associé au projet- avec l'Enroulement de la tomate. La technique dite du "squash blot" (encore appelée "dot blot") a été mise au point contre ce

virus par le laboratoire de la Faculté d'Agriculture de Jérusalem (Czosnek et Navot, In "Advances in Biotechnological Processes, sous presse). Un extrait de plante est fixé sur un support de nitro-cellulose. Au laboratoire on ajoute, après traitement, une sonde radioactive constituée de l'acide nucléique complémentaire au virus recherché. Le "squash blot", qui a permis de détecter l'Enroulement de la tomate dans plusieurs pays d'Afrique et du Moyen-Orient, sera utilisé dans le cadre de notre étude lors de la phase d'inventaire de cette maladie.

On dispose aussi de sondes pour la détection du virus de la Mosaïque africaine du manioc. La mise au point d'autres sondes, si possible non radioactives, est envisagée dans le cadre du projet. Pour chaque application, on recherchera les techniques les plus adaptées (tests sérologiques ou hybridation moléculaire). A priori, les tests sérologiques sont plus faciles à mettre en oeuvre "sur le terrain", lors des phases d'inventaire et de screening, surtout si des sondes non radioactives ne sont pas disponibles. En revanche, une étude fine des mécanismes de résistance (4.3) ou de transmission (3.6) devra vraisemblablement utiliser les deux techniques de concert.

3.3. Inventaire des virus. La liste ci-dessous reprend certains des géminivirus identifiés ou signalés dans des régions équatoriales et tropicales : Bean golden mosaic (Légumineuses), Euphorbia mosaic (Euphorbiaceae), Honeysuckle yellow vein mosaic (Caprifoliaceae), Mung bean yellow mosaic (Légumineuses), Squash leaf curl (Cucurbitaceae), Tobacco leaf curl (Solanaceae, Caricaceae), Tomato golden mosaic (Solanaceae), Tomato leaf curl et Tomato yellow leaf curl (Solanaceae), Coton leaf crumple (Malvaceae), Eupatorium yellow vein (Compositae), Jatropha mosaic (Euphorbiaceae), African and Indian cassava mosaic (Euphorbiaceae), Soybean crinkle leaf (Légumineuses), Horsegram yellow mosaic (Légumineuses), Cowpea yellow mosaic.... Cette liste date de 1985. Depuis lors, le nombre de maladies dont l'agent pathogène s'apparente au groupe des géminivirus ne cesse de croître.

"L'Inventaire des Virus de Côte d'Ivoire" recense les maladies transmises par aleurodes. Sont citées la Mosaïque africaine du manioc, l'Enroulement de la tomate, la Frisolée du tabac, l'Enroulement du gombo, la Mosaïque et la Frisolée du cotonnier. Faute d'étude approfondie, l'inventaire des géminivirus de Côte d'Ivoire est vraisemblablement incomplet et la plupart des virus cités n'ont en outre pas été caractérisés. D'autre part, aucune étude n'a été réalisée dans d'autres pays d'Afrique de l'Ouest. Il semble donc vraisemblable que l'utilisation de nouveaux tests, plus sensibles et plus spécifiques, révélera de nouveaux géminivirus, lors des inventaires à venir. Les virologues de l'ISRA au Sénégal et de l'INERA

au Burkina Faso jouent à cet égard, par leur connaissance du terrain, un rôle déterminant pour le succès du projet. Le projet CEE permet le recrutement d'un chercheur au Sénégal et au Burkina Faso pendant trois ans et d'assurer ses frais de fonctionnement. Ces chercheurs seront encadrés par un virologue national "sénior" et bénéficierons, nous y veillerons, de la dynamique créée par le projet. Nous disposerons donc au Sénégal et au Burkina-Faso d'un interlocuteur permanent et compétent. Il aura pour mission de dresser l'inventaire des principales maladies transmises par aleurodes, d'évaluer les dégâts occasionnés et de propager, en conditions contrôlées, ces maladies. (Les autres tâches qui lui sont imparties sont décrites dans les paragraphes 4.5 et 4.6). Les viroses seront initialement repérées sur la base des symptômes et le diagnostic sera confirmé par des tests sérologiques mis à leur disposition. Des missions dans d'autres pays d'Afrique de l'Ouest permettront de compléter ces inventaires.

3.4. Caractérisation des agents pathogènes. Pour plusieurs raisons les géminivirus sont difficiles à purifier. Ils sont souvent "non transmissibles" mécaniquement, présents en très faible concentration dans la plante et faiblement immunogènes. Sous peine de se heurter à des difficultés insurmontables, l'identification de ces nouveaux virus doit être réalisée de préférence dans un laboratoire de virologie parfaitement équipé, doté d'un matériel de centrifugation performant et d'un microscope électronique. Il doit disposer en outre des tests de détection évoqués dans le paragraphe précédent, indispensables lors des différentes étapes de purification.

Les caractéristiques biologiques seront précisées, la méthode de purification mise au point et les propriétés biophysiques, sérologiques et biochimiques seront établies. Naturellement on cherchera à identifier l'ensemble des géminivirus repérés lors des phases d'inventaire. Cependant, on s'attachera en priorité à la caractérisation de l'Enroulement de la tomate et de l'Enroulement du gombo, deux maladies signalées dans plusieurs pays d'Afrique et dont l'importance économique est reconnue.

3.5. Etude des souches et de leur variabilité. L'identification de ces maladies ira de pair, pour les plus importantes d'entre elles, avec la recherche des différentes souches et l'étude de la variabilité entre isolats. Connaître la variabilité entre les isolats est non seulement essentiel à la compréhension de l'épidémiologie mais a aussi des conséquences pratiques importantes qui sont envisagées dans la partie 4.3.

L'étude de la variabilité de la Mosaïque africaine du manioc, basée sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux, révèle l'existence de trois souches dont la répartition géographique apparaît à l'heure actuelle bien distincte:

la souche A présente dans la majeure partie de l'Afrique, la souche B que l'on retrouve en Afrique de l'Est et à Madagascar et la souche C isolée pour l'instant uniquement en Inde. En fait, des études exhaustives sur la nature et la répartition des souches sont encore rares et l'on est loin de disposer avec la Mosaïque du manioc de la masse d'information que l'on possède avec certaines viroses des pays tempérés. Il n'est donc pas exclu que les résultats d'études complémentaires conduisent à revoir les conclusions évoquées et à compliquer une situation qui apparaît actuellement d'une simplicité remarquable.

Une étude des souches et la variabilité de la Mosaïque africaine du manioc en Côte d'Ivoire a déjà été conduite en collaboration avec le laboratoire de virologie du SCRI. Dès maintenant, ces résultats conduisent à distinguer en fait non plus un mais deux niveaux de variabilité. En effet, et toujours sur la base des réactions aux anticorps monoclonaux, il a été mis en évidence au sein des trois souches principales, une variabilité secondaire dont l'ampleur semble dépendre des pays et des souches. Il y aurait donc des variants majeurs (entre les souches) et des variants mineurs (au sein des souches). L'étude des souches de la Mosaïque africaine du manioc est à poursuivre. Nous envisageons aussi d'entreprendre l'étude des souches de l'Enroulement de la tomate, maladie importante qui, comme la Mosaïque africaine du manioc, sévit dans de nombreux pays situés dans des régions écologiques différentes.

3.6. Mécanismes de transmission. Le mode de transmission par aleurodes des virus reste peu connu. Si les caractéristiques biologiques de la vection sont maintenant bien établies, on en ignore en revanche les mécanismes sous-jacents. La mise au point des tests de détection évoqués dans le paragraphe 3.2 laisse espérer des progrès comparables à ceux réalisés dans le cas des virus transmis par aphides. Une telle étude est en cours au SCRI. Un élevage d'aleurodes a ainsi été mis en place. Cet élevage -qui de surcroît facilite la propagation des géminivirus non-transmissibles mécaniquement- est à la base d'un travail approfondi sur les mécanismes de transmission. On s'attache actuellement à détecter le virus dans l'insecte par l'utilisation conjuguée du microscope électronique et des techniques sérologiques. Par la suite, il est prévu de localiser les particules virales directement dans les tissus de l'insecte par l'utilisation des techniques de marquage sur coupes minces en microscopie électronique (immuno-gold labelling par exemple).

4. METHODES DE LUTTE

4.1. Introduction. La mise au point de méthodes de lutte est évidemment l'objectif final et l'aboutissement logique de ce programme. Les recherches en étiologie, la mise au point des techniques procurent les connaissances de base et les tests virologiques indispensables aux autres programmes. Les travaux d'épidémiologie apportent quant à eux les informations nécessaires à la mise en oeuvre des méthodes de lutte. En fonction du "risque" encouru par la culture, on définira les pratiques culturales à adopter, celles à éviter et on décidera de la résistance à utiliser: quelle doit être la nature de la résistance, quel est le degré de résistance nécessaire, quelles sont les pratiques culturales à respecter si l'on veut en tirer le meilleur parti? A ce titre, les relations étroites qui unissent épidémiologie et méthodes de lutte sont examinées en détail pour le contrôle de la Mosaïque africaine du manioc dans le paragraphe 4.4. En fait, dans le contexte africain où les possibilités techniques et les ressources financières sont limitées, la résistance variétale est assurément l'élément central des méthodes de lutte. Elle doit en conséquence recevoir toute l'attention nécessaire. C'est la raison pour laquelle la recherche, la création et l'évaluation des variétés résistantes constituent un des objectifs majeurs de notre programme.

Dans ce domaine aussi, l'avancement des travaux est très variable selon les maladies. En règle générale, la lutte contre ces maladies n'a pas ou peu été étudiée. Si le contrôle de la Mosaïque africaine du manioc a fait l'objet de programmes de recherche, l'efficacité et même le fondement de certaines des méthodes de lutte proposées actuellement restent controversées. Afin d'éviter une dispersion des efforts, nous avons procédé à un premier tri des problèmes que nous étudierons prioritairement. Ce choix est dicté par la gravité des problèmes économiques et par les perspectives de succès à court terme. Nous porterons ainsi une attention particulière à la Mosaïque africaine du manioc. L'Orstom a suivi, pour étudier cette maladie majeure, des voies d'approches originales qu'il convient de poursuivre. Nous étudierons aussi l'Enroulement de la tomate qui fait l'objet depuis plusieurs années d'un programme d'amélioration variétale, initialement mené avec les pays du Proche-Orient et qui sera étendu à l'Afrique de l'Ouest. Enfin, les autres maladies seront traitées cas par cas en fonction des informations acquises au cours du programme avec toutefois une référence spéciale à l'Enroulement du gombo, en raison des travaux préliminaires que l'Orstom a menés à son sujet.

4.2. La Mosaïque africaine du manioc. Les recommandations pour le contrôle de la Mosaïque africaine du manioc sont basées actuellement sur l'utilisation de la résistance variétale ou sur l'application de mesures

prophylactiques. Cependant, l'efficacité et la validité des méthodes proposées restent sujettes à discussion, comme l'ont fait ressortir les débats du Séminaire International sur la Mosaïque africaine du manioc. Les incertitudes qui persistent nous conduisent à proposer des recherches complémentaires sur certains points et à étudier les modalités d'une collaboration à des travaux où de nouvelles voies d'approches sont suivies.

Un rappel des principales données du problème est ici nécessaire. La Mosaïque africaine du manioc a fait l'objet, depuis plus de cinquante ans, de programmes d'amélioration variétale. Menés initialement en Afrique de l'Est, les travaux ont été poursuivis à l'IITA au Nigeria. La source de résistance utilisée est le manioc sauvage *Manihot glaziovii*. Les gènes ont été introduits par hybridation et les propriétés agronomiques ont été rétablies par croisements "en retour" successifs avec le manioc cultivé. On dispose donc maintenant de variétés améliorées. Plusieurs interrogations subsistent cependant à propos de ces maniocs "résistants":

- 1°) Le déterminisme génétique de la résistance n'est pas connu avec certitude.
- 2°) Le mécanisme de la résistance introduite n'a pas été suffisamment étudié. Ainsi on ne sait pas si les variétés améliorées sont réellement résistantes (multiplication limitée du virus) ou bien si elles sont en fait tolérantes (pertes de production limitées ou expression des symptômes faible en dépit d'une multiplication effective du virus). Certains auteurs affirment même que ces variétés améliorées sont, dans une certaine mesure, sensibles.
- 3°) Les variétés améliorées ne sont pas appréciées de toutes les populations en Afrique, en raison principalement du goût amer de leurs tubercules.
- 4°) Enfin certaines variétés locales seraient résistantes sans posséder les défauts apparents des variétés améliorées. On ignore cependant si ce comportement est lié à l'action de gènes de résistance nouveaux ou bien si la résistance observée est en fait consécutive à des hybridations naturelles entre *M. glaziovii* et certaines variétés locales.

Jusqu'à présent, les efforts de l'Orstom ont porté essentiellement sur les points 2 et 4. Un matériel végétal (naturel et amélioré) d'origine très diverse, a été réuni. Son comportement vis à vis de la Mosaïque africaine du manioc a été étudié plusieurs années consécutives, en prenant en compte plusieurs composantes de la résistance (Fauquet et al. Actes du Séminaire sur la Mosaïque africaine du manioc pp 171-174). Certaines d'entre elles se révèlent étroitement liées (expression des symptômes, multiplication des virus, résistance "en champ"), ce qui suggère un déterminisme génétique identique. D'autre part, nous avons confirmé que la production de certaines

variétés améliorées dites "résistantes" est en fait sensiblement réduite par la maladie (Fauquet et Fargette, non publié). La résistance de certaines variétés améliorées est donc relative. En revanche, il est apparu que quelques variétés locales présentaient effectivement des caractères de résistance intéressants. Le laboratoire de Génétique de l'ORSTOM d'Adiopodoumé a poursuivi l'étude de l'origine de la résistance en recherchant, par comparaison des profils enzymatiques, les filiations entre variétés améliorées, variétés locales résistantes et sensibles. Les résultats préliminaires suggèrent que les variétés locales résistantes sont le fruit d'une introgression naturelle avec *M. glaziovii*.

Nous porterons donc notre attention à la poursuite des travaux engagés par l'Orstom. Quelques points restent à clarifier en priorité. Ainsi nous nous appliquerons à élucider, par deux approches différentes, la réponse des maniocs résistants à l'infection virale. D'une part, la concentration en virus de ces variétés sera réévaluée, à l'aide des nouveaux sérums disponibles. Nous étudierons de même les différents cultivars de manioc créés par le laboratoire de génétique qui présentent plusieurs niveaux d'introgression avec *M. glaziovii*. Nous pourrons ainsi tester l'hypothèse émise sur l'acquisition de la résistance chez certaines variétés par introgression naturelle avec le manioc sauvage. D'autre part, à partir de données sur la croissance de plusieurs variétés de manioc, saines et virosées, nous développerons, en collaboration avec le laboratoire de Biomodélisation du CIRAD, une approche originale basée sur la modélisation de la croissance des plantes. Ceci nous permettra de mieux comprendre l'action de la maladie sur le développement de la plante et d'analyser les modalités selon lesquelles une plante dite résistante est en mesure d'en limiter l'impact.

Ces travaux supplémentaires nous permettront, nous l'espérons, de mieux comprendre le comportement des variétés améliorées et locales. Cependant, il est dès maintenant clair que les variétés améliorées proposées actuellement présentent des faiblesses notables, principalement en raison du goût amer de leur tubercules (point 3) et de leur faible degré de résistance (point 2); autant d'obstacles à une diffusion généralisée de ces variétés. Les insuffisances des travaux de sélection "classiques" ont d'ailleurs conduit l'Orstom à mettre en place un nouveau programme où des nouvelles voies sont explorées. Intitulé "Cassava-trans", il a pour objectif l'introduction, par les techniques de génie génétique, de nouvelles sources de résistance. Ce n'est plus le transfert de gènes de plantes, mais l'insertion de séquences nucléiques de l'agent pathogène qui confèrent la résistance que l'on recherche, en l'occurrence celles du gène de la protéine capsidaire du virus. Cette nouvelle approche a été utilisée avec succès ces trois dernières années avec plusieurs virus appartenant à

des groupes divers et infectant des plantes de familles différentes. Si on aboutit avec la Mosaïque du manioc à des résultats comparables, on disposera alors de maniocs dotés d'une résistance monogénique, vraisemblablement plus performante que celle disponible actuellement, mais surtout affranchie des caractères indésirables consécutifs à l'introduction de gènes de *M. glaziovii*. En effet, les maniocs "transgéniques" ne différeront des maniocs cultivés dont ils sont issus que par le seul caractère de résistance introduit, toutes les qualités agronomiques et organoleptiques de la variété étant conservées.

4.3. Relations avec le projet "Cassava-trans". La logique scientifique des deux projets et l'intérêt de l'Orstom coucourent à ce que la réalisation des deux programmes soit articulée au mieux. Les deux projets sont en fait complémentaires en plusieurs points. Le contrôle de la Mosaïque africaine du manioc par l'utilisation de la résistance variétale ("classique" ou transgénique) constitue naturellement un des objectifs prioritaire de notre programme. Réciproquement, les informations acquises et les tests de détection mis au point au cours de notre projet contribueront à la réussite de "Cassava-trans". La complémentarité des deux programmes se situe à trois niveaux: l'étude des souches, les tests de détection et l'évaluation du matériel végétal. Le souci de coordination des deux programmes nous amènent à détailler chacun de ces trois volets. Soulignons cependant que les relations entre les deux projets ne se limitent pas aux trois aspects évoqués ci-dessous. Elles devront être réévaluées au fur et à mesure de la progression des travaux.

Si l'on ignore encore précisément le mécanisme de résistance au virus des plantes transgéniques, les différents auteurs s'accordent à y reconnaître une parenté étroite avec les phénomènes de "cross-protection" connus depuis longtemps en virologie. Ceux-ci, rappelons le, se traduisent par la résistance d'une plante préalablement inoculée par un virus à une contamination ultérieure par une souche proche du même virus. En revanche, la plante n'est pas protégée contre des souches plus distantes, ni contre des virus différents. Si la résistance des plantes transgéniques est effectivement de même nature, une plante améliorée par l'insertion du gène de la protéine capsidaire d'une souche particulière de virus risque de ne pas être résistante à l'ensemble des souches de ce virus. Notons à ce propos que jusqu'à présent aucune protection croisée n'a été observée entre la souche de virus provenant d'Afrique de l'Ouest et celle d'Afrique de l'Est. Une connaissance aussi approfondie que possible des différentes souches est donc nécessaire pour apprécier les possibilités et les limites des maniocs transgéniques (Cf. paragraphe 3.5). La poursuite de l'étude des souches est donc le premier volet de complémentarité entre les deux programmes. Signalons, enfin l'intérêt qu'il y aurait, toujours en relation

avec le programme "Cassava-trans", à reprendre, à l'aide des nouveaux tests de détection, les études de protection croisée "classiques" entre les variants majeurs et entre certains variants mineurs.

Il faut être en mesure, au cours des différentes phases de création de plantes transgéniques (plasmide, protoplaste, plante régénérée...), de déceler l'activité du gène introduit, d'évaluer la concentration de son ARN messager et de la protéine associée. Les techniques de séparation correspondantes (respectivement Southern blot, Northern blot et Western-blot) sont basées sur le fractionnement par électrophorèse des acides nucléiques ou des protéines, suivi du transfert sur support (généralement) de nitro-cellulose. La détection du matériel fixé se fait finalement à l'aide de sondes. Ces dernières utilisent les anticorps monoclonaux pour déceler la protéine capsidaire ou sont basées, pour la détection d'un acide nucléique, sur l'hybridation moléculaire avec une séquence complémentaire. Notre projet envisage la création de telles sondes (Cf. paragraphe 3.2). Elles pourront, suivant des modalités qui restent à définir, être fournies au programme "Cassava-trans", épargnant ainsi la répétition d'un travail délicat et fastidieux. Mise au point des sondes et fourniture de celles-ci constitue donc le deuxième volet de complémentarité entre les deux programmes.

La caractérisation des souches et la fourniture des sondes se situent en quelque sorte "en amont" du projet "Cassava-trans". En revanche la troisième volet des collaborations est en revanche résolument en "aval". Le matériel transformé quel qu'il soit (initialement le tabac puis le manioc) doit naturellement faire l'objet d'études approfondies avant que l'on puisse envisager sa diffusion. Etant donné la rapidité des techniques de transformation par génie génétique, les modalités de l'évaluation du matériel végétal doivent être définies dès que possible. Il faudra naturellement étudier en détail la réaction de la plante transgénique à l'infection (cinétique de l'infection, expression des symptômes, pertes de production, "héritabilité" de la résistance", comportement vis à vis d'autres souches et d'autres virus...). Une évaluation du comportement général de la plante est aussi nécessaire. De telles études, pour être conduites avec succès, doivent être menées dans un laboratoire ayant une expérience approfondie de l'évaluation du matériel végétal résistant en général et des plantes transgéniques en particulier. Il doit disposer aussi d'un grand nombre d'isolats de la Mosaïque du manioc et si possible d'autres virus du manioc. Il doit enfin posséder les tests de détection correspondants.

4.4. Application des mesures prophylactiques. Une autre approche a été proposée pour contrôler la Mosaïque africaine du manioc dans les années 70 par une équipe britannique. Dans les pays où ont été réalisés les travaux (Kenya, Malawi), l'aleurode joue apparemment un rôle mineur dans la transmission de la maladie. C'est en fait l'agriculteur, lorsqu'il replante des boutures issues de maniocs virosés, qui perpétue la maladie. La sélection répétée de manioc sans symptômes a alors permis de disposer rapidement de nombreuses variétés locales indemnes de virus. Les surfaces ainsi obtenues sont maintenues saines grâce à une surveillance périodique où l'agriculteur élimine lui même les pieds virosés.

Ces travaux d'épidémiologie ont été repris et approfondis dans les années 80 par l'Orstom en Côte d'Ivoire. Il faut rappeler les différents points acquis:

1°) En milieu de savane, nous avons pu multiplier et maintenir du manioc sain, issu de plusieurs variétés, plusieurs années de suite et sur de grandes surfaces (Fauquet et al., Trop. Pest. M. 34, 92-96).

2°) En région forestière en revanche, où la pression d'inoculum est forte, il n'est pas possible pour la plupart des variétés locales de maintenir du matériel végétal sain (Fauquet et al., Trop. Pest. M. 34, 92-96).

3°) Néanmoins on dispose maintenant d'au moins une variété locale, possédant un degré de résistance "en champ" suffisant pour être maintenue avec un taux de plantes virosées faible, dans la zone forestière de Côte d'Ivoire (Fargette et Fauquet, non publié) où la pression d'inoculum est forte.

