

UNIVERSITE LOUIS PASTEUR
STRASBOURG I
1985

T H E S E

présentée à

**L'UNIVERSITE LOUIS PASTEUR
DE STRASBOURG**

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR és-SCIENCES

par

Claude FAUQUET
Chargé de Recherche à l'ORSTOM

**I - ETUDE DES PHYTOVIRUS DE
COTE D'IVOIRE**

Soutenue le 19 Décembre 1985 devant la commission d'examen

M.	Y.	BOULANGER	Président
M.	B.D.	HARRISON	Examineurs
M.	L.	HIRTH	"
Melle	G.	LEBEURIER	"
M.	M.H.V.	VAN REGENMORTEL	"

LISTE DES PROFESSEURS, MAITRES DE CONFÉRENCES
DIRECTEURS ET MAITRES DE RECHERCHE C.N.R.S. ET I.N.S.E.R.M.

Président	Professeur	H.DURANTON
Vice-Présidents	Professeur	M.ROOS
	Professeur	C.CONRAUX
	M.de Rech.	A.CORET
Présidents Honoraires	Professeur	G.OURISSON
	Professeur	P.KARLI
	Professeur	F.MARCOUX
Secrétaire Général	Monsieur	G.KIEHL

U.E.R. DES SCIENCES MÉDICALES

U.E.R. des Sciences Médicales : Directeur Jean-Marie MANTZ
U.E.R. des Sciences Biomédicales : Directeur Jean SCHWARTZ

Doyens honoraires : J.CALLOT - J.CLAVERT - F.ISCH - M.DORNER.

Professeurs honoraires : A.BASSET - P.BEYER - P.BUCK - J.CALLOT - J.CLAVERT - E.FORSTER - G.GREINER - A.JUNG - T.KAMMERER - P.MANDEL - H.METZGER - A.ROHMER - F.ROHMER - E.SCHNEEGANS - J.SEROR - F.STEPHAN - J.VEDRINE - R.VOEGTLIN - J.WARTER - G.WINCKLER.

Professeurs :

M.ADLOFF	Chirurgie générale	J.HERAN	Méd.et Chir.expérim.et comparée	B.METZ	Physiologie appliquée
N.APROSIO	Anatomie et Organogénèse	L.HOLLENDER	Chirurgie digestive et générale	R.MINCK	Bactériol. Virol. Immunol. gén.
C.ARON	Histologie	J.L.IMBS	Pharmacologie	G.MORAND	Chirurgie thoracique
L.ASCH	Rhumatologie	M.IMLER	Médecine interne	F.OBERLING	Maladies du sang
A.BATZENSCHLAGER	Anatomie pathologique	F.ISCH	Rééducation fonctionnelle	J.C.OTTENI	Anesthésiologie
M.BIENTZ	Epidémiologie et prévention	L.ISRAEL	Psychiatrie d'Adultes	E.PHILIPPE	Anatomie pathologique
P.BLOCH	Radiologie	D.JAECK	Chirurgie générale	R.RENAUD	Gynécologie et obstétrique
R.BLOCH	Pharmacologie	H.JAHN	Néphrologie	P.REVILLE	Endocrinol. métabol. et Nutrit.
R.BOCKEL	Hépatologie, Gastro-entérologie	M.JESEL	Rééducation fonctionnelle	P.REYS	Chir.gén. Hôp.L.Pasteur - Colmar
C.BOLLACK	Urologie	J.JUIF	Pédiatrie et Puériculture	J.RITTER	Gynécol. et Obstétrique
A.BRINI	Ophthalmologie	P.KARLI	Neurophysiologie	E.ROEGEL	Pneumologie phthisiologie
A.BRONNER	Clinique ophtalmologique	B.KELLER	Clin.gynécol. et obstétricale	J.V.RUCH	Biologie médicale
F.BUCHHEIT	Neurochirurgie	F.KEMPF	Radiologie	Y.RUMPLER	Embryol. et Morphol. générale
G.BURGHARD	Clin.et Prophylaxie de la tubercul.	I.KEMPF	Orthopédie et Traumatologie	A.SACREZ	Cardiologie
P.CHAMBON	Biochimie	T.T.KIEN	Parasitologie	P.SAUVAGE	Chirurgie infantile
J.CHAMBRON	Physique biologique	R.KIENY	Pathol. et Clin. Sémiol. chir.	G.SAVA	Chirurgie générale
M.CHAMPY	Stomatologie	A.KIRN	Virologie	G.SCHAFF	Physiologie
A.CHAUMONT	Méd.Légale et Méd.Sociale	J.G.KORITKE	Anatomie normale	E.SCHVINGT	Clin.chir.orthop. et traumat.d'adultes
M.COLLARD	Clinique neurologique	M.KREMER	Parasitol. et pathologie tropicale	J.SCHWARTZ	Pharmacol.et Médecine expérimentale
C.CONRAUX	Oto Rhino Laryngologie	D.KURTZ	Neurologie	A.SIBILLY	Clinique chirurgicale A
P.DELLENBACH	Gynécol. et Obstétrique	G.LANG	Orthop. et traumatologie	H.SICK	Anatomie et organogénèse
M.DORNER	Clin. Médicale B	Y.LE GAL	Anatomie pathologique	L.SINGER	Clinique psychiatrique d'Adultes
R.EBTINGER	Psychiatrie infantile	J.M.LEVY	Pédiatrie, Génétique médicale	D.STORCK	Clinique médicale A
M.FABRE	Histologie	J.M.MANTZ	Réanimation médicale	J.D.TEMPE	Réanimation médicale
L.FINCKER	Clin. médicale B Cardiologie	F.MARCOUX	Médecine du travail	G.VINCENDON	Biochimie
R.GANDAR	Clin. gynécol. et obstétricale	J.MARESCAUX	Histologie	A.WACKENHEIM	Radiologie
P.GAUTHIER-LAFAYE	Anesthésiologie	Ch.MARX	Physiologie	J.P.WALTER	Radiologie
J.P.GERHARD	Ophthalmologie	S.MAYER	Hématologie	P.WARTER	Radiologie
J.GRENIER	Chirurgie générale	J.MEHL	Médecine du travail	J.P.WEILL	Gastro-entérol.et hydrol.thérapeutique
E.GROSSHANS	Clin.dermatol.et Syphiligraphique	G.METHLIN	Physique biologique	D.WILLARD	Pédiatrie, Génétique Médicale
P.HABEREY	Physiologie			J.P.WITZ	Chirurgie thoracique