Les résultats exposés dans le point 3 sont encourageants. On peut ainsi envisager la poursuite et l'extension de ces travaux afin de répondre à la question suivante: le contrôle de la maladie par des mesures prophylactiques est-il généralisable, y compris dans des régions où la pression d'inoculum est élevée? Un tel programme doit se baser sur un essai multilocal où l'on suivrait la recontamination de parcelles initialement saines. Un tel essai doit, selon nous, être réalisé selon un protocole expérimental aussi simple que possible et se concentrer, au moins au préalable, sur un nombre restreint de sites. Pour être significatif l'essai doit être répété plusieurs années consécutives. Le choix de sites se ferait dans les différents pays en fonction des zones écologiques considérées comme prioritaires, des interlocuteurs intéressés et des facilités matérielles dont ils disposent. Une variété serait choisie en raison de sa résistance élevée et de ses propriétés agronomiques et organoleptiques. Le matériel sain nécessaire serait alors multiplié puis fourni aux différents interlocuteurs. Ceux-ci suivraient la progression de la maladie sur de petites surfaces. L'année suivante, le matériel resté sain serait replanté et suivi dans les mêmes conditions. L'élimination du matériel végétal devenu virosé pourrait se faire peu après la plantation à

une période où les symptômes sont évidents et où les pieds sont faciles à éliminer. (En milieu paysan, les maniocs ainsi retirés peuvent être remplacés par d'autres maniocs, voire par d'autres plantes). Des éradications répétées sont inutiles, l'essentiel de la contamination étant de type primaire (Fargette et al., Proc. 3d Internat. Work. of Epidemiol. Plant. Viruses. VII 19-21).

Un tel projet est, selon nous, scientifiquement fondé. Est-il pour autant réalisable ? Plusieurs difficultés, d'ordre théorique et pratique, apparaissent. Une telle méthode repose sur l'assurance en une réinfection limitée des parcelles, assortie de l'éradication périodique des pieds malades. Faute de quoi, les surfaces de maniocs initialement saines se recontamineront progressivement. Il est évidemment difficile, sur la base d'expériences nécessairement limitées, d'extrapoler les résultats acquis à d'autres régions et à d'autres périodes. A ces incertitudes s'ajoutent la méconnaissance de l'épidémiologie de la Mosaïque du manioc en culture associée. Les résultats préliminaires obtenus suggèrent que les épidémies peuvent s'y développer de façon différente, plus rapidement parfois, qu'en monoculture (Fargette et al. Asp. Appl. Biol. 17, 195-202). Le contrôle de la Mosaïque africaine du manioc par l'emploi de mesures prophylactiques comporte donc un risque: risque d'une épidémie inattendue, risque d'une carence dans la surveillance des parcelles... Est-il donc souhaitable de proposer en milieu paysan une méthode de lutte qui comporte une part, fut-elle minime, de risque ?

En pratique, peut-on réaliser un tel essai pluri-national et, dans l'affirmative, quelles en sont les modalités ? Il faut identifier les interlocuteurs compétents et disposer de moyens financiers nécessaires à la multiplication et au transfert du matériel végétal, aux déplacements... Ces conditions ne sont pas nécessairement rédhibitoires mais chacun sait les difficultés auxquelles on se heurte dans la réalisation de tels essais en Afrique. Une possibilité consisterait à exploiter les possibilités du Réseau Manioc dont l'animation a été confiée à l'Orstom. D'autre part, il reste à définir si la réalisation de tels essais, très proches en fin de compte du développement, relèvent effectivement du travail de l'Orstom ou bien si les structures de développement ou les organismes internationaux comme la FAO ne sont pas plus à même d'en assurer la charge. Enfin, faut-il conduire une telle étude de façon isolée ? N'est-il pas préférable au contraire de mener une telle opération de concert avec l'étude de la résistance du manioc à d'autres ravageurs ? Ces questions devront être résolues avant qu'une décision définitive ne soit prise. En tout état de cause, et afin d'éviter une trop grande dispersion des programmes, il nous faudra décider des méthode de lutte contre la Mosaïque du manioc auxquelles notre programme s'attachera en priorité.

4.5. L'Enroulement de la tomate. L'Enroulement de la tomate a fait l'objet d'une collaboration entre le laboratoire de la faculté d'Agriculture de Jérusalem et le laboratoire d'Amélioration des plantes maraîchères de l'INRA de Montfavet. Les résultats ont permis la mise au point de tests de détection, puis la détection de ce virus dans de nombreux pays méditerranéens et du Moyen-Orient. Cette collaboration a abouti à la création de variétés résistantes. Nous envisageons dans ce projet d'étendre cette étude aux pays d'Afrique de l'Ouest où cette maladie sévit aussi.

Les travaux de sélection ont porté sur l'introduction séparée des résistances de *Lycopersicon peruvianum* et de *L. pimpinellifolium* à du matériel plus proche de la tomate cultivée. Le programme de sélection a débuté avec des "cribles" au Liban et en Egypte puis s'est élargi à d'autres pays méditerranéens (Jordanie, Chypre, Tunisie). L'idée est de poursuivre l'évaluation du matériel résistant dans des pays d'Afrique de l'Ouest. Il faut souligner que le travail entrepris est de longue haleine car les géniteurs intéressés sont relativement éloignés de la tomate cultivée et que les résistances mises en évidence sont probablement polygéniques.

Comme nous l'avons indiqué dans le paragraphe 3.3, la caractérisation de (ou des) agents pathogènes responsables de l'Enroulement de la tomate sera entreprise. Dans le cadre des méthodes de luttés sont prévues l'évaluation du matériel végétal par nos interlocuteurs au Sénégal et au Burkina-Faso et si possible aussi la recherche des nouvelles sources de résistance dans l'espoir de créer des géniteurs porteurs d'une résistance stable.

4.6. Les autres maladies. Les connaissances sur les agents pathogènes des autres maladies sont presque inexistantes. Aussi n'est-il pas surprenant que les sources de résistance soient mal connues. Le cotonnier semble faire exception: les programmes de sélection menés par l'IRHO ont permis, semble t-il, de réduire sensiblement l'impact des deux maladies transmises par aleurodes, la Mosaïque et l'Enroulement du cotonnier. Les plantes vivrières n'ont pas fait l'objet de tels programmes d'amélioration contre des maladies virales. Nos correspondants au Sénégal et au Burkina-Faso ont pour tâche de repérer, au cours de leurs missions de prospection, si il existe, parmi le matériel infecté, des sources apparentes de résistance. Un "screening" des variétés vis à vis de maladies particulièrement importantes est aussi envisagé.

Le laboratoire de virologie de l'Orstom, en collaboration avec celui de génétique, a débuté un programme d'étude des mécanismes de résistance à

l'Enroulement du gombo. Plusieurs sources de résistance, intra et interspécifiques ont été introduites dans des variétés de consommation courante. Cependant cette collaboration n'a pas pu aboutir, faute de tests de détection appropriés. En effet, l'évaluation précise des comportements des parents, puis celle des hybrides de première et de deuxième génération, s'est avérée impossible sur la seule base des symptômes. Les symptômes de l'Enroulement du gombo, contrairement à ceux de la Mosaïque africaine du manioc, se révèlent trop hétérogènes pour permettre une appréciation fiable du comportement des variétés. Les tests de détection évoqués dans le paragraphe 3.2 ouvrent de nouvelles possibilités. Une poursuite des travaux est donc à envisager.

4. CONCLUSION

Ce document suscite trois remarques auxquelles je souhaite répondre en conclusion.

Ce texte est long; nous l'avons voulu en effet suffisamment précis pour qu'il contienne le détail de chacun des programmes soumis à la CEE et présentés en annexe, qu'il retrace les interactions entre les différents volets et souligne les collaborations qui en découlent et qu'il fasse ressortir la logique scientifique qui soutend le projet.

De nombreux sujets de recherche sont envisagés dans ce texte. Dans quelle mesure pourront-ils être réalisés dans le cadre d'un projet de trois ans? Si, comme nous l'avons souligné, un choix aura lieu à propos de quelques opérations, nous sommes persuadés que l'essentiel des propositions sera effectivement mené à bien. Il faut rappeler à ce propos que plusieurs des travaux sont en fait la poursuite, l'approfondissement ou l'achèvement de recherches menées antérieurement. Ensuite, les moyens dont bénéficie ce projet dépassent largement ceux qui lui sont fournis par la CEE. Le coût de ce projet est en fait partagé avec l'Orstom, l'ODNRI, l'ODA et le SCRI qui assurent le salaire de la plupart des chercheurs et financent déjà plusieurs des opérations évoquées.

Nous avons souligné à plusieurs reprises que des orientations et des choix auront lieu. Ils seront dictés par le développement des différents travaux, de ceux menés dans le cadre de notre programme naturellement, mais aussi de ceux issus d'autres projets susceptibles d'avoir des conséquences pour nous. Les bilans et les évaluations envisagés exigent une coordination étroite des programmes et demandent une bonne communication entre les différents participants. Nous nous y attacherons. Ainsi une réunion générale des participants est-elle prévue à l'occasion du

4ème Colloque International d'Epidémiologie des Virus de Plantes (Montpellier 3-8 septembre 1989). Ce colloque, au cours duquel une attention particulière sera portée aux plantes tropicales en général et aux maladies transmises par aleurodes en particulier, sera l'occasion de faire, peu après la mise en place des programmes, un premier bilan des résultats, d'évoquer les difficultés rencontrées et de préciser les collaborations nécessaires pour les surmonter.

6. ANNEXE

(présentation scientifique du projet dans les formulaires remis à la CEE).

Notre programme comprend trois volets. Les deux premiers débiteront en 1988 et sont relativement autonomes. Il s'agit du volet virologique intitulé "Inventaire et identification des virus" et du volet entomologique "Biologie et écologie de *Bemisia tabaci*". Le calendrier de réalisation du troisième volet "Epidémiologie et contrôle" dépendra largement de l'état d'avancement des deux premiers.

1. Identification des virus: (Côte d'Ivoire, Sénégal, Burkina Faso, Togo...; Ecosse). Notre programme comprend l'étude de l'ensemble des maladies virales transmises par aleurodes en Afrique de l'Ouest mais sera particulièrement centré sur les *gémínivirus* dont l'étiologie est la plus mal connue et qui paraissent provoquer les maladies les plus graves. On étudiera dans une première phase les maladies déjà signalées. On s'attachera ainsi à identifier l'agent causal de l'Enroulement de la tomate, ceux de l'Enroulement du gombo, de la Mosaïque du tabac et du cotonnier et à caractériser les différentes souches de la Mosaïque africaine du manioc. Les autres maladies repérées au cours des prospections seront étudiées.

a) L'inventaire des maladies virales transmises par mouches blanches en Afrique de l'Ouest se fera sur la base d'enquêtes. Des prospections permettront d'établir une "cartographie" de ces maladies, aussi bien de celles déjà signalées que de celles qui seront mises en évidence au cours du programme.

b) La réalisation de ces inventaires dépendra pour une large part de la création d'outils virologiques de détection. La mise au point de tests, très sensibles et spécifiques des *gémínivirus*, constitue donc une priorité.

c) Des échantillons seront ramenés des prospections, multipliés et purifiés puis caractérisés. Les relations entre les différents isolats, souches et virus seront étudiées.

d) Lorsque les échantillons seront prélevés dans des pays d'Afrique de l'Ouest autres que la Côte d'Ivoire (et le Sénégal), le virus sera multiplié et étudié dans la mesure du possible dans les structures locales puis sera envoyé au SCRI pour des études complémentaires. L'association avec le SCRI situé au nord de l'Europe permet d'éviter les risques de contamination accidentelle.

2. Biologie de *Bemisia tabaci*: (Côte d'Ivoire). L'écologie et la biologie de *Bemisia tabaci* sur manioc fait l'objet d'un programme d'étude détaillé en Côte d'Ivoire établi par l'ORSTOM et l'ODNRI. Cette étude pourra servir de modèles à d'autres plantes.

a) Le Laboratoire de Biomodélisation s'attachera, dans un premier temps, à clarifier les points délicats de méthodologie et à établir les stratégies d'échantillonnage. Dans une deuxième temps, si l'état d'avancement des travaux le permet, un modèle de dynamique des populations d'aleurodes sera construit et articulé avec le développement des maladies.

b) Une étude détaillée du cycle biologique de *Bemisia tabaci*, principal vecteur de la Mosaïque du manioc sera réalisée et s'attachera à définir la fécondité, la durée des différents stades de développement, l'effet des conditions climatiques sur le développement des populations, les causes de mortalité et les variations de ces caractéristiques au cours du temps et en fonction du développement de la plante hôte.

c) L'importance de *Bemisia hancocki* espèce proche de *Bemisia tabaci* et susceptible de jouer un rôle dans la transmission de la maladie sera établie. Une étude des fluctuations saisonnières de chaque espèce sur la base des caractéristiques larvaires sera mise en oeuvre. La mise au point de cultures pures de chaque espèce permettra de préciser leur importance relative dans la dissémination des maladies virales.

d) Les parasites et les prédateurs naturels des aleurodes seront identifiés. L'étude de leur impact sur la dynamique des populations permettra de tester la possibilité de les utiliser en lutte biologique. Les autres causes de variation de la densité de population seront aussi recherchées.

e) L'évaluation de l'activité du vecteur se fera à l'aide de piégeages (aspiration, glu, filets et pièges à eau...) et permettra de quantifier les vols immigrants, émigrants et internes d'une culture. Les changements phénologiques du vecteur en relation avec la croissance de la plante seront aussi étudiés.

f) L'étude des réservoirs naturels de vecteur et de virus sera entreprise. On étudiera tout particulièrement si il existe des biotypes d'aleurodes inféodés à certaines espèces de plantes.

3. Méthodes de lutte: (Côte d'Ivoire, Sénégal, Burkina Faso). Ce troisième volet bénéficiera des informations et des techniques obtenues au cours des parties 1 et 2 et son calendrier d'exécution sera donc fonction de leur état d'avancement.

a) Pour chaque maladie les caractéristiques de la transmission seront établies et le pouvoir virulifère des groupes d'aleurodes sera déterminé. Une étude plus fondamentale du mécanisme de transmission des virus par aleurodes sera entreprise au SCRI.

b) La création d'outils virologiques de détection permettra de résoudre des points essentiels relatifs à l'épidémiologie et à la résistance variétale. Ils faciliteront en particulier l'identification des réservoirs de ces virus et permettront l'évaluation et la sélection de variétés

résistantes ou tolérantes.

c) Le Laboratoire ORSTOM-Adiopodoumé dispose actuellement d'un modèle épidémiologique d'une maladie transmise par aleurode, la Mosaïque africaine du manioc. La participation du Laboratoire de Biomodélisation permettra d'affiner ce modèle et de l'articuler avec les connaissances relatives à la dynamique des populations d'aleurodes.

d) L'étude de l'épidémiologie des autres maladies s'appuiera sur ce modèle et sur les résultats de l'étude de la biologie du vecteur mais sera plus directement en rapport avec les perspectives de lutte. Pour chaque maladie on cherchera à définir les périodes et les zones "à risque". Leur connaissance permettra de décider des stratégies de lutte à mettre en oeuvre.

e) L'influence de certaines pratiques culturelles sera testée. En tout état de cause, quelle que soit la stratégie de lutte retenue, l'utilisation de variétés résistantes ou tolérantes en constituera vraisemblablement l'élément essentiel. Aussi l'accent est-il mis dans notre programme sur l'étude des mécanismes de résistance et sur leur utilisation pratique. Seront donc poursuivis les travaux entrepris à l'INRA de Montfavet concernant le déterminisme génétique de la résistance et la création de variétés résistantes à l'Enroulement de la tomate. Le comportement des variétés, vis à vis d'autres maladies transmises par aleurodes, sera évalué chez d'autres plantes et tout particulièrement dans les collections de manioc et de gombo des laboratoires de génétique de l'ORSTOM d'Adiopodoumé.

A DETAILED INVESTIGATION OF THE FLIGHT ACTIVITY OF THE WHITEFLY
BEMISIA TABACI (GENN.) ON CASSAVA IN COTE D'IVOIRE.

J.D. ABISGOLD

ODNRI, Central Avenue, Chatham Maritime, Chatham, Kent ME4 4TB.
United Kingdom.

INTRODUCTION

The whitefly, Bemisia tabaci (Genn.), is the only known insect vector of the virus that causes African Cassava Mosaic Disease. This disease, which has been recorded throughout sub-Saharan Africa where cassava is grown, can cause crop losses of up to 95% and so is of major importance.

Although much attention has been focused on the epidemiology of the disease (e.g. Fargette et al., 1987; Fauquet et al., 1988), there have been very few detailed studies on the biology of the vector, for example, little is known about the flight activity of Bemisia tabaci. In particular, it is not known whether the insect can disperse over long distances and so transmit the virus to cassava in different areas. The effects of environmental conditions and crop development on flight behaviour are also unknown. The aims of the present study were therefore to:

1. Investigate the diurnal flight activity of the insect.
2. By means of various trapping methods, determine the height and direction of flight and from this interpret the potential of Bemisia tabaci to disperse over long distances.
3. Examine the relationship between wind speed, wind direction, ambient temperature, light intensity, relative humidity, rainfall and crop age on the flight activity of the insect.

MATERIALS AND METHODS

All experiments were conducted on the experimental farm at IIRSDA, Cote d'Ivoire.

Diurnal flight activity

Attractive sticky traps were used to catch Bemisia tabaci in flight. Each trap consisted of a 4 m-high piece of cylindrical PVC tubing, 10 cm in diameter. 10 cm-wide yellow sticky strips

were placed around the tube at 20 cm intervals along its length. The bottom strip was located 25 cm above the soil surface and the top strip at 2.95 m. Each yellow band was marked off into eight sections corresponding to the eight major compass points. Six such traps were placed in a 1/2 ha cassava plot.

The traps were placed in position just before sunrise of each experimental period. Then at two-hourly intervals the tubes were replaced and the number of whiteflies caught in each compass section at each band height was recorded per trap. This procedure was repeated throughout the day until sunset, when the traps were again replaced and left until sunrise of the following day. The number of whiteflies caught during the night was then recorded.

Throughout the experimental period detailed meteorological data were obtained. Wind speed and wind direction were monitored at different heights above and below the crop canopy. Measurements of ambient temperature and relative humidity were also obtained at corresponding heights using thermohydrographs.

The experiment was repeated once a week for nine weeks. Each week measurements of plant height, width, number of new leaves etc. were taken from 50 cassava plants to give a measurement of crop development.

Precise take-off times

A second trap type was used to determine the time of day at which the insects took-off from the plants. Once a week a plant was surrounded by non-attractive sticky screens. Each screen was made from a wooden frame (2 m high x 50 cm wide) and covered in mosquito netting. Sticky cellophane strips were used to completely surround the plant so that any insects taking-off from the plant would fly onto the screens and be caught. Insects taking-off vertically from the plant were trapped with a 'roof' screen. The numbers of Bemisia tabaci caught every two hours from sunrise to sunset were recorded. The total number of whitefly trapped throughout the night was also recorded.

Meteorological data were collected during the experiment as previously described. The experiment was repeated weekly for seven weeks.

RESULTS AND DISCUSSION

Diurnal flight activity

Three relationships can be established from the data. (i) The relationship between the number of whitefly and the time of day. (ii) The relationship between numbers of whitefly caught and environmental conditions and (iii) the relationship between numbers caught and the age and development of the cassava.

(i) When the cassava was young (less than three months old) the majority of whiteflies were caught within the first 3-4 hours after sunrise. Relatively fewer were caught after 10 a.m. Virtually no whiteflies were caught during either the dusk or night period.

(ii) The pattern of flight activity can be at least partly explained by environmental conditions. The greatest number of whiteflies were caught during early morning when temperature and wind speeds were low. Rainfall greatly reduced the numbers of Bemisia tabaci in flight.

(iii) As the age of the cassava increased, the total number of whitefly caught increased, reaching a maximum when the cassava was approximately three months old. On cassava older than three months the total numbers flying decreased. The time of day at which insects flew also varied with crop age. When the cassava was older than three months a higher proportion of whiteflies flew in the day and during the night. It is possible that this change in diurnal flight activity with crop age represents the onset of migratory flight.

Precise take-off times

The times at which Bemisia tabaci took-off from the cassava were very similar to the times that the greatest number of whitefly were caught on the attractive traps. As the crop aged, larger numbers of Bemisia tabaci took-off from the plants later in the day and during the night. Again it seems possible that this may reflect the onset of migratory flight.

REFERENCES

- Fargette, D., Thouvenel, J.C. and Fauquet, C. (1987) Virus content in relation to leaf symptoms in cassava infected by African cassava mosaic virus. *Ann. appl. Biol.* 110, 65-73.
- Fauquet, C., Fargette, D. and Thouvenel, J.C. (1988) Some aspects of the epidemiology of African cassava mosaic virus in Ivory Coast. *Trop. Pest Man.* 34(1), 92-96.

CARACTERISATION DES POPULATIONS DE *BEMISIA TABACI* EN FONCTION DES PLANTES HOTES : RECHERCHE DE MARQUEURS ELECTROPHORETIQUES ET TRANSFERTS D'HOTES

BURBAN, C., FISHPOOL, L.D.C. et ABISGOLD, J. D.

Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération
(ORSTOM), Laboratoire de Phytovirologie, BP V51, Abidjan, Côte d'Ivoire

SUMMARY

The whitefly *Bemisia tabaci* is a well known vector of African Cassava Mosaic in tropical countries. By using isozyme electrophoresis (esterase patterns) and host-range studies, two types of *B. tabaci* were characterised: one breeding mainly on cassava, the other breeding on all plants other than cassava. Each types shows a different esterase pattern.

La mouche blanche du tabac, *Bemisia tabaci* Genn. (Homoptera: Aleyrodidae) est connue dans les régions tropicales comme espèce vectrice de la Mosaïque Africaine du Manioc (Harrison *et al.*, 1977). Elle possède une grande gamme de plantes hôtes, plus de soixante espèces ayant été dénombrées en Basse Côte d'Ivoire. Le rôle joué par la dynamique des populations de *B. tabaci* dans l'épidémiologie de la Mosaïque Africaine du Manioc a été largement étudié sur manioc (Fargette *et al.*, 1985 ; Robertson 1988). Nous nous sommes intéressés aux relations établies par *B. tabaci* avec ses plantes hôtes.

Cette étude a été réalisée à partir d'insectes capturés sur le site d'Adiopodoumé, en Basse Côte d'Ivoire. Les insectes sont prélevés au stade pupal sur leur plante hôte, et l'adulte est étudié après émergence. Dans un premier temps, nous avons caractérisé les populations de *B. tabaci* selon leurs hôtes au moyen de marqueurs enzymatiques. Puis nous avons examiné le comportement de *B. tabaci* vis-à-vis de différentes plantes hôtes par des essais de transferts d'hôtes en conditions contrôlées.

RECHERCHE DE MARQUEURS ENZYMATIQUES

La recherche de marqueurs enzymatiques susceptibles de caractériser les populations de *B. tabaci* en fonction de leur plantes hôtes est réalisée par électrophorèse des isozymes. Nous avons retenu les estérases dont les résultats sont les plus concluants. L'électrophorèse est effectuée sur gel vertical d'acrylamide à 7% avec un tampon Tris-Glycine de pH 8,3, sous un potentiel de 100 volts pendant 30 mn, puis de 200 volts pendant 1 h 30 (Debret *et al.*, 1983). Chaque individu est broyé dans un tampon Trudgill à 10% de saccharose (Babaut, 1986). La révélation des estérases se fait en employant de l'alpha- et du bêta-naphtyl acétate comme substrat (Shaw & Prasad, 1970).

Deux types de zymogrammes ont été obtenus, l'un à une bande, l'autre à deux bandes (Fig. 1).

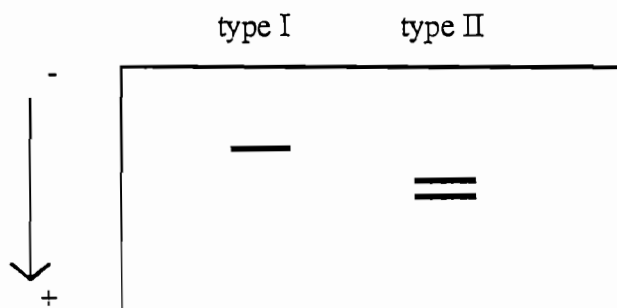


Fig 1. Zymogramme des estérases de *Bemisia tabaci*

Le type de zymogramme est directement lié à la plante hôte d'origine de l'insecte. (Tab. 1).

Tab 1. Zymogrammes des estérases de *Bemisia tabaci* selon l'espèce de plante hôte

plante hôte	nombre d'individus testés	ZYMOGRAMME	
		type I	type II
<i>Manihot esculenta</i> (manioc)	20	0	20
<i>Manihot glaziovii</i>	1	0	1
<i>Albemoschus</i> spp. (gombo)	30	30	0
<i>Sida rhomboïdea</i>	12	12	0
<i>Ipomea involucrata</i>	5	5	0
<i>Eupatorium odoratum</i>	6	5	0
<i>Centrosema pubescens</i>	5	5	0
<i>Pueraria phaseolides</i>	7	7	0
<i>Borreria ocymoides</i>	1	1	0

B. tabaci capturé sur des plantes du genre Manihot possède donc un pattern électrophorétique, au niveau des estérases, différent de celui de *B. tabaci* capturé sur toutes les autres plantes étudiées (Test du X^2 , significatif, $P < 0.001$).

TRANSFERTS ENTRE PLANTES HOTES

Les essais de transferts, effectués en salle d'élevage, concernent la variété Kasimbidgi Green de manioc et Clemson Spineless de gombo. Les autres plantes utilisées sont issues de graines récoltées dans les environs d'Adiopodoumé.

L'hôte à tester (manioc ou gombo) est placé dans une cage d'élevage et présenté à un seul couple d'adulte issu de larves obtenues sur une plante hôte donnée. Cette expérience a été répétée 20 fois, 10 couples étant transférés sur une espèce hôte nouvelle, les 10 autres, servant de témoin, étant transférés sur la même espèce hôte. La descendance est observée 4 semaines plus tard en notant la taille de la descendance, et en procédant à des zymogrammes. Le cas échéant, on note la présence d'une reproduction parthénogénétique, révélée par une descendance uniquement mâle (Mound, 1983) (Tab. 2 & 3).

Tab. 2 Transferts d'hôtes à partir d'un couple provenant du manioc

	manioc - manioc										manioc - gombo
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	10 répétitions
répétitions											
nombre de descendants	0	0	0	0	0	45	0	33	0	0	aucune descendance
reprod. parthenogen.	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	
type de zymogramme	-	-	-	-	-	II	-	II	-	-	

Tab. 3 Transferts d'hôtes à partir d'un couple
provenant du gombo

	gombo - gombo										gombo - manioc
répétitions	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	10 répétitions
nombre de descendants	89	108	122	70	102	65	137	121	91	76	aucune descendance
reprod. parthenogen.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
type de zymogramme	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	

Les changements d'hôtes dans les deux sens entre le manioc et le gombo n'ont pas donné de descendance. Une descendance bisexuée a toujours été observée dans le cas des transferts témoins gombo-gombo. Pour les transferts témoins manioc-manioc, la présence d'une reproduction parthénogénétique, indique que les femelles n'ont pas été fécondées.

Nous avons alors repris l'expérience en augmentant le nombre d'insectes par plante, présentant à un nouvel hôte non pas le couple parental, mais toute ou une partie de sa descendance (Tab 4).

Tab. 4 Essais de transferts à partir d'une descendance

	gombo - gombo	gombo - manioc	manioc - manioc	manioc - gombo
nbre de répétitions	5	5	5	5
nbre de descendance de seconde génération	5	0	3	0
reprod. parthenogen.	0	-	1	-
type de zymogramme	I	-	II	-

Les résultats obtenus vont dans le même sens que les précédents, et tendent à montrer l'impossibilité d'effectuer, dans nos conditions expérimentales, des changements d'hôtes entre le manioc et le gombo. Il faut noter également des difficultés quand à l'élevage des insectes sur manioc.

Nous avons entrepris en dernier lieu une expérience en présentant simultanément plusieurs plantes hôtes d'espèces différentes à des adultes d'origine donnée. Des plantes de *Manihot esculenta*, *Euphorbia heterophylla*, *Albemoschus* sp., *Sida rhomboïdea*, *Sida carpinifolia*, *Crotalaria* sp., *Centrosema pubescens*, *Pueraria phaseloides*, *Eupatorium odoratum*, *Lycopersicon esculentum*, *Solanum nigrum* ont été placées dans deux salles d'élevage. Dans la salle d'élevage n°1 ont été introduits des adultes de *B. tabaci* capturés sur gombo, dans la n°2, des insectes provenant du manioc.

Après six semaines, les insectes avaient colonisé l'ensemble des plantes hôtes dans la salle n°1; seules les plantes de manioc ne portaient pas de larves, bien que la présence d'adultes ait été notée sur les feuilles. L'analyse électrophorétique a révélé, chez les adultes après émergence, un zymogramme estérasique de type I, quel que soit l'hôte considéré. Dans la salle n°2, la population de *B. tabaci* était plus réduite, les insectes ne se trouvant que sur le manioc, avec des zymogrammes estérasiques de type II.

De telles différences de comportement selon les plantes hôtes considérées ont été décrites au Costa Rica, où l'on distingue deux races de *B. tabaci* selon leurs plantes hôtes: l'une se développe uniquement sur *Jatropha*, et l'autre sur de nombreux hôtes, mais pas sur *Jatropha* (Bird, 1957). Au Nigeria, des différences ont été notées selon les hôtes considérés, lors d'expériences de changements d'hôtes chez *B. tabaci* (Mound, 1981).

CONCLUSIONS

L'ensemble des résultats obtenus tant à démontrer qu'il existe en Basse Côte d'Ivoire deux types de *B. tabaci* ayant des comportements différents vis-à-vis de leurs plantes hôtes. Un premier type se développerait sur un grand nombre de plantes hôtes, mais pas sur le manioc; un second type serait inféodé au genre *Manihot*. Cette différence se reflète au niveau biochimique par la présence d'isozymes différentes au niveau des estérases. Le degré de différenciation des deux types mis en évidence doit être précisé par une étude du polymorphisme enzymatique des populations à plus vaste échelle, et par des essais de croisements.

Il semble, de plus, que le principal réservoir de *B. tabaci* vecteur dans l'épidémiologie de la Mosaïque Africaine du Manioc soit le manioc lui-même.

BIBLIOGRAPHIE

BIRD, J. (1957) A whitefly transmitted mosaic of *Jatropha gossypifolia*. Technical papers. Agricultural Experimental Station, Puerto Rico 22, 35 pp.

BABAUT, M. (1986) Intérêt des caractères enzymatiques et comportementaux pour la systématique des genres *Trichogramma* et *Trichogrammatoidea*. Diplôme Pratique des Hautes Etudes. Non publié.

DEBRET, B. ; PINTUREAU, B. ; BABAULT, M. (1983) Quelques données sur les estérases de *Trichogramma maidis* utilisés en systématique. Bull. Soc. Ent. Suisse 56, 383-388.

FARGETTE, D. ; FAUQUET, C. ; THOUVENEL, J.-C. (1985) Fields studies on the spread of African Cassava mosaic. Ann. Appl. Biol. 106, 285-294.

HARRISSON, B.D. ; BARKER, H. ; BOCK, K.R. ; GUTHRIE, E.J. ; MEREDITH, G. ; ATKINSON, M. (1977) Plant viruses with circular single-stranded DNA. Nature, 270, 760-762.

MOUND, L.A. (1981) Abstract of a paper presented at the International workshop on pathogens transmitted by whiteflies.

MOUND, L.A. (1983) Biology and identity of whitefly vectors in plant pathogens. In : PLUMB, R.T. & THRESH, J.M. (eds.) Plant virus epidemiology. The spread and control of insect-borne virus. Oxford, U. K. ; Blackwell Scientific Publications. 305-313.

ROBERTSON, I.A.D. (1988) Rôle joué par *Bemisia tabaci* dans l'épidémiologie de la Mosaïque Africaine du Manioc en Afrique de l'Est. In : La mosaïque Africaine du Manioc et son contrôle. Actes du séminaire. Edts Orstom. pp. 51-57.

SHAW, C.R. ; PRASAD, R. (1970) Starch gel electrophoresis of enzymes: a compilation of recipes. Bioch. Genet. 4, 297-320.

**LES MALADIES VIRALES DES PLANTES
TRANSMISES PAR ALEURODES EN AFRIQUE DE L'OUEST**

Projet CEE TS2A-0137-C (CD)

Rapport de mission
IIRSDA* 7 - 17 mai 1989

Denis Fargette
Chargé de recherche à l'ORSTOM
Institut Français de Recherche pour le Développement en Coopération

Août 1989

* IIRSDA: Institut International de Recherche pour le Développement à Adiopodoumé (Côte d'Ivoire).

PREAMBULE

La mission effectuée à l'IIRSDA du 7 au 17 mai avait plusieurs objectifs: il s'agissait de discuter des résultats de mes collègues entomologistes impliqués dans le projet CEE, de me rendre compte de l'évolution de la situation à l'IIRSDA et d'en étudier les répercussions sur le déroulement du projet. Il s'agissait aussi de réaliser plusieurs expériences relatives à la Mosaïque africaine du manioc (MAM), expériences jugées prioritaires dans le cadre du projet CEE. Je ne relate dans ce rapport que les résultats de la partie "expérimentale" de cette mission.

INTRODUCTION

Le programme scientifique détaillé du projet CEE (Fargette, 1988) souligne que plusieurs études, entamées au cours des programmes précédents à Adiopodoumé, seraient poursuivies en utilisant des outils de détection plus sophistiqués, susceptibles de surmonter certaines des difficultés rencontrées auparavant. Il s'agissait dans le cadre de ma mission:

1. De poursuivre la recherche des plantes réservoirs de la Mosaïque africaine du manioc.
2. De ré-évaluer la concentration en virus de la collection de variétés de manioc réunie par C. Fauquet à la station expérimentale d'Adiopodoumé.

Dans ce rapport, sont décrits les résultats obtenus au cours de cette mission. Les résultats acquis au cours de nos précédents programmes ont été publiés ailleurs (Fargette, 1985; Fargette et al., 1987). L'historique et le contexte scientifique de ces études ont été détaillés dans le programme scientifique du projet (Fargette, 1988; paragraphes 2.4, 3.2 et 4.2).

MATERIELS ET METHODES

1. Les plantes réservoirs. Au cours de la recherche de plantes réservoirs, 77 échantillons ont été testés. Les plantes adventices sont prélevées, essentiellement aux abords de champs de manioc virosés, puis sont identifiées. A plusieurs reprises, quelques échantillons de la même espèce ont été testés. Il s'agissait soit d'espèces de la famille des Euphorbiacées (que nous recherchions particulièrement), soit d'espèces particulièrement abondantes aux alentours des champs de manioc. Les plantes ont ainsi été testées au cours de trois séries de tests indépendants. Des fragments des feuilles terminales sont détachés puis broyés dans le tampon d'extraction

à raison de 1g de feuille pour 5 ml de tampon à l'aide d'un broyeur ultra-turax, puis sont testés en ELISA selon le protocole ci-dessous. En complément, la transmission mécanique à partir d'extraits de certains des échantillons a été testée sur *Nicotiana benthamiana*

2. Les variétés de manioc. La collection de manioc réunie par C. Fauquet au cours des années précédentes avait, cette année, été replantée en mars. Les conditions étaient donc optimales (expression des symptômes, accès des plantes...) pour réaliser les tests. Nous avons adopté la démarche suivante. On attribue tout d'abord une note globale de 0 à 5 (Indice de Gravité des Symptômes, IGS) pour caractériser l'intensité des symptômes de chaque variété. On note aussi l'état général de la variété (germination, croissance...) et on estime globalement l'incidence de la maladie. Ensuite, sur cinq des pieds présentant des symptômes, on prélève quelques feuilles terminales (jeunes feuilles en croissance). Des fragments des différents folioles sont détachés et broyés à l'ultra-turax dans le tampon d'extraction à raison de 1 g de feuille dans 10 ml. Les extraits sont ensuite dilués 5 fois. Les tests ELISA sont réalisés suivant le protocole ci-dessous avec les extraits dilués et non-dilués, de façon à s'affranchir des problèmes d'inhibiteurs présents aux faibles dilutions mais dont les effets s'estompent aux dilutions plus élevées (Fargette et al., 1987). 57 échantillons ont ainsi été testés au cours de deux séries de tests indépendants.

3. Le test ELISA. Nous avons utilisé la méthode ELISA indirecte dite du "triple-sandwich" (Cooper & Edwards, 1986), en sélectionnant certains des anticorps monoclonaux développés au SCRI (Thomas et al., 1986). Ainsi nous avons choisi l'anticorps monoclonal N°11 qui réagit le plus spécifiquement avec la MAM pour la recherche des plantes réservoirs et l'anticorps monoclonal N°18 anticorps qui réagit le plus intensément avec la MAM pour l'évaluation de la concentration en virus des variétés de manioc (Aiton & Harrison, communication personnelle). La méthode est celle du département de virologie du SCRI (Aiton, communication personnelle).

Schedule for indirect ELISA using ACMV Mabs

1. Coat plates with ACMV IgG at 1µg/ml, diluted in coating buffer.
100 µl/well.
Incubate plates at 25-30°C for 2-3 h.
2. Wash plates: 3 quick washes followed by three 3 min. washes in PBS-Tween then blot dry.
3. Add samples to plate, usually extracted in 1/10 in extraction buffer for geminiviruses.

- 100 μ l/well
Incubate plates overnight at 4°C.
4. Wash plates as in 2.
 5. Block plates as follows: add 5% dried milk powder dissolved in PBS-Tween-PVP.
200 μ l/well
Incubate plates at 25-30°C for 30 min.
 6. Drain plates. Do not wash.
 7. Add Mabs, usually diluted 1/3 in PBS-Tween-PVP
100 μ l/well
Incubate plates at 25-30°C for 2-3 h.
 8. Wash plates as in 2.
 9. Add rabbit-anti-mouse conjugate diluted 1/1000 in conjugate buffer.
100 μ l/well
Incubate plates at 25-30°C for 2-3 h.
 10. Wash plates as in 2.
 11. Add substrate : 0.6 μ g/ml in substrate buffer
150 μ l/well
Incubate at room temp. (or 25-30°C)
Read plates at 405 nm after 1 h and 2 h.
Leave overnight at 4°C and read plates again.

Buffer and reagents for indirect Mab ELISA

Coating buffer: carbonate buffer pH 9.6 (0.05M)

1.59 g Na_2CO_3

2.93 g NaHCO_3 in 1 litre d. H_2O

PBS (Phosphate buffered saline) :

8.0 g NaCl

0.2 g KH_2PO_4

2.9 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (or 1.44 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

0.2 g KCl

in 1 litre d. H_2O

usually make up 5 to 10 times buffer stock

PBS-Tween : PBS + 0.5% tween-20

Extraction buffer (for geminiviruses) :

0.05 M Tris-HCl pH 8.0

0.005 M EDTA

0.5% Tween 20 + 2% PVP

PBS-Tween-PVP: PBS-Tween + 2% polyvinyl pyrrolidone

Conjugate buffer: PBS-Tween PVP + 0.2% ovalbumin

Substrate buffer: 10% Diethanolamine pH 9.8 (with HCl)

Rabbit-anti-mouse conjugate: purchased from SIGMA Chemicals (product No. A1902 ; Anti-mouse IgG (whole molecule) Alkaline phosphatase conjugate, antibody developed in rabbits).

Substrate: purchased from Boehringer, W. Germany (4-Nitrophenylphosphate, disodium salt).

Dans chaque expérience on procède systématiquement à plusieurs répétitions. D'une part chaque échantillon est testé dans deux puits par plaque. D'autre part, tous les tests sont dupliqués sur deux plaques ELISA. Pour chacune des expériences les témoins "positifs" proviennent de feuilles de manioc virosés de la variété CB. Les témoins "négatifs" sont obtenus avec du tampon d'extraction seul, utilisé à la place de l'antigène. Plusieurs témoins "positifs" et "négatifs" sont ainsi disposés sur chacune des plaques.

RESULTATS

1. Les plantes réservoirs. Les résultats sont présentés dans les tableaux 1a, 1b, 1c correspondant à chacune des trois séries de tests. Les témoins "positifs" ont donné des réactions intenses, les témoins "négatifs" de faibles réactions, suggérant ainsi que les expériences se sont globalement déroulées dans de bonnes conditions. Cependant, plusieurs réactions "anormales" se sont produites en bordure des plaques généralement, mais parfois aussi à l'intérieur des plaques. Ces réactions "anormales" sont probablement dues à l'état général des plaques de polystyrène et rendent délicates l'interprétation de certaines réactions positives.

Il apparaît tout d'abord que le nombre de réactions positives est très faible. Ainsi aucune réaction positive n'est notée dans le tableau 1b et 1c. On ne note que 4 réactions positives dans le tableau 1a. Il s'agit de *Crotalaria hirtus* (famille des Euphorbiacées), de *Centrosema pubescens* (Papilionacée), de *Solanum torvum* (Solanacée) et d'*Erigeron floribundus* (Composée). Il faut noter que plusieurs autres plantes de la même espèce ont été testées au cours de ces expériences (9 *C. hirtus*, 6 *C. pubescens*, 2 *S. torvum* et 1 *E. floribundus*), mais qu'aucune d'entre elles n'a alors

donné de réactions positives. Enfin, l'intensité de réaction obtenue avec les quatre plantes adventices était nettement plus faible (à l'exception de *E. floribundus*) que celle des témoins de maniocs virosés.

Il faut souligner aussi qu'aucune des plantes testée ne présentait de symptômes typiques de viroses dues à des gémivirus (mosaïque, enroulement, jaunissement...) et qu'aucune des transmissions mécaniques n'a abouti.

2. Les variétés. Les tableaux 2a et 2b présentent le nom et l'origine des variétés testées, l'intensité des symptômes observés, les résultats détaillés des test ELISA et quelques observations sur la germination et la croissance ainsi que sur l'incidence de la maladie. Les témoins "positifs" ont donné des réactions intenses. Les témoins négatifs ont donné de faibles réactions, suggérant que les expériences ont été réalisées dans de bonnes conditions. Signalons cependant que lors de la deuxième série de tests, les réactions positives ont été particulièrement intenses. Ce phénomène de saturation a masqué ainsi de probables gradations dans l'intensité des réactions et n'a permis qu'une interprétation qualitative de certaines réactions.

Trois points sont à souligner.

--- Chez certaines variétés de manioc, aucun des pieds ne présentait de symptômes et les réactions des tests ELISA se sont révélées négatives. Ce résultat suggère que, dans l'échantillonnage utilisé, l'absence de symptômes correspond bien à l'absence de virus dans la plante. Nous avons donc affaire à des variétés réellement résistantes et non pas tolérantes.

--- L'estimation globale des symptômes à laquelle nous avons procédé a donné des résultats compatibles avec l'estimation beaucoup plus fine réalisée au cours des années précédentes basée sur la moyenne de toutes les feuilles de la plante. L'expression des symptômes d'une variété est donc stable d'une année à l'autre et une estimation "globale" est suffisante pour évaluer son comportement.

--- L'intensité des réactions est variable, suggérant des concentrations en virus différentes d'une variété à l'autre. Cependant, nous n'avons pas pu trouver de relation étroite entre l'intensité des symptômes et l'intensité des réactions ELISA.

DISCUSSION

Les plantes réservoirs. La recherche de plantes réservoirs de la Mosaïque africaine du manioc est intéressante à double titre. Le manioc étant originaire d'Amérique du Sud où la maladie n'existe pas, il est indispensable, pour mieux comprendre l'historique de la maladie, de trouver de quelles espèces le virus de la MAM est originaire. La découverte, parmi les plantes adventices, d'espèces réservoirs de la MAM permettrait de désigner des "candidats" potentiels (de tels résultats n'auraient cependant qu'un rôle indicatif, l'espèce ayant pu être infectée par une culture de manioc avoisinante). D'autre part, il nous faut connaître le rôle réel des plantes adventices dans l'épidémiologie de la maladie. Nos expériences ne permettent pas de répondre avec certitude à la première question, mais apportent en revanche des indications en ce qui concerne la seconde.

Les réactions positives que nous avons obtenues avec les échantillons issus de quatre plantes adventices doivent être interprétées avec prudence: d'une part, nous avons noté dans certaines de nos expériences la présence d'artéfacts qui rend délicate l'interprétation des réactions positives. D'autre part, il ne peut être exclu a priori que la phosphatase alcaline soit présente chez certaines des plantes adventices, à des concentrations suffisantes pour initier des réactions positives en ELISA. L'absence de symptômes et de transmission mécanique ne permet pas de confirmer la présence du virus. Le problème que nous rencontrons ici est général car la détection d'une réaction "positive" par un test, aussi sophistiqué soit-il, ne permet pas de donner de réponses sans ambiguïté. Il faut encore que l'agent pathogène soit isolé et que le postulat de Koch soit bouclé pour qu'une réponse claire soit obtenue. Dans le cas de la Mosaïque africaine du manioc, la transmission de l'agent pathogène s'est avérée très délicate et a retardé de nombreuses années l'isolement du virus, impossible à partir de manioc. Il est à craindre une situation similaire avec les plantes adventices.