Professeurs conventionnés : G.LECLERC (Chim. org.) - A.PETROVIC (Physiologie).

Maitres de Conférences Agrégés :

S.BABIN	Orthopédie et Traumatologie	A.JAEGER	Réanimation médicale	J.M.MOSSARD	Cardiologie et maladies vasculaires
P.BAREISS	Médecine interne	P.KEHR	Orthopédie et traumatologie	G.OBERT	Virologie
P.BOURJAT	Radiologie	R.KEILING	Cancérologie	M.PATRI	Psychiatrie d'adultes
C.BRECHENMACHER	Cardiologie	J.KEMPF	Biochimie	G.PAULI	Pneumologie phthisiologie
J.M.BROGARD	Médecine interne	G.KLOTZ	Oto-rhino-laryngologique	M.PINGET	Endocrinologie et maladies métabol.
C.BURSZTEJN	Pédo-psychiatrie	F.KUNTZMANN	Médecine interne	M.ROOS	Histologie
J.CINQUALBRE	Urologie	J.M.LANG	Maladies du sang	J.P.SCHIEBER	Physiologie
A.CONSTANTINESCO	Physique Biologique	D.MAITROT	Neurochirurgie	G.SCHLAEDER	Gynécologie et obstétrique
J.P.DUPEYRON	Anesthésiologie	J.L.MANDEL	Biochimie	J.L.SCHLIENGER	Médecine interne
B.EISENMANN	Chirurgie cardio-vasculaire	C.MARESCAUX	Neurologie	C.STOLL	Pédiatrie, Génétique médicale
J.FLAMENT	Ophthalmologie	J.MARESCAUX	Chirurgie générale	J.TONGIO	Radiologie
J.GEISERT	Pédiatrie, Génétique médicale	J.MARK	Biochimie	J.M.WARTER	Neurologie
P.GERLINGER	Embryologie	J.MESSER	Pédiatrie, génétique médicale	A.WILK	Stomatologie
G.HAUPTMANN	Immunologie (opt. biol.)	C.MEYER	Chirurgie générale		
E.HEID	Dermato-vénérologie	H.MONTEIL	Bactériologie		

Maître de Conférences Associé : J.H.JAEGER (Orthopédie).

Maîtres de Conférences Conventonnés : A.MALAN (Physiologie respiratoire) - J.J.VOGT (Thermophysologie)

Directeurs de Recherche : M.JACOB* (Biochimie) - A.PETROVIC* (Physiologie).