L'utilisation d'anticorps monoclonaux ne permet donc pas d'obtenir des réactions sans ambiguïté lors de la recherche de réservoirs de la Mosaïque du manioc. Notons cependant, que le nombre de réaction "positives" est nettement plus faible que celui obtenu au cours d'expériences similaires réalisés avec des anticorps polyclonaux (Fargette, 1985). Ceci suggère qu'un certain nombre de réactions "positives" atypiques obtenues avec un sérum polyclonal ont pu être évitées avec des anticorps monoclonaux; les réactions aspécifiques étant probablement dues à des anticorps dirigés contre des composants de plante ou bien à des anticorps réagissant avec d'autres géminivirus sérologiquement reliés à la MAM. Si l'utilisation

d'anticorps monoclonaux n'a pas apporté d'informations décisives dans la recherche des réservoirs de la MAM, le très faible pourcentage d'échantillons ayant réagi permet de confirmer, a contrario, le rôle vraisemblablement très mineur que joue les plantes adventices dans l'épidémiologie de la maladie. Ce résultat renforce la conclusion obtenue par d'autres approches selon laquelle, en Côte d'Ivoire c'est le manioc lui-même (*Manihot esculenta*) qui est le principal réservoir de la maladie (Fargette et al., 1987; Fauquet et al., 1988). La situation est peut-être plus complexe dans d'autres pays. Ainsi, au Nigéria, on observe fréquemment des plantes adventices dont les symptômes sont typiques des géminivirus; les premiers tests sérologiques confirment la présence de géminivirus (Aiton et Harrison, communication personnelle).

Les variétés de manioc. Les résultats acquis au cours de cette mission ont un intérêt pratique et théorique. Du point de vue pratique, nous avons trouvé plusieurs variétés de manioc sans symptôme et sans virus, en dépit de plusieurs années consécutives d'exposition à de fortes pressions d'inoculum. Ces variétés sont des variétés améliorées au cours des programmes de sélection en Afrique de l'Est, au Kenya ou en Afrique de l'Ouest, à l'IITA. Ce résultat, si il se confirme, suggère que des plants de manioc de variétés hautement résistants, peuvent être cultivés, indemnes de virus, en Afrique de l'Ouest, même exposés à de fortes pressions d'inoculum. Des conclusions analogues ont été tirées en suivant d'autres approches, à Adiopodoumé (Fargette & Fauquet, résultats non publiés) et ailleurs (Thresh, communication personnelle).

Du point de vue théorique, cette étude apporte des informations complémentaires sur les relations, chez les variétés de manioc, entre l'intensité des symptômes et la teneur en virus à Adiopodoumé. En 1984, une étude préliminaire à partir d'un échantillonnage restreint de variétés avait indiqué qu'il existait une relation significative entre teneur en virus et intensité des symptômes (Fargette, 1985). En 1985, une analyse conduite à partir d'un échantillonnage plus large, avec des pieds de manioc plus âgés, avait montré que cette relation était en fait assez lâche (Fauquet et Fargette, résultats non publiés). Notre travail confirme les résultats de 1985: la relation entre la teneur en virus d'une variété de manioc et l'intensité des symptômes qu'elle exprime est une relation complexe qui ne peut pas se résumer à l'affirmation suivante "à symptômes faibles, concentration en virus faible, à symptômes élevés, concentration forte". Ainsi, nous avons trouvé des variétés extériorisant des symptômes faibles mais chez lesquelles les concentrations en virus sont aussi élevées, voir plus fortes, que chez d'autres variétés qui extériorisent pourtant des symptômes très élevés (exemple var. 27 vs 26; ou var. 19 vs var. 16).

Jusqu'à présent, les expériences ont été réalisées à un seul stade du cycle du manioc. Il serait intéressant de reprendre l'étude en s'intéressant cette fois à l'évolution de la concentration en virus au cours du temps chez ces variétés. L'étude serait alors menée "en champ" et en parallèle à une étude en chambre climatique, où les facteurs de variations "résiduels" seraient contrôlés. Une étude préliminaire sur les conditions optimales des tests ELISA (effet d'inhibitions et de saturations minimaux) serait nécessaire. Il serait particulièrement intéressant de tester les variétés résistantes créées par l'IITA et largement diffusées au Nigeria et dans plusieurs autres pays d'Afrique (Thresh, communication personnelle).

CONCLUSION

La mission accomplie a permis d'apporter des éléments de réponse en ce qui concerne plusieurs points développés dans les paragraphes 2.4 et 4.2 du programme scientifique du projet CEE. L'utilisation des anticorps monoclonaux s'est avérée utile, a permis l'acquisition d'informations supplémentaires, mais n'a pas permis de surmonter tous les problèmes rencontrés. Une étude plus approfondie du comportement des variétés résistantes semble nécessaire.

REMERCIEMENTS

Je remercie M. Boccas, Directeur Général de l'IIRSDA, d'avoir bien voulu m'accueillir au sein de son institut. Je suis reconnaissant à M. Thouvenel, Chef du Département Protection des Cultures de l'IIRSDA, d'avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires à la réalisation des expériences. M. Thé Henry a procédé à l'identification des plantes adventices. M. Kouakou et M. Nestor m'ont fourni un appui technique lors de la réalisation des tests ELISA. Je les en remercie. Enfin, cette mission a bénéficié du support financier de la CEE dans le cadre du projet TSA 0137 C (CD).

TABLEAUX

Tableau 1a, 1b et 1c. Résultats des tests ELISA relatifs aux plantes réservoirs. Sont indiqués l'espèce et la famille de chaque échantillon et, les résultats des tests ELISA avec chacune des plaques après une incubation de 2 h à 37° C et après incubation pendant la nuit à 4°C. Les conclusions sont indiquées dans les colonnes Ccl avec les conventions suivantes: "-" indiquant un résultat négatif, "+" un résultat positif et "?" un résultat douteux. Les résultats des "témoins positifs" sont donnés en bas de page.

Tableau 2a et 2b. De gauche à droite les colonnes indiquent respectivement le numéro de la variété, son IGS (voir matériel et méthodes), les résultats des tests ELISA pour chacune des plaques et des remarques relatives à la croissance, à la germination et à l'incidence de la maladie. Les résultats des "témoins" sont donnés en bas de page.

REFERENCES

- Clark, M. F. & Adams, A. N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34, 475-483.
- Cooper, J. I. & M. L. Edwards. 1986. Variations and limitations of enzyme-amplified immunoassays. In *Development in Applied Biology 1. Developments and Applications in Virus Testing* pp 139-154. Eds R. A. C. Jones and L. Torrance. Association of Applied Biologists, Wellesbourne, U.K. 312 pp.
- Fargette, D. 1985. Epidémiologie de la Mosaïque africaine du manioc en Côte d'Ivoire. *Editions de l'ORSTOM. Collection Etudes et Thèses* 203 pp.
- Fargette, D. 1988. Les maladies virales transmises par aleurodes en Afrique de l'Ouest. Programme scientifique du projet CEE. *Rapport ORSTOM multigraphié* 27 pp.
- Fargette, D., Thouvenel, J-C. & Fauquet, C. 1987. Virus content of leaves of cassava infected by African cassava mosaic virus. *Annals of Applied Biology* 110, 65-73.
- Fauquet, C., Fargette, D. & Thouvenel, J-C. 1988. Some aspects of the epidemiology of African cassava mosaic virus in Ivory Coast. *Tropical Pest Management* 34 (1), 89-91.
- Thomas, J. E., Massalski, P. R., & Harrison, B. D. 1986. Production of monoclonal antibodies to African cassava mosaic virus and differences in their reactivities with other whitefly-transmitted geminiviruses. *Journal of General Virology* 67, 2739-2748.

Tableau 1a	PLAQUE 1		PLAQUE 2			Ccl	PLAQUE 1		PLAQUE 2			Ccl	Espèce et famille	
11/5	Lecture 2h				Moy		Lecture nuit				Moy			
N°														
1	0,01	0,01	0,06	0,02	0,03	-	0,06	0,04	0,36	0,21	0,17	-		Croton hirtus (Euphorbiacée)
2	0,01	0,01	0,01	0,03	0,02	-	0,04	0,04	0,12	0,08	0,07	-		Croton hirtus (Euphorbiacée)
3	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	-	0,03	0,04	0,08	0,10	0,06	-		Croton hirtus (Euphorbiacée)
4	0,03	0,02	0,02	0,04	0,03	-	0,06	0,07	0,15	0,25	0,13	-		Croton hirtus (Euphorbiacée)
5	0,07	0,09	0,08	0,15	0,10	?	0,24	0,35	0,45	0,70	0,44	+		Croton hirtus (Euphorbiacée)
6	0,02	0,02	0,02	0,00	0,02	-	0,16	0,10	0,17	0,04	0,12	-		Ageratum conyzoides (Composée)
7	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,06	0,04	0,09	0,00	0,05	-		Centrosema pubescens (Papilionacée)
8	0,08	0,08	0,02	0,04	0,05	-	0,41	0,40	0,20	0,29	0,33	+		Centrosema pubescens (Papilionacée)
10	0,01	0,03	0,00	0,07	0,03	-	0,05	0,10	0,06	0,39	0,15	-		Celosia laxa (Amaranthacée)
11	0,07	0,05	0,01	0,00	0,03	-	0,61	0,49	0,20	0,10	0,35	-		Centrosema pubescens (Papilionacée)
12	0,04	0,03	0,00	0,00	0,02	-	0,26	0,23	0,08	0,05	0,16	-		Vernonia cinerea (Composée)
13	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	-	0,11	0,13	0,05	0,07	0,09	-		Ageratum conyzoides (Composée)
14	0,03	0,03	0,00	0,00	0,02	-	0,14	0,13	0,06	0,05	0,08	-		Ageratum conyzoides (Composée)
16	0,06	0,00	0,02	0,00	0,02	-	0,55	0,07	0,24	0,06	0,23	-		Discoglyprena caloneura (Euphorbiacée)
17	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,03	0,01	0,05	0,06	0,04	-		Discoglyprena caloneura (Euphorbiacée)
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	-		Eupatorium odoratum (Composée)
19	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	-	0,05	0,07	0,01	0,02	0,04	-		Eupatorium odoratum (Composée)
20	0,00	0,00	0,00	0,03	0,01	-	0,00	0,01	0,03	0,21	0,06	-		Celosia laxa (Amaranthacée)
22	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	-	0,02	0,00	0,12	0,10	0,06	-		Celosia trigyna (Amaranthacée)
23	0,00	0,02	0,02	0,01	0,01	-	0,02	0,05	0,06	0,05	0,04	-		Solanum nigrum (Solanacee)
24	0,02	0,01	0,00	0,00	0,01	-	0,08	0,06	0,06	0,06	0,06	-		Discoglyprena caloneura (Euphorbiacée)
25	0,02	0,03	0,00	0,05	0,03	-	0,08	0,10	0,06	0,24	0,12	-		Croton hirtus (Euphorbiacée)
26	0,07	0,23	0,12	0,05	0,12	?	0,60	1,68	0,63	0,30	0,80	+		Solanum torvum (Solanacee)
27	0,38	0,31	-	-	0,34	?	2,07	1,97	-	-	2,02	+		Erigeron floribundus (Composée)
Témoins														
C1	0,99	1,10	0,42	0,44	0,74		2,36	2,36	1,89	1,88	2,12			
C1/5	0,84	1,11	0,46	0,57	0,75		2,18	2,25	2,01	2,17	2,15			
C1/25	0,31	0,40	0,30	0,26	0,32		1,36	1,57	1,42	1,25	1,40			
C2	0,76	1,16	0,57	0,48	0,74		2,13	2,19	1,99	1,85	2,04			
C2/5	1,07	1,13	0,37	0,34	0,73		2,18	2,17	1,58	1,55	1,87			
C2/25	0,76	0,74	0,33	0,28	0,52		2,12	2,10	1,41	1,28	1,73			
Moyenne	Pl 1	0,21	Pl 2	0,10	0,16		Pl 1	0,62	Pl 2	0,47	0,57			
Remarque: - signifie qu'il n'a pas été testé														

Tableau 1b	PLAQUE 1		PLAQUE 2		Ccl	PLAQUE 1		PLAQUE 2		Ccl	Espèce et famille		
13/5	Lecture 2h				Moy	Lecture nuit				Moy			
N°													
34	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,03	0,03	*	*	0,03	-	Phyllanthus amarus (euphorbiaceae)
35	0,01	0,00	0,08	0,00	0,02	-	0,03	0,03	*	*	0,03	-	Cynanchum longides (asclepiacée)
36	0,00	0,00	0,06	0,00	0,01	-	0,02	0,02	*	*	0,02	-	Latana camara (Verbenaceae)
37	0,00	0,00	0,00	0,04	0,01	-	0,03	0,03	*	*	0,03	-	Euphorbia hirta (euphorbiaceae)
38	0,01	0,00	0,01	0,08	0,03	-	0,04	0,04	*	*	0,04	-	Phyllanthus amarus (euphorbiaceae)
39a	0,02	0,03	0,03	0,01	0,02	-	0,08	0,05	0,08	*	0,07	-	Euphorbia hirta (euphorbiaceae)
39b	0,00	0,02	0,02	0,01	0,01	-	0,02	0,02	0,04	0,04	0,03	-	Pueraria phaseoloides (papilionacée)
40	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	-	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	-	Muriantus arboreus (moraceae)
41	0,01	0,02	0,00	0,01	0,01	-	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	-	Ipomea involucrata (Convolvulacée)
42	0,02	0,01	0,01	0,08	0,03	-	0,03	0,07	0,09	*	0,06	-	Eupatorium odoratum (Composée)
43	0,03	0,01	0,03	0,00	0,02	-	0,03	0,02	0,03	*	0,03	-	Gluphaea brevis (tiliacée)
44	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	-	0,02	0,03	0,04	0,03	0,03	-	Ficus capensis (moracée)
45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	-	Sterculia tragacantha (sterculiaceae)
46	0,00	0,03	0,00	0,00	0,01	-	0,01	0,02	0,03	0,03	0,02	-	Triumfetta rhomboidea (tiliacée)
47	0,01	0,02	0,00	0,06	0,02	-	0,02	0,03	0,08	*	0,04	-	Justicia flava (acanthacée)
48	0,01	0,01	0,03	0,00	0,01	-	0,03	0,02	0,036	*	0,03	-	Bauhinia sp (caesalpiniacée)
49	0,01	0,01	0,09	0,07	0,04	-	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	-	Solanum torvum (solanaceae)
50	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	-	0,01	0,00	0,021	0,021	0,01	-	Phyllanthus amarus (euphorbiaceae)
51	0,00	0,01	0,02	0,00	0,01	-	0,01	0,01	0,021	0,019	0,02	-	Centrosema pubescens (papilionaceae)
52	0,02	0,02	0,00	0,06	0,02	-	0,02	0,03	0,041	*	0,03	-	Eupatorium odoratum (composée)
53	0,02	0,02	0,04	0,00	0,02	-	0,02	0,02	0,037	*	0,03	-	Justisia flava (Acanthacée)
54	0,01	0,01	0,01	0,03	0,02	-	0,03	0,03	0,04	0,04	0,03	-	Chlorophora excelsa (moraceae)
55	0,01	0,01	0,00	0,02	0,01	-	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	-	Ficus exasperata (moracée)
56	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	-	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	-	Vismia guineensis (Hypericacée)
57	0,02	0,03	0,00	0,06	0,03	-	0,03	0,07	0,07	*	0,06	-	Trema guineensis (ulmacée)
58	0,00	0,00	0,08	0,02	0,03	-	0,09	0,07	*	*	0,08	-	Gluphaea brevis (tiliacée)
Témoins													
C1	0,607	0,662	0,731	0,712	0,68		2,33	2,35	2,31	2,30	2,32		
C2	0,798	0,784	0,788	0,725	0,77		2,36	2,37	2,30	2,33	2,34		
C3	1,62	1,395	1,438	1,47	1,48		2,34	2,34	2,34	2,33	2,34		
Moyenne	PI 1	0,11	PI2	0,12	0,11		PI1	0,27	PI2	0,40	0,32		
Remarques: Le substrat utilisé est celui du SCRI dans cette deuxième évaluation des plantes réservoirs.													
En revanche, dans le premier cas, le substrat utilisé était celui de l'IRSDA qui, par la suite, a donné des réactions bizarres.													
*: il s'agit d'un effet "bordure" qui rend l'interprétation de la réaction impossible.													

Tableau 1c	PLAQUE 1	PLAQUE 2	Ccl	Espèce et famille			
15/5	Lecture 2h		Moy				
N°							
59	0,02	0,02	0,03	0,05	0,03	-	Synedrella nodiflora (Composée)
60	0,01	0,01	0,02	0,00	0,01	-	Ipomea triloba (Convolvulacée)
61	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	-	Hibiscus sabdariffa (Malvacée)
62	0,04*	0,01	0,00	0,00	0,01	-	Pueraria phaseolides (Papilionacée)
63	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	-	Croton hirtus (Euphorbiacée)
64	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	-	Crotalaria micronata (Papilionaceae)
65	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	-	Centrosema pubescens (Papilionaceae)
67	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	-	Centrosema pubescens (Papilionaceae)
68	0,04*	0,01	0,01	0,00	0,01	-	Solanum nigrum (Solanaceae)
69	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	-	Ageratum conyzoides (Composee)
70	0,02	0,01	0,03	0,03	0,02	-	Centrosema pubescens (Papilionaceae)
71	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	-	Erigeron floribundus (Composee)
72	0,01	0,02	0,02	0,03	0,02	-	Croton hirtus (Euphorbiaceae)
73	0,05*	0,01	0,02	0,01	0,01	-	Croton hirtus (Euphorbiaceae)
74	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02	-	Croton hirtus (Euphorbiaceae)
75	0,01	0,01	0,03	0,01	0,02	-	Eupatorium odoratum (Comosee)
76	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	-	Crotalaria ochroleuca (Papillonaceae)
77	0,03	0,03	0,01	0,02	0,02	-	Celosia laxa (Amaranthaceae)
78	0,08*	0,02	0,02	0,01	0,02	-	Solanum torvum (Solanaceae)
79	0,05	0,02	0,00	0,01	0,02	-	Erigeron floribundus (Composee)
80	0,02	0,02	0,03	0,00	0,01	-	Celosia laxa (Amaranthaceae)
81	0,01	0,02	0,00	0,00	0,01	-	Triumfetta rhomboidea (Tiliaceae)
82	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	-	Celosia laxa (Amaranthaceae)
83	0,06*	0,02	0,00	0,00	0,01	-	Eupatorium odoratum (Composee)
84	0,04	0,02	0,00	0,01	0,02	-	Emilia sagitata (Composee)
85	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	-	Pueraria phaseolides (Papilionacée)
86	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	-	Eupatorium odoratum (Composée)
Témoins							
C1	1,86	2,00	1,66	1,592	1,78		
C2	2,02	0,98	1,51	1,624	1,53		
C3	1,01	0,95	0,97	0,863	0,95		
Moyenne	P11	0,18	P12	0,15	0,02		
*: il s'agit d'un effet "anormal" qui rend l'interprétation de la réaction difficile.							

Tableau	IGS	Rep 1	Rep 2	Moy	Rep 1	Rep 2	Moy	Rep 1	Rep 2	Moy	Remarques
2a		12/5	non diluée		13/5	(non diluée)		13/5	(diluée 1/5)		
Variété											
1	3/4	0,57	0,52	0,55	0,82	0,80	0,81	0,41	0,67	0,54	
1		0,47	0,51	0,49	0,85	0,98	0,92	0,67	0,52	0,59	
1		0,39	0,40	0,40	0,63	0,88	0,76	0,75	0,70	0,72	
2	3	0,48	0,48	0,48	0,87	0,87	0,87	0,73	0,69	0,71	
3	3/4	0,45	0,49	0,47	0,88	0,85	0,87	0,72	0,69	0,70	
4	1/2	0,47		0,47	0,86	0,85	0,86	0,86	0,75	0,80	
5	2	0,48	0,60	0,54	0,80	0,97	0,89	0,65	0,83	0,74	
6	4	0,55	0,47	0,51	0,91	0,84	0,88	0,71	0,63	0,67	
7	1/2	0,60	0,56	0,58	0,69	0,72	0,70	0,46	0,46	0,46	bcp plantes saines
8	4	0,49	0,54	0,51	0,50	0,51	0,51	0,29	0,30	0,29	
9	3/4	0,43	0,41	0,42	0,75	0,66	0,71	0,68	0,63	0,66	
10	2	0,46	0,59	0,52	0,86	1,07	0,97	0,65	0,78	0,72	symptomes variables; certains sans
12	5	0,43	0,45	0,44	0,66	0,68	0,67	0,54	0,50	0,52	plantes rabougries; feuilles sans croissance
13	0	0,02	0,02	0,02	0,04	0,05	0,04	0,03	0,02	0,02	pas de plantes malades
14	1	0,31	0,28	0,29	0,42	0,40	0,41	0,30	0,30	0,30	très peu de plantes malades
15	3	0,43	0,57	0,50	0,78	0,96	0,87	0,62	0,74	0,68	
16	4	0,52	0,45	0,48	0,76	0,69	0,73	0,59	0,53	0,56	
17	1	0,39	0,41	0,40	0,64	0,67	0,66	0,56	0,54	0,55	plusieurs plantes sans symptomes
18	0	0,03	0,17	0,10	0,09	0,11	0,10	0,04	0,04	0,04	tous sains
19	1	0,45	0,44	0,44	0,86	0,86	0,86	0,82	0,74	0,78	presque tous sains
20	1	0,50	0,60	0,55	0,78	0,90	0,84	0,64	0,80	0,72	tous sains; sauf 1 couché avec symptomes
21	1	0,45	0,48	0,47	0,93	0,85	0,89	0,74	0,67	0,70	beaucoup de sains
22	2	0,39	0,35	0,37	0,75	0,73	0,74	0,58	0,60	0,59	plusieurs pieds sains
23	1/2	0,38	0,40	0,39	0,70	0,69	0,70	0,49	0,49	0,49	beaucoup de pieds sains
24	4	0,42	0,42	0,42	0,75	0,74	0,74	0,56	0,55	0,56	
25	3	0,48	0,52	0,50	0,88	0,93	0,91	0,76	0,83	0,80	
26	4/5	0,63	0,52	0,58	1,04	0,71	0,87	0,72	0,69	0,70	plante rabougries; croissance presque arrêtée
27	1	0,53	0,41	0,47	0,92	0,85	0,88	0,68	0,69	0,69	
28	3	0,47	0,47	0,47	0,63	0,88	0,75	0,69	0,41	0,55	
			Moy	0,44			0,74			0,58	
			Var	0,12			0,22			0,20	
			CV	3,58			3,32			2,92	

* : le substrat utilisé provient de l'IRSDA. Il a donné des réactions intenses immédiates, annulant ainsi de possibles différences dans les expériences du lendemain, les mêmes variétés ont été testées, avec cette fois-ci du substrat du SCRI.
Par la suite, les expériences ont toutes été faites avec du substrat SCRI.