Maîtres de recherche :

A.M.AUBERTIN* Virologie
D.AUNIS* Neurochimie
J.P.CAZENAVE* Hémostase
A.EBEL + Neurochimie
J.M.EGLY + Biologie moléculaire
L.FREYSZ + Neurochimie
M.GAUTHÉRIE + Thermologie biomédicale
G.GOMBOS + Neurochimie

K.HAFFEN-STENGER + Endocrinologie
G.LECLERC+ Chimie organique
G.REBEL + Neurochimie
R.RECHENMANN* Biophys. des rayonnements
L.SARLIEVE* Neurochimie
M.SENSENBRENNER + Neurochimie
J.STEVENIN* Biologie moléc.et cellulaire

C.STOCK-DAMGE* Physiologie
J.VELLY+ Pharmacologie
M.VERGNES* Neurophysiologie
N.VIRMAUX-COLIN + Neurochimie
J.J.VOGT + Thermophysologie
A.WAKSMAN + Neurochimie

* I.N.S.E.R.M. + C.N.R.S.

U.E.R. D' ODONTOLOGIE

Directeur Robert FRANK

Professeurs :

M.DOCQ Odontologie conservatrice, endodontie
R.FRANK Sciences biologiques (Biochimie), Immunologie, Histologie, Embryologie, Génétique,
Anatomie Pathologique, Bactériologie, Pharmacologie.
P.KLEWANSKY Parodontologie

J.LITZLER Prothèses (prothèse conjointe, adjointe
partielle, prothèse complète, prothèse
maxillo-faciale
Orthopédie dento-faciale

Professeurs de premier grade :

C.ALLEMANN Odontologie conserv., endodontie
M.BASTIAN Prothèses (prothèse conjointe, adj.
partielle, prothèse complète,
prothèse maxillo-faciale
C.BOLENDER Orthopédie dento-faciale
A.COMTE Odontologie conserv., endodontie

R.HAAG Chirurgie buccale, pathol. et thérap.,
Anesthésiologie et réanimation
M.LANGER Prothèses (prothèse conjointe, adj.
partielle, prothèse complète,
prothèse maxillo-faciale
- idem -
M.LEIZE

P.NICOLAS Chirurgie buccale, pathol. et thérap.,
Anesthésiologie et réanimation
J.J.ROTH Parodontologie
A.SCHLIENGER Prothèses (prothèse conjointe, adjointe
partielle, prothèse complète, prothèse
maxillo-faciale
Pédodontie
J.SOMMERMATER

Professeurs de deuxième grade :

P.CAHEN Prévention, épidémiologie, économie de la Santé,
Odontologie légale
J.P.CHARLIER Orthopédie dento-faciale

B.KAESS Chirurgie buccale, pathol. et thérap.,
Anesthésiologie et réanimation
H.TENENBAUM Parodontologie

Maître de recherche : I.N.S.E.R.M. : A.BELCOURT (Odontologie)

U.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Directeur Alexis GAIRARD

Doyens honoraires : P.DUQUENOIS - M.HASSELMANN - G.DIRHEIMER - P.METAIS.

Professeurs honoraires : P.CORDIER - J.P.EBEL - G.GAZET du CHATELIER - M.HASSELMANN - P.JAEGER - J.SCHREIBER

Professeurs :

R.ANTON Pharmacognosie
J.J.BEFORT Biologie cellulaire
R.CARBIENER Botanique
G.DIRHEIMER Toxicologie
G.FERARD Biochimie
J.L.FRESLON Pharmacodynamie
A.GAIRARD Physiologie
D.GERARD Physique et biophysique
M.GOELDNER Chimie organique
C.HASSELMANN Chimie analytique

L.JUNG Pharmacie chimique
J.C.KOFFEL Pharmacie chimique
H.LAMI Mathématiques
Y.LANDRY Pharmacologie
C.LAPP Chimie générale et minérale
P.LAUGEL Chimie analytique
G.LAUSTRIAT Physique
A.LUGNIER Toxicologie
J.MALGRAS Immunologie

C.MATHIS Pharmacie galénique
P.METAIS Biochimie
B.PESSON Parasitologie
P.POINDRON Virologie
A.STAHL Biochimie pharmaceutique
A.STAMM Pharmacie galénique
J.C.STOCLET Pharmacodynamie
D.VIDON Bactériologie
C.G.WERMUTH Chimie organique

Professeur émérite : J.SCHREIBER (Chimie organique).

Chargé de cours : M.KRISTENSEN (Hygiène, nutrition et diététique).

Professeur associé : R.MILLER (Pharmacodynamie).

Professeur conventionné : R.HEINTZ (Pharmacocinétique) - B.ROTH-SCHECHTER (Pharmacodynamie).

Maître de recherche : I.N.S.E.R.M. : J.BIETH (Enzymologie).

U.E.R. DES SCIENCES HUMAINES

U.E.R. de Géographie

: Directeur Henri VOGT

U.E.R. des Sciences du Comportement et de l'Environnement

: Directeur Philippe ROPARTZ

Professeurs honoraires : E.JUILLARD - R.RAYNAL.

Professeurs :

J.M.AVENARD Géographie
L.LEGRAND Sciences de l'éducation
P.LIMOUZIN Géographie
P.MICHEL Géographie

A.MOLES Psychologie sociale
H.NONN Géographie
H.REYMOND Géographie

A.TABOURET-KELLER Psychologie
M.TARDY Psycho-pédagogie
J.TRICART Géographie
H.VOGT Géographie physique

Maître de Conférences Conventonnés : J.P.BAUER (Psycho-pédagogie).

Directeur de recherche : C.N.R.S. : S.RIMBERT (Géographie).

Maître de recherche : C.N.R.S. : J.P.MARTIN (Géographie).

U.E.R. DES SCIENCES ÉCONOMIQUES

Directeur Michel DEVOLUY (Chargé de l'intérim)

Doyens honoraires : P.CHAMLEY - J.P.FITOUSSI - R.DOS SANTOS FERREIRA - J.L.GAFFARD.

Professeurs honoraires : A.CHABERT - P.CHAMLEY.

Professeurs :

P.ARTZNER	Mathématiques	R.DOS SANTOS FERREIRA	Sciences Economiques	J.J.OBRECHT	Sciences de gestion
F.BILGER	Sciences Economiques	J.J.DURAND	Sciences Economiques	P.PONCET	Sciences de gestion
P.COHNDET	Sciences Economiques	G.KOENIG	Sciences Economiques	J.THEPOT	Sciences de gestion

Professeurs émérites : A.CHABERT (Sciences Economiques) - P.CHAMLEY (Sciences Economiques).

Professeurs associés : W.HILDENBRAND - J.P.VIAL.

Professeur conventionné : R.UHRICH (Ecr.rég. et europ.).

Chargés de conférences : J.ARROUS - R.ERBES.

U.E.R. DES SCIENCES EXACTES

Mathématiques	: Directeur Daniel BERNARD
Sciences de la Matière	: Directeur Henri BENOIT
Sciences de la Vie et de la Terre	: Directeur Thierry JUTEAU
Sciences du Comportement et de l'Environnement	: Directeur Philippe ROPARTZ
Ecole d'Application des Hauts Polymères	: Directeur Morand LAMBLA
Ecole Nationale Supérieure de Chimie	: Directeur Marc DAIRE
Observatoire	: Directeur Alphonse FLORSCH
Physique du Globe	: Directeur Roland SCHLICH
Ecole Nationale Supérieure de Physique	: Directeur Gilbert SUTTER
I.U.T.	: Directeur Michel GENEVAUX

Doyens honoraires : P.LACROUTE - J.H.VIVIEN - G.MILLOT.

Professeurs honoraires : J.BRENET - Mme M.BRINI - J.BYE - H.CARTAN - C.CHABAUTY - A.CHRETIEN - A.DELUZARCHE - J.DENY - Mlle A.GAGNIEU - Mlle S.GILLET - G.GLAESER - S.GORODETZKY - L.HIRTH - R.HOCART - P.JOLY - P.LACROUTE - R.LECOLAZET - G.LEMEE - P.L'HERITIER - A.LICHNEROWICZ - A.MAILLARD - G.MILLOT - L.NEEL - G.REEB - A.ROCHE - R.ROHMER - J.P.ROTHE - L.SACKMANN - Ch.SADRON - H.SAUCIER - F.SCHALLER - F.STUTINSKY - H.VILLAT - J.H.VIVIEN - Et.WOLFF - J.WUCHER - B.WURTZ.

Professeurs :