[illegible]

MULTIVARIATE ANALYSIS OF ANTIGENIC VARIATION AMONG GEMINIVIRUS ISOLATES
ASSOCIATED WITH CASSAVA MOSAIC DISEASED. Fargette¹, P.F. McGrath, J.W. McNicol, M.M. Aiton and B.D. Harrison

Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee DD2 5DA, U.K.

INTRODUCTION

Extensive work on the geographical variation among geminivirus isolates associated with cassava mosaic disease in Africa and India has been conducted for several years in the Virology Division of the Scottish Crop Research Institute and results of these studies have been summarized elsewhere (Aiton and Harrison, 1988; Aiton *et al.*, 1988; Harrison *et al.*, 1987). Virus isolates from 10 countries in Africa and the Indian subcontinent were tested against a panel of monoclonal antibodies (MAbs) prepared against a west Kenyan isolate of African cassava mosaic virus (ACMV; Thomas *et al.*, 1986). On the basis of the occurrence of 17 epitopes, the isolates fell into three groups. Group A isolates came from Ivory Coast, Nigeria, Angola, South Africa and western Kenya; Group B isolates came from coastal Kenya, Malagasy, Malawi and Tanzania, and Group C isolates were from India and Sri Lanka. Within each group there was some variation: group A isolates shared at least 14 epitopes with the west Kenyan isolate, group B isolates shared 4 to 9 epitopes with it and group C isolates shared only 2 or 3. Moreover, isolates in the same group tended to share the same epitopes (Harrison and Robinson, 1988).

The numerical data obtained by ELISA in the work described above involved the reactions of several dozen virus isolates with a panel of 17 MAbs. Thus although an analysis and diagrammatic representation of the whole set of data is desirable, this is difficult in practice. A diagram summarizing the data was produced by Harrison and Robinson (1988) but this took only the qualitative information into account, each reaction between a virus isolate and a MAb being scored either positive or negative. We describe here a different system for representing the data, based on multivariate analyses of the quantitative values obtained by ELISA. First, Hierarchical Cluster Analysis (HCA) was done to put the grouping of virus isolates on a mathematical basis. Principal Component Analysis (PCA) was then conducted to establish, in space with a limited number of dimensions, the positions of individual isolates, the occurrence of clusters (groups) of isolates, and the variation within and between these groups. In addition, the grouping of different MAbs, on the basis of their pattern of reactions against the isolates, was determined and

¹On secondment from ORSTOM (Institut Francais de Recherche Scientifique pour le Developpement en Cooperation)

illustrated. Finally, Stepwise Discriminant Analysis (SDA) was done to establish which MABs comprise the minimum number needed to distinguish between the groups of isolates.

MATERIAL AND METHODS

A relatively large panel of MABs was available, but not all the isolates were tested with the same selection of MABs during the six-year study. Therefore two versions of the analyses were performed to minimize the amount of missing data:

- (a) A smaller number of MABs (12) and a larger number of isolates (32 in group A, 17 B and 12 C) were used. These MABs are those known as SCR 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 26 and 29.
- (b) A larger number of MABs (14) and a smaller number of isolates (26 A, 17 B and 12 C) were used. The MABs included those listed above, together with SCR 28 and 32.

For both data sets an ELISA reading was taken after incubation with substrate for 1 hr at room temperature and also after subsequent incubation overnight at 4°C. The mathematical procedures used for HCA, PCA and SDA are essentially as described by Gnanadesikan (1977).

RESULTS

The three groups of isolates obtained by HCA correspond to the groups proposed previously, i.e. the West African group (A), the East African group (B) and the Indian group (C). Increasing the number of MABs (and decreasing correspondingly the number of isolates analysed) did not change the grouping appreciably. Analyses of overnight readings allowed a better distinction between the groups than similar analyses of 1-hour readings and therefore the subsequent analyses were done on the overnight readings.

For PCA, the results were used from 61 isolates tested against a panel of 12 MABs. The first principal component was a weighted average for all the MABs (with low weights for SCR 18 and 20) and accounted for 61.2% of the variance. The second component had large positive coefficients for SCR 17, 23 and 26 and large negative coefficients for SCR 16, 19, 21, 22, 25 and 29. This accounted for 26.6% of the variance. The third component had large negative coefficients for SCR 18 and 20 and smaller positive coefficients for the other MABs. This accounted for 5.1% of the variance. Therefore, PCA allows us to represent in two dimensions nearly 88% of the variance of the results contained in a 61 x 12 table. Indeed by including a third axis about 93% of the information can be represented.

Plots of the first two principal components clearly separated the three groups of isolates. However, the groups differ in the amount of variation they contain, with group B being the most variable. The variation can be attributed to several factors. It can be caused by differences in reaction intensity, such as those caused by differences between isolates in virus concentration. This kind of variation would appear preferentially along axis 1 (which represents an average of the reactions given by all the MABs). Variation can also be attributed to the failure of some MABs to react because the isolate lacks the corresponding epitopes. This would appear preferentially on the axis on which these MABs have their greatest weight. Finally, variation can be

linked to differences in the relative intensity of reaction of some MABs, such as those caused by minor changes in individual epitopes. All three kinds of variation were apparent in these studies, although most of it is caused by differences in reaction intensity and by the absence/presence of some epitopes. However, the considerable variation found among isolates in group B mainly reflects the absence of different combinations of epitopes in different isolates within this group rather than differences in concentration. Group C appears to be much more compact in plots of the first two components, but some minor variation is clearly expressed along axis 3 and is caused by variation in reactions with MABs SCR 18 and 20 which have a strong influence on the position of points along this axis. Group A is the most compact cluster in the three dimensions, despite including the most isolates and the results of experiments conducted over a period of six years. The small variation within group A is attributed mainly to differences in reaction intensity (axis 1) and to differences in relative intensity of reactions with a few MABs, such as SCR 19 and 22 (axis 2).

Further analysis of the correlation matrices indicates that the reactions of MABs SCR 16, 19, 21, 22, 25 and 29 were highly correlated with each other. Similarly, the reactions of MABs SCR 17, 23 and 26 were highly correlated. The reactions of SCR 18 and of SCR 20 were not significantly correlated with those of any other MAB. The reactions of SCR 14 were correlated significantly, although not strongly, with those of every other MAB except SCR 18 and 20. Principal Component Analysis allows a clear representation of the relationships between the reaction patterns of the MABs, on the basis of the readings obtained, in plots of the two first principal components.

The application of Stepwise Discriminant Analysis to the results given by 55 isolates in reactions with 14 MABs allowed us to identify the best combination of MABs necessary to distinguish the different groups of isolates. Reactions with MABs SCR 17, 20, 21 and 23 classified correctly 53 of the isolates. Indeed, increasing the number of MABs did not significantly improve the classification. Only two isolates were misclassified and these exceptions can be explained by technical problems.

DISCUSSION

Multivariate analyses proved to be useful to group the virus isolates (HCA), to display the variation between and within groups of isolates (PCA), to illustrate the relationships between the patterns of reactivity of different MABs (PCA) and to select the MABs needed to discriminate between groups of isolates (SDA). These analyses confirm and refine previous interpretations of the data (Harrison and Robinson, 1988). They provide a clear picture of the relationships which exist and are a tool powerful enough to cope with further analyses, in which the number of virus isolates or viruses is increased. These sorts of analysis could also be helpful for assessing antigenic variation in countries or areas where the availability of MABs is restricted and where ELISA plate-reading facilities are not available. For example, SDA would help to select the MABs needed to study the range of variation among strains or related viruses. In addition, a grading system based on visual assessment of the strengths of ELISA reactions could be worked out which would reveal much of the antigenic variation that exists.

REFERENCES

- Aiton, M.M., Harrison, B.D. (1988). Virus isolates from mosaic-affected cassava in the Ivory Coast. Rep. Scott. Crop Res. Inst., 1987: 190-191.
- Aiton, M.M., McGrath, P.F., Robinson, D.J., Roberts, I.M., Harrison, B.D. (1988). Variation in Indian cassava mosaic geminivirus. Rep. Scott. Crop Res. Inst., 1987: 191.
- Gnanadesikan, R. (1977). Methods for statistical data analysis of multivariate observations. John Wiley & Sons, New York, p.311.
- Harrison, B.D., Lennon, A.M., Massalski, P.R., Robinson, D.J., Thomas, J.E. (1987). Geographical variation in geminivirus isolates associated with cassava mosaic disease. Rep. Scott. Crop Res. Inst., 1986: 179-180.
- Harrison, B.D., Robinson, D.J. (1988). Molecular variation in vector-borne plant viruses: epidemiological significance. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B321: 447-462.
- Thomas, J.E., Massalski, P.R., Harrison, B.D. (1986). Production of monoclonal antibodies to African cassava mosaic virus and differences in their reactivities with other whitefly-transmitted geminiviruses. J. Gen. Virol. 67: 2739-2748.

ECOLOGICAL STUDIES ON THE IMMATURE STAGES OF THE WHITEFLY *BEMISIA TABACI* ON CASSAVA

Fishpool, L.D.C., Burban, C. & Abisgold, J.D.^o

Institut Francais de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération (ORSTOM),
Laboratoire de Phytovirologie, BP V51, Abidjan, Côte d'Ivoire.

^oOverseas Development Natural Resources Institute, Central Avenue, Chatham Maritime,
Chatham, Kent ME4 4TB, UK.

Résumé

La mouche blanche *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) est le seul insecte connu vecteur de la mosaïque africaine du manioc. Des essais aux champs sont en cours en basse Côte d'Ivoire pour étudier l'écologie des populations aux stades immatures sur le manioc. Des données préliminaires sur la vitesse de développement et le taux de mortalité de chaque stade, la distribution à l'intérieur de la plante et l'évolution des populations dans le temps, sont présentées ici. Les mensurations morphométriques ont révélé qu'on peut distinguer entre les sexes au dernier stade larvaire.

Introduction

The whitefly *Bemisia tabaci* Genn. (Homoptera: Aleyrodidae) is the only known insect vector of African Cassava Mosaic Virus. This disease and the rôle played in its epidemiology by *B. tabaci* have been the subject of a series of studies in southern Côte d'Ivoire, West Africa (e. g. Fargette *et al* 1985, Fauquet *et al* 1988). Hitherto work on the vector has concentrated largely on the adult (Fargette 1985, Fishpool *et al* 1988): preliminary findings from a continuing field study of the population ecology of the immature stages are presented below.

The work is being carried out on an experimental farm at Adiopodoumé (05°19'N 04°08'W), 20km W of Abidjan in the forest zone of Côte d'Ivoire. The Kenyan cassava variety Kasimbidgi Green has been used, which is largely resistant to the disease, and is grown in plots of 1ha. Studies have concentrated on the first 4-5 months in the life of a cassava crop as it has been shown that infection with the disease after this period results in little yield loss (Fargette *et al.*, 1988).

Developmental Times

Direct observations in the field, at average mean temperatures of 26-28°C and average minimum relative humidities 63-65%, have shown that mean developmental times of the immature stages are as follows:

Immature stage	Mean duration in days
Egg	6.1
I instar	3.5
II instar	2.3
III instar	2.7
IV instar	3.5
'Pupa'	2.7
Total	20.8 (Range 18-23, n=46)

Population Curves

Population curves of nymphs within a cassava crop over the first five months after planting are shown in Figs. 1 & 2. It can be seen that once the crop has been colonised there is a rapid build up in numbers to a maximum at 7-10 weeks, whence there is a marked decline. Similar shaped population curves are seen for adult numbers in cassava of the same age (Fishpool *et al* 1988 and unpublished observations). While with a developmental time of about three weeks from egg to adult some four to five generations are possible during this period, the degree of overlap between generations is such that it is not possible to distinguish them.

Distribution within plant

Adult *B. tabaci* feed and oviposit preferentially on the youngest open five to seven

leaves of a cassava shoot (Fargette 1985). This, coupled with the rapid growth of cassava during this period (one leaf per 1,2 days) and the fact that *B. tabaci* nymphs are sessile, results in a stratification by age of instars down the cassava plant, as can be seen in Fig. 3. This has implications when devising sampling programmes for nymphs (Abisgold & Fishpool in prep.) and explains the choice of leaves sampled in Fig. 2.

Mortality

Preliminary estimates of mortalities of immature stages in the field have been obtained:

Developmental Stage	Mortality
Egg	negligible
I instar	35-50%
II instar	5-15%
III instar	5-15%
IV instar + 'Pupa'	30-40%
Survivorship to adult	2-10%

The main causes of mortality seem to be the failure of I instar nymphs to establish themselves after eclosion and death through parasitism and predation of the IV instar. The main predators recorded are mites of the genus *Euseius* (Acari: Phytoseiidae), while the parasitic wasp *Encarsia transvena* (Hymenoptera: Aphelinidae) is responsible for mortalities ranging from 10 to 60% of the IV instar and 'pupa' (Limberg & van Lingen 1988, and unpublished observations).

Morphometrics of IV instar nymphs

Morphometric measurement of the sizes of IV instar nymphs and 'pupae' revealed them to be bimodally distributed. The smaller size class, (length 0,55-0,63mm, width 0,35-0,43mm), gave rise uniquely to male adults while the larger class, (length 0,67-0,76mm, width 0,44-0,5mm) produced only females imagines. This is being used to investigate possible variations in the sex ratio of the population with time; *B. tabaci* is able to reproduce parthenogenetically with unfertilised eggs developing into males (Mound 1983).

Studies into the population ecology of immature *B. tabaci* continue and the results will be integrated with those from concurrent monitoring of adult populations in cassava, investigations of associated flight behaviour, and disease epidemiology.

References

- Abisgold, J.D. & Fishpool, L.D.C. In Prep. A method for estimating the population sizes of whitefly nymphs (*Bemisia tabaci* Genn.) on cassava.
- Fargette, D. (1985). Epidémiologie de la mosaïque africaine du manioc en Côte d'Ivoire. Ph.D. thesis. Faculté des Sciences de Montpellier, 210pp.
- Fargette, D., Fauquet, C. & Thouvenel, J.-C. (1985) Field studies on the spread of African cassava mosaic. Annals of Applied Biology 106: 285-294.
- Fargette, D., Fauquet, C. & Thouvenel, J.-C. (1988) Yield losses induced by African cassava mosaic virus in relation to the mode and date of infection. Tropical Pest Management 34(1): 89-91.
- Fauquet, C., Fargette, D. & Thouvenel, J.-C. (1988) Some aspects of the epidemiology of African cassava mosaic in Ivory Coast. Tropical Pest Management 34(1): 92-96.
- Fishpool, L.D.C., van Helden, M., van Halder, I., Fauquet, C. & Fargette, D. (1988) Monitoring *Bemisia tabaci* populations in cassava: field counts and trap catches. In: Fauquet, C. & Fargette, D. (eds) The International Seminar on African Cassava Mosaic Disease and its Control. Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, 4-8 May 1987, CTA Wageningen, The Netherlands, pp. 64-76.
- Mound, L.A. (1983) Biology and identity of whitefly vectors of plant pathogens. In: Plumb, R.T. & Thresh, J.M. (eds.) Plant Virus Epidemiology. The Spread and Control of Insect-borne Viruses. Blackwell, Oxford, U.K., pp. 305-313.
- Limberg, G. & van Lingen, T. (1988) Natural enemies of *Bemisia tabaci* (Genn.) in Côte d'Ivoire. Unpublished report, ORSTOM, 23pp.

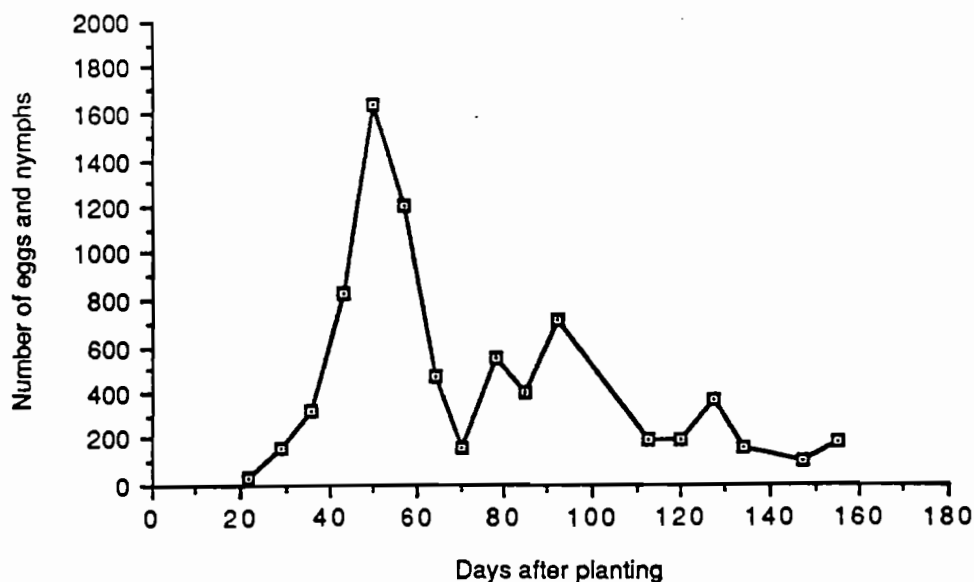


Fig. 1 Change with time in combined numbers of all living immature stages of *Bemisia tabaci* in a cassava crop over the first five months of growth (Dec. 88 - May 1989). Each data point represents the total recorded from one complete plant, except for the first three which are the means from five plants.

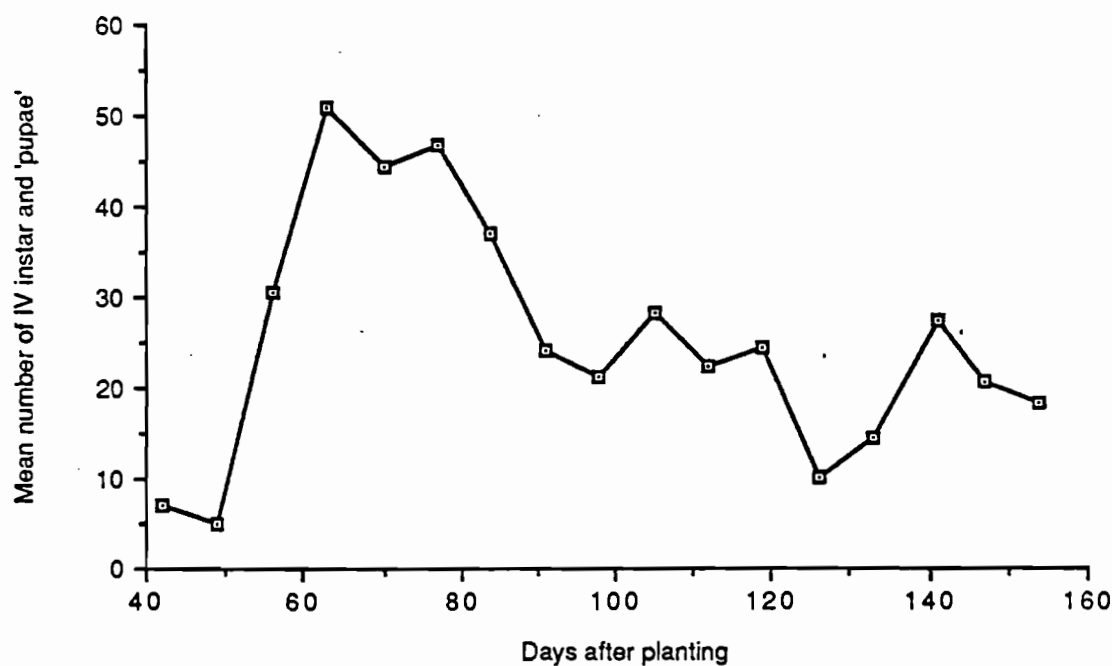


Fig. 2 Change with time in numbers of living IV instars and 'pupae' of *Bemisia tabaci* in a cassava crop over the first five months of growth (Dec. 88 - May 1989). Each data point is the mean number recorded from leaves 10 to 17 from a sample of 49 plants, where leaf 1 is the youngest (apical) open leaf of a stem.

EEC PROJECT (No. TS2AO137C):

WHITEFLY-TRANSMITTED PLANT DISEASES IN WEST AFRICA

Entomological Section - Report on activities March to August 1989

Fishpool, L.D.C. & Burban, C.

IIRSDA Adiopodoumé BP V51 ABIDJAN 01 COTE D'IVOIRE

This report gives details of the work undertaken at Adiopodoumé, Côte d'Ivoire on the biology and ecology of the whitefly *Bemisia tabaci*, during the period March to August 1989.

Bemisia tabaci is the only known insect vector of African Cassava Mosaic Virus and a proper understanding of the epidemiology of this disease requires a sound knowledge of the ecology of this pest under Afrotropical conditions, both on cassava and in relation to other host plants. Much of this information is lacking; the project's work programme is designed to try to provide such data.

The programme is divided into three sections:

1 Population ecology of *B. tabaci* on cassava. (LDCF)

An in-depth field trial, begun in December 1988, continued throughout the period of the report. This involved detailed monitoring of many facets of the cassava - vector - disease system. To this end a 1ha plot had been planted with healthy cassava and weekly measurements of numerous growth parameters of the crop were taken together with recording the timing and location of plants showing disease symptoms. The whitefly populations associated with the crop were monitored in the following ways, using methods and sample sizes established in earlier work:

1 The numbers and distribution of adults were sampled in the field twice weekly by direct counts.

2 The number and distribution of last instar nymphs were sampled in the field once a week also by direct counts.

3 The numbers of last instar nymphs were also counted in the laboratory under a binocular microscope from a pre-defined sample of leaves, when estimates of parasitism and mortality from other causes, sex ratio (by morphometric measurement), and numbers of predators could be made.

4 The within-plant distribution of all immature stages was monitored weekly by destructive samples involving the counting and aging of eggs and nymphs in relation to leaf age.

5 Estimates of the developmental rates of each immature stage and of mortalities within that stage were made in the field by twice daily inspections of individually flagged eggs and nymphs.

6 Flight behaviour of whitefly populations in and around the crop were monitored continuously using attractive and non-attractive sticky traps. Trap design is such that data on height and direction of flight could be obtained. In addition, a number of separate experiments to monitor the timing of flight activity were carried out.

2 The importance of alternative plant hosts. (CB)

Although *B. tabaci* has been recorded from some 60 plant species in southern Côte d'Ivoire it is not known whether or to what extent, the whitefly populations associated with cassava make use of other host plants. Field experiments are in progress designed to monitor and quantify *B. tabaci* populations in other crops and on wild plants in and around the cassava study site.

The work is being carried out on four 1 ha plots, three of which form part of the experimental farm where the cassava studies are taking place, the fourth is situated nearby and is surrounded by forest. All plots were originally cleared of vegetation, two were then sown with nitrogenating legumes (*Cyamopsis senegalensis* and *Crotalaria mucronata*, both hosts of *B. tabaci*) while on the other two the spontaneous vegetation was allowed to grow freely. Every second month the vegetation of each plot was sampled using a previously determined method. Firstly the numbers of the last nymphal instar of *B. tabaci* were counted, using a

microscope, from each plant taken from 5 x 1 sq. m. quadrats. In addition the plant species from the fallows were identified, their relative abundance in the samples assessed, and their importance as host to *B. tabaci* estimated by relating the numbers of whitefly nymphs to total foliar surface area of the species, as measured by a leaf area index meter.

3 Electrophoretic studies of *B. tabaci*. (CB)

As part of a continuing complementary study to 2 above, *B. tabaci* nymphs, taken from different host plants, have been subjected to electrophoretic analyses to look for possible enzymic differences between populations. The rationale is that there may exist races or biotypes of '*B. tabaci*' which are obligately associated with particular hosts or group of hosts but which cannot be distinguished morphologically.

Work on this continued throughout the period covered by this report and initial results suggest that there are consistent differences in the esterase patterns obtained from whitefly taken from cassava and those from all other host plants so far examined, which latter all share the same pattern.

Other activities undertaken included preparation of presentations by both authors to be given at the IV International Plant Virus Epidemiology Workshop held at Montpellier France in September 1989. In addition, routine laboratory and office duties were carried out.

SOME ASPECTS OF THE EPIDEMIOLOGY OF OKRA LEAF CURL IN CÔTE D'IVOIRE

P. N'Guessan, D. Fargette, C. Fauquet & J-C. Thouvenel

ORSTOM. Adiopodoumé. BP V 51. Abidjan. Côte d'Ivoire.

INTRODUCTION

Okra leaf curl virus (OLCV) is a serious disease that limits the culture of numerous okra varieties (*Abelmoschus* spp.) in Côte d'Ivoire. The characteristic symptoms include curling of the leaves, vein thickening and a decrease of leaf area. It can lead to a severe stunting and for some varieties to the death of the plant. In the field, the disease is transmitted by the whitefly *Bemisia tabaci* Genn; experimentally, it can be transmitted by grafting. Virus particles of the geminate type have been observed associated with the disease (Fauquet & Thouvenel, 1987). In 1986 and 1987, experiments were conducted to study some aspects of the epidemiology of the disease in Côte d'Ivoire, its transmission, prevalence in the country and development in space.

TRANSMISSION OF THE DISEASE

In preliminary experiments, it was established that the disease could not be transmitted through the seeds or by mechanical inoculation : Fifty seeds from infected okra plants were grown in insect-proof glass-houses. The experiment was repeated three times. No symptom of OLCV was noticed in any of the plants. Extracts of infected okra were inoculated to okra, cassava and *Nicotiana benthamiana*. In total, 75 plants of each species were tested. However, no symptoms were observed in any of the inoculated plants. These experiments suggest that mechanical inoculation to these plants is unlikely and confirm that there is no transmission through the seed. Consequently, field spread only depends on whitefly transmission.

The percentage of viruliferous whiteflies in the field was assessed by transferring groups of 20 whiteflies originating from okra-infected fields onto healthy okra plants (cv. Clemson spineless) in the glass-house. In total, 75 okra were tested and the number of plants showing symptoms was recorded. The percentage of viruliferous whiteflies was deduced from the formula of Gibbs and Gower (1960) and was found to be c. 4%. Transmission from okra to cassava, from okra to *Nicotiana benthamiana* and from cassava to okra were also tested but no successful transmission was observed. No pupae were found on the tested plants, suggesting that whiteflies did not adapt successfully when transferred to these species.

PREVALENCE OF THE DISEASE

Previous observations have shown that Okra leaf curl occurred in numerous regions of Côte d'Ivoire. In 1987, experiments were conducted to assess in more details the prevalence of the disease in the country. Along a north-south transect in Côte d'Ivoire, four sites were selected and two varieties, one known to be susceptible (Clemson spineless), the other known to be resistant (ORS 520) were planted in a 20 x 20 m plot in early April. Sites were Sinematiali (north of Côte d'Ivoire in the savanna area; one rainy season from June to October; 1200 mm), Marabadiassa (centre of Côte d'Ivoire; savanna and forest, one rainy season from April to October, 1500 mm), Go-hermankono (South of Côte d'Ivoire, forest region, double rainy seasons, March to July and September to November, 2000 mm) and Adiopodoumé (same region as Go-hermankono but further south and along the coast). Disease incidence was assessed and the number of whiteflies was estimated weekly.

OLCV and whitefly vectors seem to be widespread in Côte d'Ivoire although marked differences did occur between the four sites. Disease incidence in the susceptible variety reached 91% in Sinematiali, 69% in Marabadiassa, 5% in Go-hermankono and 36% at Adiopodoumé. Not only the final disease incidence but also the course of infection varied between sites, the epidemics in the north sites began later than in the south. Dynamics of whitefly populations also varied and higher populations were observed in the north than in the south. Other factors are likely to influence the epidemiology of OLCV as differences in disease incidence cannot be fully explained by corresponding differences

in whitefly populations: In particular, average number of whiteflies per plant was similar in Adiopodoumé and in Go-hermankono although disease incidence was five times greater in the former than in the latter. Thus, further information is needed in order to understand better the epidemics, especially about the nature and the prevalence of the virus reservoirs.

DISTRIBUTION OF THE DISEASE IN SPACE

Disease incidence and whitefly distribution were recorded in a 0.5 ha okra field planted in late March 1986. Infection was not homogenous within the field and strong border effects were observed. In particular, higher disease incidence was noticed on the south-west border, which is regularly exposed to the prevailing south-west wind. Disease incidence gradually diminished towards the centre of the field forming a decreasing gradient of infection. This gradient was apparent 30 days after planting and persisted during the rest of the experiment, although it tended to become less obvious with time. Whitefly distribution was not homogenous either and showed similar patterns characterised by higher populations on the south-west wind-exposed border. Modifications of the wind characteristics at the edge of the field may explain the greater concentration of whiteflies and the subsequent higher disease incidence on the wind-exposed borders (N'Guettia et al., 1986).

DISCUSSION

Spatial distribution of okra leaf curl shares some similarities with that of African cassava mosaic virus (ACMV) with gradients of infection from the wind-ward border to the center of the field (Fargette, 1985). Temporal patterns of spread also showed some similarities with ACMV with period of high disease incidence at the beginning of the rainy season and only very low levels in the short dry season (N'Guessan, unpublished results). These common characteristics of the epidemiology are likely to be explained by features of the biology of their common vector, *Bemisia tabaci*

Difficulty of mechanical inoculation and low percentage of transmission by the whitefly vector may be characteristics of the geminiviruses and

further work on the relationship between virus, host plant and vector is needed. Further information is also required on the nature and the prevalence of the virus reservoir for a better understanding of the epidemiology. However, the pathogen agent should be identified and specific and sensitive means of detection should be developed before progress can be made in this direction.

REFERENCES

- Fargette, D. (1985). *Epidémiologie de la Mosaïque africaine du manioc en Côte d'Ivoire*. PhD thesis of the university of Montpellier. 203 pp.
- Fauquet, C., Thouvenel, J.-C. (1987). *Plant viral diseases in the Ivory Coast*. Eds. ORSTOM. 243 pp. Bondy.
- Gibbs, A.J., 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.
- N'Guettia, Y., Fargette, D., Fauquet, C. (1986). Influence du vent sur la dispersion des maladies virales transmises par aleurodes. *Actes du colloque sur l'Agrométéorologie et la Protection des cultures dans les zones semi-arides*, Niamey 8-12 décembre 1986, pp 35-56.

RAPPORT SEMESTRIEL # 2

Septembre 1989 -Février 1990

INTRODUCTION

Le plan du rapport #2 est semblable à celui suivi dans le rapport précédent. Il comprend deux parties principales:

--- (1) Dans l'une, intitulée "Déroulement du Programme", j'indique comment se développe le projet du point de vue général: mise en place des sous-contrats, réunions, missions...

--- (2) Dans l'autre, intitulée "Résultats Scientifiques", je décris les recherches effectuées et les résultats obtenus. En fait, comme dans le rapport #1, j'ai adopté pour la description des résultats scientifiques une présentation en "trois temps", centrée sur le document présent et étayée par des documents supplémentaires:

(a) Une présentation concise. Le lecteur trouvera dans ce rapport les résultats essentiels présentés en quelques lignes. Cette partie a été conçue pour se lire de façon indépendante. Cependant pour plus de précisions, le lecteur aura intérêt à se rapporter aux documents joints en annexe.

(b) Un document de synthèse déjà en possession des lecteurs du rapport #1. Le lecteur pourra s'y référer si il a besoin de remettre "en situation" tel ou tel résultat, s'il cherche plus de précisions sur la justification de telle ou telle étude ou s'il s'interroge sur les relations entre différents volets des recherches.

(c) Des documents complémentaires. Il peut s'agir de rapports de missions, de compte-rendus de congrès, d'articles scientifiques, de rapports à usage interne... Ces textes décrivent de façon plus précise les travaux effectués. Le lecteur pourra s'y rapporter lorsqu'il a besoin de précisions sur un résultat particulier.

1. DEROULEMENT DU PROJET

Les points, rapportés ci-dessous selon l'ordre chronologique, indiquent que l'ensemble des sous-contrats du projet a été signé dans des délais raisonnables (1, 2, 4, 6, 7) et soulignent qu'à la suite des changements survenus à Adiopodoumé (Côte d'Ivoire) des solutions rapides ont été trouvées (5), tandis que d'autres sont activement recherchées (8, 12). Enfin, des contacts fréquents et des collaborations précises ont eu lieu entre les participants du projet (3, 9, 10, 11).

1. Signature du contrat CEE ORSTOM / CIRAD: 18 août 89.

2. Signature du contrat CEE ORSTOM / ISRA: 21 août 89.

3. Rencontre le 9 septembre 89 à Montpellier des intervenants du projet CEE (et "d'invités" signalés dans la liste ci-dessous par des astérisques) à l'issue du 4ème congrès d'épidémiologie virale. Au cours de cette réunion, les détails du projet ont été discutés de vive voix; les recherches et les collaborations prioritaires ont été précisées.

Etaient présents:

Mme Abisgold (ODNRI, Royaume-Uni)

M. Byrne* (Université d'Arizona, USA)

M. Fabres (ORSTOM, France)

M. Burban (IIRSDA, Côte d'Ivoire)

M. Fishpool (ODNRI, Royaume-Uni)

M. Fargette (ORSTOM, France)

M. Fauquet (ORSTOM, France)
M. Harrison (SCRI, Royaume-Uni)
M. Konaté (INERA, Burkina-Faso)
M. N'Guessan (IDESSA, Côte d'Ivoire)

M. Hainnaux (ORSTOM, France)
M. Irwin* (Université d'Illinois, USA)
M. Lecoustre (CIRAD, France)
M. Thresh (ODNRI, Royaume-Uni)

Etaient excusés:

M. Laterrot (INRA, France)

M. M'Baye (CDH, Sénégal)

4. Signature du contrat CEE ORSTOM / CNRST: 10 octobre 89.

5. Signature (janvier 90) d'une convention entre l'ORSTOM et le SCRI pour le transfert au SCRI de certains des travaux de virologie prévus à Adiopodoumé.

6. Accord (janvier 90) de type "prestation de services" entre l'ORSTOM et la Faculté Nationale de Côte d'Ivoire ayant pour objet l'analyse de la composition en acides aminés et des séquences de gémiviruses. Responsable: M. Desbois, CUTI (Cellule Universitaire du Traitement de l'Information).

7. Signature du contrat CEE ORSTOM / INRA: 19 janvier 90.

8. Achèvement en avril 1990 à Adiopodoumé, du premier volet du programme conjoint ORSTOM / ODNRI de l'étude de la biologie de *Bemisia tabaci*. Recherche d'un autre centre ORSTOM susceptible d'assurer la poursuite du programme. Les stations ORSTOM du Togo et du Congo ont été envisagées; une mission exploratoire de l'ODNRI a eu lieu dans ce dernier pays en mars 90. Des discussions entre l'ORSTOM et l'ODNRI auront lieu à ce propos en juin à Londres.

9. Mission conjointe du 7 au 13 janvier 90 au Burkina-Faso de M. Fargette (ORSTOM), de M. Konaté (CNRST/INERA) et de M. M'Baye (ISRA/CDH).

10. Déplacement de D. Fargette du 14 au 16 janvier 90 à l'IIRSDA (Côte d'Ivoire) à l'issue de la mission précédente; discussions avec M. Fishpool (ODNRI/IIRSDA) et M. Burban (IIRSDA).

11. Mission conjointe du 18 au 25 février 90 au Sénégal de D. Fargette (ORSTOM) et de M. M'Baye (ISRA/CDH).

12. Projet de signature d'un sous-contrat CEE ORSTOM/IDESSA. M. N'Guessan, virologue, en serait le responsable en Côte d'Ivoire. Ce contrat serait signé pour une durée de deux ans (et non de trois comme les autres sous-contrats), afin d'achever le projet "en phase" avec les autres partenaires. Une réponse définitive devrait être obtenue prochainement.

2. RESULTATS SCIENTIFIQUES

2.2. Epidémiologie des maladies / Développement de la maladie dans l'espace.

--- Au cours du semestre écoulé, le programme d'entomologie s'est poursuivi à Adiopodoumé dans des conditions satisfaisantes, en dépit des changements intervenus à l'IIRSDA. Il s'agissait de reprendre, pour la troisième année consécutive mais avec plusieurs modifications, les essais sur l'écologie de *Bemisia tabaci*, et notamment ceux relatifs aux déplacements des aleurodes et à la dynamique des populations au cours du temps. Ces travaux se sont achevés en avril avec la fermeture de la station d'Adiopodoumé. Un volume considérable de données a ainsi été accumulé au cours des trois années écoulées et doit faire l'objet d'analyses détaillées au cours du prochain semestre. Des synthèses "épidémiologie/entomologie" sont aussi prévues.

Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 1.

--- La collaboration entre l'ORSTOM et le CIRAD concernant l'application des géostatistiques à l'épidémiologie de la Mosaïque africaine du manioc a abouti, en octobre 89, à la publication dans la revue *Phytopathology* d'un article intitulé "Analysis and map-

ping of the spatial spread of African cassava mosaic virus using geostatistics and the kriging technique" par Lecoustre, Fargette, Fauquet et de Reffye. Ce travail est poursuivi dans le cadre du projet en cours, par M. Besson, étudiant du DEA "Analyse et modélisation des systèmes biologiques", travaillant sous la responsabilité de M. Lecoustre. Pour la partie bibliographique de son DEA, M. Besson a hiérarchisé les différentes méthodes d'analyses mathématiques de la répartition spatiale des maladies en phytopathologie. Sont ainsi passées en revue les méthodes basées sur les comparaisons de distributions, celles utilisant des indices de dispersion, celles prenant en compte la position des points (dont la géostatistique) et celles basées sur les modèles d'autocorrélation spatio-temporels. Le fondement mathématique de chaque technique est rappelé et l'information qu'elle est susceptible d'apporter au biologiste est soulignée.

Pour plus de précisions se reporter aux annexes 2 et 3.

--- Des études sur la répartition du vecteur de la Mosaïque africaine du manioc, l'aleurode *Bemisia tabaci*, sont en cours, dans le cadre de la partie "pratique" du DEA de M. Besson et toujours sous la responsabilité de M. Lecoustre. Ce travail, qui utilise des données acquises à Adiopodoumé, a pour objectif de jauger l'intérêt des techniques géostatistiques dans ce domaine, d'affiner l'étude des caractéristiques des mouvements des aleurodes et de détailler les liens qui existent entre distribution spatiale du vecteur et de la maladie.

Pour plus de précisions se reporter à l'annexe 4.

--- Plusieurs autres études du programme en cours sont en fait la poursuite ou l'achèvement de volets des recherches entreprises dans le cadre du projet CEE précédent intitulé "Amélioration et valorisation du manioc en Côte d'Ivoire" (projet CEE TSD-102, responsable C. Fauquet). Ces travaux illustrent la continuité entre les deux programmes CEE (cf. document de synthèse). Ainsi, nous avons achevé l'analyse et l'interprétation de travaux sur la contamination primaire et secondaire, par la Mosaïque africaine du manioc, de parcelles de manioc. Nous nous sommes assurés, pour mener à bien ces analyses, de la collaboration de M. Grenier (biométricien) et de M. Thresh (ODNRI). Il a ainsi été établi, sans ambiguïté, que la forte contamination primaire qui sévit en zone côtière de Côte d'Ivoire est largement responsable de la contamination des parcelles, la propagation secondaire à l'intérieur des parcelles à partir de pieds malades étant limitée. Les raisons biologiques et les conséquences agronomiques de ces caractéristiques épidémiologiques ont été analysées en détail. Nous avons montré aussi que certaines mesures culturales ont un impact réel dans la lutte contre la progression de la maladie, mais que leur effet est cependant trop limité pour justifier un programme de prophylaxie dans des régions à forte pression d'inoculum avec les variétés cultivées usuellement. Ce travail, achevé au cours du second semestre du projet, a fait l'objet d'un article intitulé "The spread of African cassava mosaic virus into and within cassava fields" par Fargette, Fauquet, Grenier et Thresh. Cet article soumis en décembre 89 et accepté au mois de mars de cette année est actuellement sous-pressé dans la revue "Journal of Phytopathology". Il y a fait mention naturellement de l'appui fourni par la Communauté Economique Européenne dans le cadre des projets CEE TSD1-102 et TS2A-0137-C (CD).

2.3. Epidémiologie des maladies / Développement de la maladie au cours du temps.

--- Un autre travail relatif à l'analyse de données acquises dans le cadre du projet CEE précédent est en cours actuellement. Il s'agit de l'analyse de cinétiques de contamination de parcelles de manioc obtenues à Adiopodoumé au cours de six années consécutives. Ce travail mené en collaboration en cours avec M. Jeger (ODNRI) utilise le logiciel GENSTAT 5 et fait appel aux régressions non-linéaires (modèle logistique, logistique généralisé, Gompertz). L'analyse séquentielle des paramètres de régression devrait faire

ressortir clairement les fluctuations et les périodicités, saisonnières et annuelles, de la pression d'inoculum. Les analyses ont été achevées au cours du semestre écoulé et leur interprétation aura lieu au cours du semestre suivant.

--- Les études d'entomologie en relation avec le développement de la maladie au cours du temps (la dynamique des populations d'aleurodes au cours du temps notamment) ont été évoquées dans le paragraphe précédent lors de la présentation générale des travaux d'entomologie.

Pour plus de précisions se reporter à l'annexe 1.

2.4. Epidémiologie des maladies / Etude des réservoirs de vecteurs.

--- L'étude des réservoirs de *Bemisia tabaci* a été poursuivie par des expériences de choix de plantes hôtes et des tentatives de transfert, en complément d'expériences en plein champ relatifs à l'abondance des aleurodes sur les différentes plantes adventices. La recherche de biotypes de *Bemisia tabaci*, par analyse des profils enzymatiques, s'est poursuivie avec l'utilisation de nouveaux systèmes enzymatiques et l'élargissement de l'échantillonnage des aleurodes. Ces expériences se sont achevées en avril 90 avec la fermeture de la station d'Adiopodoumé et le départ de M. Burban. L'analyse et l'interprétation de ces expériences aura lieu au cours du prochain semestre du projet dans le cadre de la rédaction de sa thèse; ainsi devraient être clarifiés le rôle des plantes adventices dans l'épidémiologie de la maladie et l'existence de biotypes de *Bemisia tabaci*.

Pour plus de précisions se reporter à l'annexe 1.

3.3. Inventaire des virus.

--- Au Burkina Faso et au Sénégal des informations sur l'étiologie et l'épidémiologie des maladies transmises par aleurodes ont été réunies. Il s'agit du premier travail de ce genre au Burkina Faso. Au Sénégal en revanche, des études avaient déjà été réalisées sur l'Enroulement de la tomate. Des résultats préliminaires ont aussi été acquis: ainsi, la présence de l'Enroulement du gombo a été établie et celle de l'Enroulement de la tomate a été confirmée. Le statut de l'agent causal de la Mosaïque du manioc a été clarifié: la souche responsables a été rapprochée, sur la base des réactions obtenues avec les batteries d'anticorps monoclonaux du SCRI, des souches présentes ailleurs en Afrique de l'Ouest.

Pour plus de précisions se reporter aux annexes 6, 7, 8.

--- Un nouveau virus a été détecté à plusieurs reprises dans des échantillons de manioc en provenance de Côte d'Ivoire. Ce virus a été purifié, caractérisé et un test ELISA mis au point (Fargette, Roberts & Harrison, 1989. Annual report of the SCRI, p 179). Nous nous sommes intéressés à de possibles interférences entre ce nouveau virus, bacilliforme, et le virus de la Mosaïque africaine du manioc. De telles interférences, où l'un des virus favorise ou au contraire restreint la multiplication de l'autre, ont été rapportées à plusieurs reprises. Nous avons donc comparé la concentration en virus de plantes infectées par chacun des virus isolément à celles de plantes contaminées par les deux simultanément. Les concentrations étaient semblables et aucun résultat ne permet de supporter l'hypothèse d'une interférence de l'un des virus vis à vis de l'autre, dans un sens comme dans l'autre.

3.4. Caractérisation des agents pathogènes.

--- L'étiologie de l'Enroulement du gombo a été précisée au SCRI. L'isolement de cet agent pathogène s'est avéré délicat en raison de la présence du virus, en faible concentration, dans les seuls tissus phloémiques de la plante. La purification de ce virus a été en outre compliquée par la présence de substances mucilagineuses chez le gombo, seule plante s'avérant capable de multiplier le virus. L'agent pathogène a cependant pu être purifié et certaines de ses caractéristiques ont été précisées; un sérum est en cours d'obtention. Il

s'agit sans ambiguïté d'un géminivirus nouveau, distinct de ceux isolés en Afrique de l'Ouest et notamment de la Mosaïque africaine du manioc et de l'Enroulement de la tomate. Cependant, il partage plusieurs sites antigéniques avec les autres géminivirus transmis par aleurodes.

Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 5.

3.5. Etudes des souches et de la variabilité.

--- La composition en acides aminés (CAA) de la protéine capsidaire et la séquence de l'acide nucléique de plusieurs géminivirus ont été réunies à l'issue d'études bibliographiques exhaustives ou grâce à l'interrogation de bases de données. Les analyses statistiques multivariées des CAA qui ont été réalisées au cours du semestre écoulé permettent de distinguer clairement le groupe des géminivirus transmis par aleurodes de ceux transmis par cicadelles. Le BCTV, géminivirus transmis par cicadelle mais infectant les dycotylédones, se retrouve cependant à "mi-chemin" entre les deux groupes. Enfin, les variations géographiques à l'échelle continentale des géminivirus (Afrique, Asie, Amérique) se retrouvent dans leur CAA. Cette collaboration a été favorisée par la signature d'une prestation de services CEE ORSTOM au bénéfice de la Faculté Nationale de Côte d'Ivoire qui a permis à l'intéressé (M. Desbois) d'ouvrir en France un compte "Bizance" sur VAX au C.I.T.I.2 lui permettant de la Côte d'Ivoire d'interroger les bases de données et d'utiliser les logiciels d'analyse de séquences. Un poster présentant les résultats des analyses des géminivirus et, plus généralement, de la démarche adoptée sera présenté au 8ème Congrès International de Virologie à Berlin.

Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 9.

--- La comparaison des souches Africains et Indienne de la Mosaïque du manioc a été poursuivie au SCRI par l'analyse du génome de la Mosaïque Indienne du manioc (ICMV). Les informations obtenues jusqu'à présent indiquent que plusieurs parts du génome sont semblables à d'autres géminivirus transmis par aleurodes et notamment l'ACMV et le Mungbean yellow mosaic virus. En revanche, dans d'autres parties du génome aucune homologie n'a été retrouvée. Ces résultats supportent l'hypothèse selon laquelle l'ICMV est un géminivirus distinct de l'ACMV.

Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 5.

4.2. Mosaïque africaine du manioc.

--- La mise au point d'un modèle architectural de croissance du manioc sain est un autre volet de la collaboration ORSTOM / CIRAD. Des essais mis en place à Adiopodoumé par M. Fishpool et par M. Lecoustre au cours du semestre écoulé ont permis d'acquérir les données de base du modèle qui sera élaboré au cours du prochain semestre. Une fois celui-ci établi, il faudra mettre au point le modèle de croissance du manioc virosé. Dès à présent, nous disposons de données sur le comportement de plusieurs variétés dotées de caractères de résistance ou de tolérance. Il faudra envisager des expériences complémentaires utilisant des cultivars plus sensibles.

Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 4.

4.5. L'Enroulement de la tomate.

--- Le contrat entre l'ORSTOM et l'INRA a pris effet à l'issue du second semestre du projet. En dépit de cette date tardive, la collaboration avec M. Laterrot a été active: elle s'est traduite par l'analyse d'échantillons, par l'échange d'informations et de résultats et par l'envoi de variétés sélectionnées à nos partenaires de l'INERA et de l'ISRA.

LISTE DES ANNEXES

- (1) Fishpool, L.D.C & Burban, C. 1990. Rapport semestriel du projet CEE TS2A-0137-C (CD). Composante ORSTOM/ODNRI entomologie. 3 pp.
- (2) Lecoustre, R, Fargette, D, Fauquet, C & De Reffye, P. 1989. Analysis and mapping of the spatial spread of African cassava mosaic virus using geostatistics and the kriging technique. *Phytopathology* 79, 913-920.
- (3) Besson, P. 1990. Hiérarchisation des méthodes d'analyse épidémiologique de la répartition spatiale d'une maladie de plante. Rapport bibliographique du DEA "Analyse et modélisation des systèmes biologiques". 42 pp.
- (4) Lecoustre, R. 1990. Rapport semestriel du projet CEE TS2A-0137- C (CD). Composante CIRAD modélisation. 3 pp.
- (5) Harrison, B.D & Hong, Y. 1990. Rapport semestriel du projet CEE TS2A-0137- C (CD). Composante SCRI étiologie. 3 pp.
- (6) Konaté, G. 1990. Rapport semestriel du projet CEE TS2A-0137- C (CD). Composante INERA Burkina-Faso. 7 pp.
- (7) Fargette, D., Konaté, G & M'Baye, A. 1990. Compte-rendu de mission au Burkina-Faso (INERA/CNRST). 7-17 janvier 1990. 10 pp.
- (8) Fargette, D. & M'Baye, A. 1990. Compte-rendu de mission au Sénégal. 18-24 février 1990. 10 pp.
- (9) Desbois, D., Fauquet, C., Vidal, G. & Fargette, D. 1990. Inventory of molecular databanks and relevance of sequence analysis tools in virological taxonomic research (abstract). VIIIth International Congress of Virology. 26-31 août. Berlin.

RAPPORT SEMESTRIEL # 3

Mars 1989 - Août 1990

INTRODUCTION

Le plan du rapport #3 est semblable à celui suivi dans les deux rapports précédents. Il comprend deux parties principales, l'une décrivant le déroulement général du projet, l'autre consacrée aux résultats scientifiques.

--- (1) Dans la première partie, intitulée "Déroulement du Programme", j'indique comment se développe le projet du point de vue général: mise en place des sous-contrats, réunions, missions... Dans un paragraphe nommé "calendrier", je retrace chronologiquement les différents étapes, dans un autre appelé "synthèse" je fais ressortir les faits saillants, dans un dernier baptisé "prévisions" j'indique les échéances prévisibles pour le semestre suivant.

--- (2) Dans la seconde partie, intitulée "Résultats Scientifiques", je décris les recherches effectuées et les résultats obtenus. En fait, comme dans les rapport #1 et 2, j'ai adopté pour la description des résultats scientifiques une présentation en "trois temps", centrée sur le document présent et étayée par des documents supplémentaires:

(a) Une présentation concise. Le lecteur trouvera dans ce rapport les résultats essentiels présentés en quelques lignes. Cette partie a été conçue pour se lire de façon indépendante. Cependant pour plus de précisions, le lecteur aura intérêt à se rapporter aux documents joints en annexe.

(b) Un document de synthèse déjà en possession des lecteurs du rapport #1. Le lecteur pourra s'y référer si il a besoin de remettre "en situation" tel ou tel résultat, s'il cherche plus de précisions sur la justification de telle ou telle étude ou s'il s'interroge sur les relations entre différents volets des recherches.

(c) Des documents complémentaires. Il peut s'agir de rapports de missions, de compte-rendus de congrès, d'articles scientifiques, de rapports à usage interne... Ces textes décrivent de façon plus précise les travaux effectués. Le lecteur pourra s'y rapporter lorsqu'il a besoin de précisions sur un résultat particulier.

1. DEROULEMENT DU PROJET

Calendrier

1. 21-29 mars 90. Mission de M. Fishpool et de Mme. Abisgold au centre ORSTOM de Brazzaville (Congo) afin d'étudier les possibilités d'y implanter un nouveau programme d'étude de la biologie de *Bemisia tabaci*.

2. Mai 1990. Achèvement à Adiopodoumé des études de terrain sur la biologie de *Bemisia tabaci* menées par M. Fishpool et par M. Burban.

3. 4-5 juin 90. Mission d'évaluation du projet, auprès de D. Fargette, de M. Hall (CEE, DG 12) qui supervise le projet à Bruxelles. Entretiens avec M. Harrison. L'avis de M. Hall sur le déroulement général du projet est donné en annexe 1.

4. 10 juin 1990. Signature du contrat CEE ORSTOM/IDESSA pour une durée de deux ans. Responsable scientifique M. N'Guessan. L'organisation du projet, maintenant dans sa forme définitive avec la signature de ce nouveau contrat, est donnée en annexe 2.

5. 27 juin 1990. Réunion (OD)NRI/ORSTOM à Londres consacrée à une revue générale des programmes sur la Mosaïque africaine du manioc et de son vecteur l'aleurode *Bemisia tabaci*. Plusieurs documents relatifs à cette réunion sont donnés en annexe 3 où sont détaillées les perspectives de collaborations futures entre les deux instituts: présentation de communications, rédaction en commun d'articles et d'un ouvrage de synthèse; missions d'appui "entomologiques" à nos partenaires Burkinabé et Sénégalais; étude des conditions de réalisation de nouveaux programmes conjoints.

Etaient présents

M. Chancellor (NRI)	M. Jeger (NRI)
M. Davis (NRI)	M. Harrison (SCRI)
M. Fabres (ORSTOM)	M. Perfect (NRI)
M. Fargette (ORSTOM)	M. Thresh (NRI)
M. Fishpool (NRI)	M. Wood (NRI)
Miss Green (NRI)	

6. 8-9 août 90. Venue au SCRI de M. Cornet, Chef du Département MAA de l'ORSTOM. Evaluation générale du projet. Entretiens avec M. Harrison.

7. 26-31 août 90. Participation de M. Desbois (Université Nationale de Côte d'Ivoire) et présentation d'un poster au VIIIème Colloque International de Virologie à Berlin. Cf paragraphe 3.3 et annexe 9 du rapport semestriel # 2.

8. 31 août 90. Soutenance du DEA "Analyse et modélisation des systèmes biologiques" de M. Besson. Responsables de stage: M. Lecoustre (CIRAD) et D. Fargette. Directeur scientifique: M. Debouzie.

Synthèse

Les points rapportés ci-dessus selon l'ordre chronologique indiquent que -comme au cours des deux semestres précédents- des contacts soutenus ont eu lieu entre les différents participants du projet (1, 3, 5, 6, 7). Notamment une réunion entre l'(OD)NRI et l'ORSTOM a eu lieu (5) afin de dresser un bilan des programmes en cours (2) et d'étudier les perspectives de collaborations futures (1, 5). Suite à cette réunion et avec la signature sous-contrat supplémentaire CEE ORSTOM/IDESSA (4) s'achève la réorganisation du projet rendue nécessaire par les changements intervenus à Adiopodoumé. Enfin, une mission d'évaluation du projet a été effectuée à Dundee par M. Hall (CEE, DG 12) qui supervise le projet à Bruxelles (3).

Prévisions

--- Septembre.

--- Entretien à Avignon entre M. Laterrot (INRA) et D. Fargette.

--- Entretien à Montpellier entre M. Lecoustre (CIRAD) et D. Fargette .

--- Entretiens à Montpellier entre M. M'Baye (ISRA), M. N'Guessan (IDESSA), M. Konaté (INERA) et D. Fargette.

--- Octobre.

--- Installation de M. Burban au LPRC pour la rédaction de sa thèse.

--- Décembre.

--- Communications de M. Fishpool (NRI), D. Fargette et M. Burban au colloque de la British Society for Plant Pathology (Bath 12-14 décembre).

--- Mission de M. Laterrot (INRA) au Sénégal.

- Février.
 - Mission de M. M' Baye (ISRA) au SCRI.
- Mars.
 - Mission de M. Lecoustre et de D. Fargette auprès de M. Fishpool à l'(OD)NRI
- Avril.
 - Mission de M. Konaté (INERA) au SCRI.
 - Mission de M. Fishpool au Burkina- Faso.

2. RESULTATS SCIENTIFIQUES

2.2. Epidémiologie des maladies / Développement de la maladie dans l'espace.

--- Au cours du semestre écoulé l'accent a été mis sur l'analyse fine de la répartition spatiale des aleurodes. Les données obtenues en 1986 à Adiopodoumé avaient été soumises à une analyse préliminaire par M. Fishpool. Une analyse plus approfondie sur le plan statistique a été réalisée dans le cadre du DEA "Analyse et Modélisation des Systèmes Biologiques" effectué par M. Besson sous la responsabilité de M. Lecoustre. Les conclusions obtenues à l'aide de différentes méthodes statistiques ont été comparées en utilisant notamment les analyses multivariées, les géostatistiques et les modèles de corrélation spatio-temporels développés récemment par Madden. Les conclusions concordent en de nombreux points, mais les géostatistiques se révèlent être les techniques statistiques les plus adaptées aux problèmes qui nous intéressent et les plus aisément interprétables pour le biologiste. Il se confirme aussi que les géostatistiques permettent de caractériser et de comparer des répartitions dont l'analyse est souvent difficile -et parfois impossible- par de simples procédés graphiques.

--- Sur le plan biologique, il se confirme que la répartition spatiale des aleurodes est étroitement tributaire de la distribution des vents. En période d'harmattan, où les vents à l'échelle de la parcelle sont instables, la répartition des aleurodes n'est généralement pas structurée (effet "pépité" du semi-variogramme), exception faite de certaines périodes où un gradient sud-est/nord-ouest se dessine. Au contraire, en période d'alyzé, où règne un vent régulier d'orientation sud-ouest/nord-est, le semi-variogramme linéaire indique une répartition en gradient le long de la direction sud-ouest/nord-est. Cette distribution structurée rend compte de celle observée avec la Mosaïque africaine du manioc. Il est intéressant, en outre, de noter que cette répartition se maintient au cours du temps, même après l'effondrement des populations observée environ quatre mois après la plantation et parfois interprétée comme la conséquence d'une migration. Cette répartition n'a disparu qu'au mois d'avril à une période pendant laquelle se produisent de fortes perturbations orageuses.

Pour plus de précisions se rapporter aux annexes 4, 5, 7.

M. Besson à l'issue de son stage de DEA a obtenu un poste d'ASC à l'INRA. A la suite de la publication de notre article sur l'analyse, par les géostatistiques, des répartitions spatiales de la Mosaïque africaine du manioc (Cf. annexe 2 du rapport # 2), une demande d'accueil, en année sabbatique, a été déposée par M. Werker chercheur de l'Université de Cambridge auprès de M. Lecoustre.

--- L'étude de la répartition spatiale et le suivi de la dynamique des population des aleurodes exigent des estimations fréquentes des populations larvaires et adultes. Une méthode d'échantillonnage qui donne une estimation fiable des populations a été développée. Le nombre et la distribution des larves de stade 3 et 4 et les "pupes" de chaque sec-

teur de chaque feuille de nombreuses plantes ayant été déterminé, il s'avère que la restriction des comptages aux secteurs 3-5 des feuilles 7-20 permet une bonne estimation des populations mais avec une économie considérable de temps. Si une échelle de notation est utilisée à la place du dénombrement, l'estimation obtenue est moins bonne mais encore acceptable pour certaines utilisations. Ce travail a fait l'objet d'un article intitulé "A method for estimating populations sizes of whitefly nymphs (*Bemisia tabaci* Genn.) on cassava" par Abisgold et Fishpool qui a été soumis et accepté dans la revue *Tropical Pest Management*. L'article est actuellement sous-pressé.

2.3. Epidémiologie des maladies / Développement de la maladie au cours du temps.

--- L'analyse des cinétiques de contamination de parcelles de manioc obtenues au cours de six années consécutives à Adiopodoumé a été poursuivie et des résultats importants ont été acquis au cours du semestre écoulé. Cette analyse a pour objectif de décrire le plus fidèlement possible la grande variété de courbes observées, d'en extraire quelques paramètres clés et, par leur analyse, d'en tirer des conclusions biologiques souvent difficiles et parfois impossibles à émettre par la seule observation (qualitative et subjective) des données brutes. Il s'agit en particulier de dissocier, afin de mieux les comprendre et avant de les réassocier dans un même modèle, les deux phénomènes majeurs qui interviennent de concert dans les épidémies naturelles: la variation de la sensibilité de la plante hôte au cours du temps et la fluctuation de la pression d'inoculum. Parmi les modèles de régression non linéaires utilisés (exponentielle négative, logistique, logistique généralisée ou de Weibull et Gompertz), il s'avère que l'équation de Gompertz, utilisée ici uniquement comme un modèle statistique, décrit le mieux le développement des épidémies. L'analyse des paramètres de régression indique que le taux de contamination maximum est atteint en moyenne 8 semaines (+/- 2 semaines) après la plantation. Ce délai s'interprète comme le temps nécessaire à la bouture de manioc pour développer des feuilles (2-3 semaines), à l'aleurode pour coloniser puis inoculer la jeune plante (2-3 semaines) et aux symptômes pour apparaître (2-4 semaines). Passé ce stade, la décroissance régulière des taux de contamination traduit la diminution de sensibilité du manioc vis à vis de l'infection.

--- Les statistiques temporelles (auto-corrélogrammes) font ressortir un effet annuel et saisonnier net de la pression d'inoculum qui accompagne clairement les fluctuations de la température. Deux modèles, l'un simple, l'autre plus complexe, sont proposés. Les analyses multivariées (régressions multiples, comparaison des matrices de corrélation partielle et multiple) tranchent sans ambiguïté en faveur du modèle complexe.

modèle simple

température ---> populations d'aleurodes ---> pression d'inoculum ---> contamination

modèle complexe

température population d'aleurodes
humidité relative } ---> activité des aleurodes } ---> pression d'inoculum ---> contamination
vent sensibilité à l'infection
 réservoirs de virus

Pour plus de précisions se reporter à l'annexe 5.

--- L'étape suivante est de mettre en évidence le modèle biologique de contamination. Nous avons mis en évidence les points suivants:

a) La variation de la sensibilité du cours du temps peut se ramener à l'équation suivante:

$$dy/dt = k (a - b \cdot t)$$

b) La variation d'inoculum au cours du temps peut être assimilée à une équation du type $dy/dt = k' (c + d \sin (e \cdot t + f))$

c) Si l'on admet que ces deux phénomènes biologiques sont primordiaux dans l'épidémiologie de la maladie, l'équation différentielle des cinétiques de contamination sera du type:

$$dy/dt = K (a - b \cdot t) (c + d \sin (e \cdot t + f)) (1 - y)$$

Il s'avère que cette équation différentielle admet une solution analytique que nous avons établie. Il reste à confirmer que ce modèle rend bien compte de la variété des cinétiques observées et à le valider avec d'autres données.

--- Enfin, une dernière étape consiste à étendre, aux variétés résistantes, ce travail de modélisation. On s'intéressera notamment aux valeurs prises par les asymptotes dans les modèles, paramètres clés pour décider de l'efficacité de mesures phytosanitaires dans le cadre d'une lutte par sanitation contre la Mosaïque africaine du manioc.

3.3. Inventaire des virus.

--- Au Burkina Faso plusieurs missions de prospection ont eu lieu au cours du semestre écoulé. Il en ressort que, contrairement au Niger et au nord du Nigéria, la Mosaïque dorée du Niébé, autre maladie transmise par aleurode et de type géminivirus, semble accidentelle au Burkina Faso, même en zone sahélienne. Le gombo, encore à un stade jeune au cours de ces missions, ne présentait pas de symptôme notable d'enroulement. Enfin, le pepper veinale mottle, plus fréquent sur tomate que l'enroulement de la tomate se retrouve abondamment sur aubergine, goyave, piments...

--- Il se confirme que la situation vis à vis de l'enroulement de la tomate est très contrastée: fréquent au Sénégal où il atteint parfois des proportions épidémiques, il est épisodique en Côte d'Ivoire et rare au Burkina Faso. Des missions de M. Fishpool en 91 dans ces deux derniers pays permettront de recueillir des informations supplémentaires sur l'aleurode *Bemisia tabaci* (abondance, espèce, biotype...) et d'expliquer peut-être les différences observées. De telles informations sont indispensables pour comprendre l'épidémiologie de l'enroulement de la tomate dans ces pays. Il s'agit notamment d'évaluer l'extension que peut prendre cette maladie en Afrique sub-tropicale où elle est présente mais où elle n'a pas, à l'heure actuelle, la caractéristique catastrophique observée au Proche-Orient. Dans ces régions, il semble bien que soit la modification de certaines pratiques culturales qui ait entraîné ces dernières années l'extension de la maladie.

3.4. Caractérisation des agents pathogènes.

--- La souche "Sénégal" de l'enroulement de la tomate a été recueillie au cours de la mission de février au CDH. Elle a été propagée par greffe au SCRI et est actuellement en cours d'étude. Le profil antigénique, établi sur la base de la batterie d'anticorps monoclonaux contre la Mosaïque africaine et la Mosaïque indienne du manioc, indique qu'en dépit de quelques variations mineures, la souche Sénégal est antigéniquement très proche -voire identique- à la souche Proche-Orient. Une comparaison détaillée avec la souche "Egypte" a pu être faite grâce aux échantillons envoyés par M. Laterrot en mission dans ce pays (cf. 4.5). La transmission de la maladie par *Bemisia tabaci* a été réalisée mais les taux de transmission sont très variables d'un essai à l'autre. En revanche, des tentatives d'inoculation à d'autres hôtes dont *Datura stramonium* et *Nicotiana benthamiana* ont échoué. Des purifications, suivant les méthodes développées par les Israéliens vis à vis de cette maladie n'ont pas abouti. Il en est de même lorsque l'on suit la méthode de purification de l'enroulement indien de la tomate, maladie indistinguishable sur la base des symptômes mais très différente antigéniquement. Aussi, une méthode propre à la souche

"Sénégal" de l'enroulement de la tomate s'avère-t-elle nécessaire et est en cours de développement.

--- Des études supplémentaires sur l'enroulement du gombo ont montré que cette maladie peut-être transmise avec difficulté au tabac (*Nicotiana tabacum*). Les plantes infectées développent un enroulement des feuilles avec un épaississement des nervures ainsi qu'une énation à la surface inférieure de la feuille. Des études de microscopie ultra-structurale indiquent que le virus s'accumule dans le noyau des cellules. L'enroulement du gombo peut être détecté dans l'aleurode *Bemisia tabaci* à l'aide d'une forme spécialement adaptée de test ELISA. La quantité d'antigène détectée dans les insectes augmente avec la durée d'acquisition sur les plantes infectées. Le virus persiste dans l'aleurode sept jours après avoir quitté la plante source. La préparation d'anticorps monoclonaux contre l'enroulement du gombo a débuté.

--- La comparaison de la mosaïque africaine (ACMV) et de la mosaïque indienne du manioc (ICMV) a été poursuivie. La séquence complète des nucléotides des deux segments à ADN monocaténares (ADN-1 et ADN-2) qui forment le génome de l'ICMV a été déterminée. la comparaison des séquences montre que l'ACMV et l'ICMV sont deux virus distincts. En particulier, les séquences des "régions communes" sont très différentes. Les séquences d'acides aminés des produits de gènes de l'ACMV et de l'ICMV ne sont pas plus similaires entre elles que celle d'autres géminivirus transmis par aleurodes. Une sonde a été développée qui détecte l'ICMV et qui le distingue de l'ACMV.
Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 6.

4.2. La Mosaïque africaine du manioc.

--- Une seconde série de mesure a été achevée en avril 90 à Adiopodoumé. Les schémas de plantes ont été étudiés et les données mises en forme. L'analyse de la distribution d'entre-noeuds par tige montre que la croissance des tiges issues des boutures est régie par deux phénomènes principaux: la dormance de "l'oeil" et la probabilité d'élongation du noeud issu du méristème apical en croissance. En ce qui concerne la ramification, on peut classer leur mode de croissance en deux groupes. Les variétés plantées à Adiopodoumé sont tolérantes au virus et les différences de croissance entre les plants issus de boutures saines et ceux issus de boutures virosées, mises en évidence par les études de modélisation, sont très faibles ou nulles. Ce résultat confirme le bon comportement, en ce qui concerne la croissance, de certaines variétés locales et améliorées. Le laboratoire de Modélisation réalisera de nouvelles analyses sur des données issues d'essais antérieurs où le comportement de clones sensibles a été suivi.
Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 6.

--- M. Fauquet et moi-même avons été sollicités, il y a quelques mois, par la revue Plant Disease pour la rédaction d'un article de synthèse sur la Mosaïque africaine du manioc, son étiologie, son épidémiologie et sur les méthodes de lutte à mettre en oeuvre pour la contrôler. Cet article maintenant publié est donné en annexe 8 car il donne une bonne idée des programmes développés par l'ORSTOM sur ce sujet et parce que plusieurs des études en cours dans le cadre de ce projet CEE sont la poursuite directe des travaux décrits.
Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 8.

4.5. L'enroulement de la tomate.

--- Durant la première période du sous-contrat l'INRA a assuré deux types de travaux relatifs à l'enroulement de la tomate: la production et la fourniture de semences aux partenaires du projet; l'observation et le prélèvement d'échantillons de plantes virosées.

Ainsi des géniteurs de résistance au TYLC mis en évidence dans différents pays du Moyen-Orient ou d'Afrique soudano-sahélienne ont été fournis aux partenaires de l'ISRA, de l'INERA et du SCRI, soit pour une étude comparative sous contamination naturelle par le virus de l'enroulement de la tomate, soit pour une étude sous contamination contrôlée au SCRI. A l'occasion de trois missions en zones où sévissent des gémivirus transmis par *B. tabaci* (Egypte, Tanzanie, Cuba), des plantes virosées ont été observées et photographiées et des portions de plantes ont été prélevées, ensachées puis expédiées au SCRI pour étude sérologique. Il est intéressant de noter que si les échantillons en provenance d'Egypte montrent un profil antigénique proche de la souche "Sénégal" (cf. 3.4), il n'en est pas de même des échantillons de Tanzanie et de Cuba qui présentent des différences notables du point de vue sérologique. Ces résultats suggèrent, qu'en dépit de symptômes similaires, les virus causant les enroulements sur tomate dans ces deux derniers pays sont différents de l'enroulement de la tomate que l'on trouve au Sénégal et au Proche-Orient.

Pour plus de précisions se rapporter à l'annexe 9.

--- Les piégeages d'aleurodes sont poursuivis à la station du CDH. Des essais de transmission en serres sont effectués. Au cours de la prochaine campagne de culture de tomate (novembre-février), un essai multilocal sera mis, en collaboration avec le laboratoire d'amélioration des plantes du CDH, afin de jauger l'importance de l'enroulement de la tomate dans différentes régions du Sénégal, l'abondance des vecteurs et le comportement de certains cultivars résistants.

LISTE DES ANNEXES

1. Lettre de M. Hall (CEE, DG 12):
 - avis sur le déroulement du projet après sa mission d'évaluation du 4 et 5 juin à Dundee.
2. Organigramme du projet:
 - prévisions initiales (mars 1988).
 - phase 1 (mars 1989-juin 1990).
 - phase 2 (juillet 1990-juillet 1992).
3. Documents relatifs à la réunion (OD)NRI/ORSTOM du 27 juin.
 - Présentation générale des programmes de recherche menés à Adiopodoumé.
 - Compte-rendu de la rencontre.
 - Lettre adressée par M. Fabres à M. Perfect à l'issue de la réunion.
4. M. Besson. Contribution à la modélisation de la propagation d'une maladie transmise par un insecte: répartition spatio-temporelle dans une parcelle de manioc de *Bemisia tabaci* (Homoptera Aleyrodidae), vecteur de la mosaïque africaine du manioc. DEA "Analyse et Modélisation des Systèmes Biologiques".
5. Résumés des communications présentées au colloque de la British Society for Plant Pathology (Bath, 12-14 décembre).
 - Interpretation and use of African cassava mosaic virus disease progress curves.
- D. Fargette, C. Fauquet, M. J. Jeger & L. D. C. Fishpool.
 - Aspects of the flight behaviour of the whitefly *Bemisia tabaci* in relation to the spread of African cassava mosaic virus. L. D. C. Fishpool, D. Fargette, C. Fauquet, R. Lecoustre, P. Besson & J-C. Thouvenel.
 - Host associated differentiation in the whitefly *Bemisia tabaci* : an electrophoretic approach. C. Burban, C. Fauquet, L. D. C. Fishpool, D. Fargette & J-C.

Thouvenel.

6. B. D. Harrison & Y. Hong. Rapport semestriel du projet CEE TS2A-0137- C (CD). Composante SCRI: étiologie et analyse génomique. 2 pp.

7. R. Lecoustre. Rapport semestriel du projet CEE TS2A-0137- C (CD). Composante CIRAD: modélisation. 3 pp.

8. C. Fauquet & D. Fargette. African cassava mosaic virus : Etiology, Epidemiology and Control. Plant Disease 74, 404-411.

9. H. Laterrot. Rapport semestriel du projet CEE TS2A-0137- C (CD). Composante INRA: amélioration variétale contre l'enroulement de la tomate. 3 pp.

RAPPORT SEMESTRIEL # 4

Septembre 1990 - Février 1991

PREAMBULE

Le plan du rapport #4 est semblable à celui suivi dans les trois rapports précédents. Il comprend deux parties principales, l'une décrivant le déroulement général du projet, l'autre consacrée aux résultats scientifiques.

--- (1) Dans la première partie, intitulée "Déroulement du Programme", j'indique comment se développe le projet du point de vue général: mise en place des sous-contrats, réunions, missions... Dans un paragraphe nommé "calendrier", je retrace chronologiquement les différents étapes, dans un autre appelé "prévisions" j'indique les échéances prévisibles pour le semestre suivant.

--- (2) Dans la seconde partie, intitulée "Résultats Scientifiques", je décris les recherches effectuées et les résultats obtenus. En fait, comme dans les rapports #1, 2 et 3, j'ai adopté pour la description des résultats scientifiques une présentation en "trois temps", centrée sur le document présent et étayée par des documents supplémentaires:

(a) Une présentation concise. Le lecteur trouvera dans ce rapport les résultats essentiels présentés en quelques lignes. Cette partie a été conçue pour se lire de façon indépendante. Cependant pour plus de précisions, le lecteur aura intérêt à se rapporter aux documents joints en annexe.

(b) Un document de synthèse déjà en possession des lecteurs du rapport #1. Le lecteur pourra s'y référer si il a besoin de remettre "en situation" tel ou tel résultat, s'il cherche plus de précisions sur la justification de telle ou telle étude ou s'il s'interroge sur les relations entre différents volets des recherches.

(c) Des documents complémentaires. Il peut s'agir de rapports de missions, de compte-rendus de congrès, d'articles scientifiques, de rapports à usage interne... Ces textes décrivent de façon plus précise les travaux effectués. Le lecteur pourra s'y rapporter lorsqu'il a besoin de précisions sur un résultat particulier.

1. DEROULEMENT DU PROJET

Calendrier

Septembre.

- Entretien à Avignon entre M. Laterrot (INRA) et D. Fargette (ORSTOM).
- Entretien à Montpellier entre M. Lecoustre (CIRAD) et D. Fargette (ORSTOM).
- Entretien à Montpellier entre M. M'Baye (ISRA), M. N'Guessan (IDESSA), M. Konaté (INERA) et D. Fargette (ORSTOM).

Octobre.

--- Installation de M. Burban (ORSTOM) au LPRC pour la rédaction de sa thèse.

Décembre.

--- Communications à Bath de M. Fishpool (NRI), M. Burban (ORSTOM), D. Fargette (ORSTOM) au colloque de la British Society for Plant Pathology.

--- Communication de M. Desbois (Faculté Nationale de Côte d'Ivoire) au Colloque de Taxonomie Informatisée organisé par l'UNESCO (Paris).

--- Entretiens à Bath entre D. Fargette et M. Gibson (NRI), M. Jeger (NRI), M. Perfect (NRI) et M. Thresh (NRI).

--- Signature d'un avenant à la convention ORSTOM/SCRI dans le cadre du projet CEE pour le recrutement d'un technicien de recherche devant travailler avec D. Fargette (ORSTOM).

Février.

--- Mission de M. M'Baye (ISRA) au SCRI.

--- Mission de M. Laterrot (INRA) au Sénégal.

--- Mission de M. MacGraft (SCRI) en Afrique de l'Ouest.

Mars.

--- Report de la mission de M. Konaté (INERA) au SCRI (pour raison de santé).

Les points rapportés ci-dessus selon l'ordre chronologique indiquent que - comme au cours des trois semestres précédents- des contacts soutenus ont eu lieu entre les différents participants du projet.

Prévisions

Mars.

--- Mission de M. Lecoustre (CIRAD), de M. Fishpool (NRI) et de M. Thresh (NRI) auprès de D. Fargette (ORSTOM).

--- Recrutement pour deux années d'un technicien de recherche pour travailler au SCRI avec D. Fargette (ORSTOM).

Juin.

--- Rencontre ORSTOM/NRI entre M. Cornet, M. Fabres, M. Hainnaux, M. Thouvenel, M. Dubern, D. Fargette d'une part (ORSTOM) et M. Fishpool, M. Jeger et M. Perfect d'autre part (NRI) pour faire le point sur le projet en cours et pour discuter des collaborations à venir entre les deux instituts.

2. RESULTATS SCIENTIFIQUES

2. 2. Epidémiologie des maladies / Développement de la maladie dans l'espace.

--- Avec la parution de l'article intitulé "Spread of African cassava mosaic virus into and within cassava field" par Fargette, Fauquet, Grenier & Thresh (cf Annexe 1) s'achève la publication des caractéristiques de la répartition de la maladie dans l'espace de la Mosaïque africaine du manioc. Un travail analogue sur l'épidémiologie d'une autre maladie transmise par aleurode, l'enroulement du gombo, mené en Côte d'Ivoire vient de don-

ner lieu à un autre article intitulé "Epidemiology of Okra leaf curl in Ivory Coast" par N'Guessan, Fargette, Fauquet & Thouvenel (Tropical Pest Management, in press). La distribution spatiale de l'enroulement du gombo présente des analogies nettes avec celle de la MAM qui reflètent les caractéristiques de la répartition de l'aleurode *Bemisia tabaci* dans les parcelles qu'il colonise. Un effort particulier est maintenant consacré à l'analyse et à la publication des résultats sur les distributions des aleurodes et de leur effet sur la répartition spatiale des maladies dont ils sont le vecteur.

2.3. Epidémiologie des maladies / Développement de la maladie au cours du temps.

Au cours du semestre écoulé, l'accent a été mis sur la modélisation des épidémies de la Mosaïque africaine du manioc. Cette étude a été rendue possible par l'utilisation combinée de deux logiciels commercialisés récemment, Genstat 5 (sur système IBM) et STELLA 2 (sur système Apple). Les premiers résultats (étude des cinétiques de contamination de la Mosaïque africaine du manioc) ont été rapportés dans le rapport semestriel #3; nos objectifs en matière de modélisation sont indiqués dans le document de travail initial intitulé "programme scientifique du projet". Rappelons les ici.

De nombreux aspects de l'épidémiologie de la Mosaïque africaine du manioc ont été étudiés en détail au centre ORSTOM d'Adiopodoumé de 1980 à 1990 : développement de la maladie dans l'espace et au cours du temps, contamination primaire, contamination secondaire, impact des mesures culturales, effet sur le rendement, niveaux et composantes de résistance de variétés locales et améliorées (un effort important est consenti actuellement pour achever la publication des résultats encore en suspens). La modélisation nous permet d'intégrer les facteurs clés qui conditionnent le développement des épidémies. Le modèle retenu se présente sous la forme d'un ensemble d'équation différentielles et de séries récurrentes.

Nous avons estimé chacun des paramètres à partir des résultats que nous avons publiés (ou qui sont en cours de publication) afin d'articuler et de combiner les hypothèses avancées jusqu'à présent, puis d'en étudier les conséquences prévisibles. Nous donnons ici les conclusions pratiques et théoriques du travail de modélisation, sans rentrer dans le détail des calculs. Rappelons auparavant les limites de l'exercice. Les conclusions auxquelles nous aboutissons sont suggestives et doivent être analysées avec prudence, à la lumière de ce qui est déjà connu sur la Mosaïque africaine du manioc et son contrôle. Soulignons aussi que toute extrapolation à d'autres sites ou à d'autres conditions n'aura qu'un caractère indicatif et que les conclusions devront y être corroborées par des expérimentations dans les conditions locales. Des contacts sont en cours pour tester, dans d'autres conditions culturales, climatiques et géographiques, les conclusions essentielles de notre modèle.

Du point de vue théorique, il apparaît que la contamination secondaire intervient effectivement dans le processus de contamination, mais qu'elle a tendance à être masquée par l'importante contamination primaire qui sévit dans les régions forestières de Côte d'Ivoire. Ce résultat met peut-être fin aux interrogations concernant les causes du faible rôle apparent de la contamination secondaire dans l'épidémiologie de la maladie attribué successivement, avant d'être démenti par nos expériences ultérieures, au rôle des réservoirs autres que le manioc ou aux mouvements des aleurodes supposés restreints à l'intérieur des parcelles.

Du point de vue pratique, les résultats de la modélisation suggèrent que les méthodes de sanitation demandent, pour réussir en zone de forte pression d'inoculum comme Adiopodoumé, de hauts niveaux de résistance, comparables à ceux observés avec les variétés de l'IITA les plus résistantes. A défaut, la multiplication et le maintien à une grande échelle de parcs à bois sains semble aléatoire.

Les résultats de la modélisation indiquent aussi qu'en conditions naturelles d'Adiopodoumé, les parcelles de variétés hautement résistantes, associant résistance en champ et fort pourcentage de "réversion" (boutures saines issues de pieds virosés), atteindront un équilibre combinant une contamination nettement inférieure à 100% et de faibles pertes de production ($\leq 10\%$). Le niveau de l'équilibre suggère que l'utilisation de variétés hautement résistantes permet déjà un contrôle effectif de la maladie, sans que des mesures culturales supplémentaires soient nécessaires (un tel point de vue a déjà été plaidé par certains scientifiques de l'IITA, sans peut-être avoir été suffisamment étayé). Ce résultat suggère aussi que les programmes d'amélioration contre la MAM en cours doivent rechercher un élargissement de la base génétique de la résistance (actuellement limitée à quelques gènes issus du manioc sauvage *M. glaziovii*), plutôt qu'une augmentation du niveau de la résistance. A l'évidence, les méthodes de génie génétique mis en place par l'ORSTOM semblent plus à même d'y répondre que les méthodes "classiques" d'amélioration variétale, grâce à l'introduction de nouveaux gènes (issus de l'agent pathogène) dans le génome de variétés de manioc déjà appréciées par les populations.

2.4. Etude des réservoirs de virus et de vecteurs. Des tests ont montré que le profil enzymatique de *Bemisia tabaci* sur manioc est effectivement différent de celui obtenu avec des aleurodes issus d'autres plantes (cf. Annexe 2), corroborant ainsi les travaux de C. Burban (ORSTOM).

3.2. Mise au point des techniques de détection. Des anticorps monoclonaux préparés contre l'enroulement du gombo et ne détectant pas la Mosaïque africaine du manioc ont été produits. Ces anticorps pourront servir à développer un test de diagnostic spécifique de l'Enroulement du gombo (cf. Annexe 2).

Des anticorps préparés par Mme Givord (IBMC/ORSTOM) contre la Mosaïque africaine du manioc ont été testés au SCRI, dans le cadre du projet CEE en cours, contre plusieurs géminivirus d'origine géographique différente. On peut distinguer deux anticorps monoclonaux différents, l'un détectant l'ensemble des géminivirus transmis par aleurodes, l'autre spécifique des géminivirus d'Afrique. La collaboration se poursuit avec la mise au point (à l'IBMC) de sondes, par couplage à la biotine des anticorps monoclonaux.

La détection, à des concentrations très faibles, de plusieurs géminivirus (Mosaïque indienne du manioc, Euphorbia mosaic virus, Enroulement indien de la tomate) a été réalisée à l'aide des techniques d'amplification de gènes ("PCR reaction" (polymerase chain reaction)) (Cf. Annexe 2) ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour la détection de ces virus.

3.3. Inventaire des virus. En Côte d'Ivoire, des symptômes sur aubergine suggèrent la présence d'une maladie virale transmise par aleurode. Des essais de transmission mécanique, par insecte et des tests sérologiques sont en cours pour s'assurer de la nature de l'agent pathogène responsable (cf Annexe 3).

3.4. Caractérisation des agents pathogènes. La comparaison des structures primaires et secondaires de la Mosaïque africaine et de la Mosaïque indienne du manioc a été achevée. Ces derniers résultats suggèrent que ces deux virus sont différents (cf. Annexe 2).

Sur la base de leurs profils antigéniques, la présence de plusieurs géminivirus - clairement distincts de la Mosaïque africaine du manioc et de l'enroulement du gombo - a été établie dans plusieurs espèces adventices d'Afrique de l'Ouest. En revanche, un isolat issu de *Ricinus communis* présente un profil identique à celui de la Mosaïque africaine du manioc, suggérant que cette plante est un hôte alternatif de l'ACMV (Cf. annexe 2).

La purification de l'Enroulement de la tomate se poursuit. Elle s'avère délicate mais des progrès significatifs ont été réalisés, chaque étape (extraction, clarification, précipitation et resuspension) étant tour à tour optimisée.

3.5. Etude des souches et de leur variabilité. Des échantillons en provenance de plusieurs pays d'Afrique (Sénégal, Nigéria, Tanzanie) ont été testés avec la batterie d'anticorps monoclonaux préparés contre la Mosaïque africaine du manioc (dont plusieurs réagissent avec différents isolats de l'enroulement de la tomate). Les premiers résultats mentionnés dans le rapport semestriel précédent ont pu être confirmés et nuancés : les isolats de l'enroulement de la tomate issus d'Afrique sub-saharienne présentent effectivement de fortes analogies avec les isolats du Proche-Orient (Egypte, Chypre). Cependant, les résultats obtenus depuis suggèrent de surcroît des différences significatives entre isolats du Proche-Orient et Africains. En outre, une variabilité au sein même des isolats des pays Afrique Sub-Saharienne a été observée. Ce résultat ressort nettement de l'étude de la collection d'échantillons du Sénégal réalisée par M. M'Baye et testée avec D. Fargette lors de sa venue SCRI. Un des isolats, issu d'une région particulière, diffère clairement des autres isolats collectés dans le reste du pays. Ce résultat a été corroboré par l'étude d'échantillons venant du Nigéria, issus du même champ, et présentant des différences analogues. Il est donc possible qu'il y ait au sein d'un même pays, voire au sein d'un même champ, plusieurs souches du virus de l'enroulement de la tomate. Le variant a été isolé et mis en culture pour des comparaisons ultérieures.

L'analyse d'échantillons d'enroulement du gombo provenant de différentes régions suggère aussi une variation antigénique entre les différents isolats de ce virus.

L'étude de la composition en acides aminés, en codons et en dinucléotides des protéines capsidaires des géminivirus a été poursuivie sur la base d'un corpus étendu. Ce travail qui suit une méthodologie analogue à celle adoptée pour les virus en bâtonnets (cf. Annexe 4) a été présenté à un colloque de l'UNESCO par M. Desbois (Université Nationale de Côte d'Ivoire; M. Desbois bénéficie d'une prestation de service dans le cadre du projet) et fera l'objet d'une publication dans les compte-rendus du colloque. Les distinctions transmission par aleurodes vs cicadelles, monocotylédones vs dicotylédones ainsi que la variation géographique sont nettes avec la composition en acides aminés, sont encore apparentes avec celle en codons, mais demeurent "brouillées" avec celle en dinucléotides.

4.2. La Mosaïque africaine du manioc. Les travaux sur l'architecture du manioc ont été poursuivis. Les ajustements provisoires avec des lois simples et classiques permettent d'émettre des hypothèses sur le fonctionnement des méristèmes du manioc (cf Annexe 5).

Au cours de la réunion du mois de mars (cf. 1. Déroulement du projet) seront discutées les modalités suivant lesquelles pourront être acquises de nouvelles données sur la croissance de variétés virosées sensibles (cf. rapport semestriel précédent) nécessaires à l'achèvement de l'étude.

4.5. L'Enroulement de la tomate. Le travail sur l'Enroulement de la tomate se fait toujours en collaboration étroite avec M. Laterrot. Les graines issues de ses programmes de sélection sont fournies aux partenaires du projet (cf. Annexe 6). Les échantillons de virus collectés par M. Laterrot au cours de ses missions de prospection nous sont envoyés afin d'en établir le profil sérologique. Enfin, une étude de la teneur en virus de certaines variétés résistance a débuté. Des variétés issues de différentes espèces de tomate sauvages nous ont été transmises par M. Laterrot (INRA). Nous avons reçu aussi une variété de tomate résistante de M. Cohen (Volcani Institute, Israël). Nous en avons retenu cinq, issues chacune d'une espèce différente :

- *Lycopersicon esculentum* : TY 20.
- *Lycopersicon pimpinellifolium* : LA 1478.
- *Lycopersicon hirsutum* : LA 1777
- *Lycopersicon peruvianum* : CMV-INRA
- *Lycopersicon chilense* : LA 1969.

Les plantes seront greffées avec l'enroulement de la tomate (isolat Sénégal), puis le développement des symptômes et la teneur en virus sera évaluée par sérologie.

ANNEXES

(1) Fargette, D., Fauquet, C., Grenier, E. & Thresh, J.M. 1990. The spread of African cassava mosaic virus into and within cassava fields. Journal of Phytopathology 130, 289-302.

(2) B. D. Harrison (Grande-Bretagne). Rapport semestriel #2 du projet CEE TS2A-0137- C : Aout 1990-Février 1991. 5 pp.

(3) N'Guessan. IDESSA (Côte d'Ivoire). Rapport semestriel #2 du projet CEE TS2A-0137- C : juillet 1990-Février 1991. 5 pp.

(4) Desbois, D., Vidal, G., Fargette, D. & C. Fauquet. 1989. Typologie des virus de plantes en batonnet d'après la composition en acides aminés de leur protéine de capsid. Les cahiers de l'analyse des Données. Vol XIV, pp 385-392.

(5) R. Lecoustre. CIRAD (France). Rapport semestriel #2 du projet CEE TS2A-0137- C : Aout 1990-Février 1991. 3 pp.

(6) H. Laterrot. INRA (France). Rapport semestriel # 2 du projet CEE TS2A-0137- C : août 1990 - février 1991. 5 pp.

* (7) Abisgold, J. D. & L. D. C. Fishpool. 1990. A method for estimating population sizes of whitefly nymphs (*Bemisia tabaci*) on cassava. Tropical Pest Management 36 (3), 287-292.

* (8) G. Konaté. INERA (Burkina-Faso). Rapport semestriel #2 du projet CEE TS2A-0137- C : mars -août 1990. 3 pp.

* (9) A. A. M'Baye. ISRA (Sénégal). Rapport semestriel #2 du projet CEE TS2A-0137- C : mars -août 1990. 3 pp.

(* Ces documents se rapportent à des travaux décrits dans les rapports semestriels précédents).