A.ACKER	Astronomie	P.FELTZ	Physiologie Animale	J.MARTINET	Mathématiques
J.P.ADLOFF	Chimie nucléaire	X.FERNIQUE	Mathématiques	P.MIALHE	Physiologie animale
R.ARMBRUSTER	Physique	J.G.FISCHER	Chimie	A.MICHARD	Géologie
P.ARTZNER	Mathématiques	D.FOATA	Mathématiques	M.MIGNOTTE	Informatique
V.AVANISSIAN	Analyse supérieure	E.FOLLENUS	Zoologie	P.MIRABEL	Chimie
G.BARBANÇON	Mathématiques	J.J.FRIED	Mécanique des Fluides	G.MONSONEGO	Physique théorique
F.BECKER	Physique mathématique	D.FROELICH	Chimie générale et chimie phys.	B.MORIN	Mathématiques I
N.BEFORT	Biochimie	A.FUCHS	Mécanique rationnelle	P.NANOPOULOS(dét.)	Probabilités et Statistiques
G.BELLIARD	Botanique	J.C.GALL	Géologie	B.OBRECHT	Mécanique
C.BENEZRA	Dermato-chimie	A.GALLMANN	Physique	J.OSBORN	Chimie
D.BENNEQUIN	Mathématiques	F.GAUTIER	Physique	E.OSTERTAG	Electr. et Electrotechnique
H.BENOIT	Physicochimie macromol	R.GERARD	Mathématiques	L.OTTEN	Pathologie moléculaire végétale
P.BENVENISTE	Physiologie végétale	A.GIRAudeau	Chimie physique (IUT)	G.OURISSON	Chimie
D.BERNARD	Méth.math.de la physique	C.GODBILLON	Mathématiques	J.M.PAULUS	Chimie générale
J.C.BERNIER	Chimie générale	A.GOLTZENE	Optique, phys.atom. et moléc.	J.P.RAMIS	Mathématiques générales
J.BONNIN	Géophysique interne	M.GOUNOT	phys. du sol et cristallographie	P.RICHARD	Physiologie animale
Y.BOULANGER	Biochimie	M.GROSS	Physique	J.J.RIEHL	Chimie
J.F.BOUTOT	Mathématiques	M.GROSSMANN	Chimie physique	P.RIMMELIN	Chimie organique (IUT)
J.BROSSAS	Chimie macromolécül.	Y.GUEGUEN	Géophysique interne	C.ROBERT	Physique
R.BROUILLARD	Chimie org.et chimie analyt.	C.HIRTH	Chimie organique	P.ROPARTZ	Psycho-physiologie
C.BURGGRAF	Minéralogie	J.C.HUBERT	Microbiologie	J.ROUX	Botanique
H.BURNAGE	Mécanique des Fluides	B.JARRY	Biochimie génétique	G.SCHIFFMANN	Mathématiques
M.CARA	Géophysique interne	C.JASCHEK	Astronomie	A.SCHMITT	Physique
H.CARAYOL	Mathématiques	G.JONARD	Virologie	P.SCHMITT	Psycho-physiol.et physiol.du comp.
R.CERF	Physique générale	J.P.JOUANOLOU(dét.)	Mathématiques	J.P.SCHWING	Chimie
P.CHARTIER	Chimie	F.JUNDT	Phys.nucl.et corpusc.et théo.phys.	M.J.SCHWING	Chimie physique
P.CHEVALLIER	Physique	T.JUTEAU	Minéralogie	J.C.SENS	Phys.nucl.et corpusc.et théor.phys.
A.CLAUSS	Chimie	C.KEDINGER	Biochimie	M.SIESKIND	Physique
A.COCHÉ	Physique nucléaire	A.KIENNEMANN	Chimie appl. et génie chimique	G.SOLLADIE	Chimie organique
M.DAIRE	Chim.phys.indus.et Sc.des Mat.	R.KIRSCH	Zoologie	J.SOMMER	Chimie appliquée
H.DANAN	Phys.atom.et phys.du solide	F.LACROUTE	Biologie végétale	S.SORIN	Mathématiques
E.DANIEL	Physique expérimentale	J.C.LAFON	Informatique appliquée	G.SUTTER	Physique électronique
M.DAUNE	Biophysique	A.M.LAMBERT	Biologie	C.TANIELAN	Chimie appl.et chimie des matériaux
J.DEHAND	Chimie générale	M.LAMBLA	Chimie générale	Y.TARDY	Géologie
J.DEMUYNCK	Chimie organique	G.LEBEURIER	Microbiologie	J.TERRISSE	Chimie
J.P.DESCLÉS	Inform.fond.et appl.(Univ.II)	J.M.LEHN	Chimie (Collège de France)	J.J.THIEBOLD	Biologie animale
J.F.DUFOURD	Inform.fond.et appl.	J.L.LEIBENGUTH	Chimie appl. et chimie des matér.	D.VIAUD	Mathématiques
G.DUNOYER de	Géologie	H.LEISMANN	Chimie	R.VOLTZ	Physique théorique
SEGONZAC (dét.)		P.LEITE-LOPES	Phys.nucl. et corpusculaire	J.H.WEIL	Biochimie
H.DURANTON	Botanique	P.LEMOINE	Chimie physique (IUT)	G.WEILL	Physique
J.P.EBEL	Biochimie	M.LEROY	Chimie	R.WEISS	Chimie
J.P.EBERHART	Minéralogie	J.C.LIONS	Zoologie et Ecologie	P.L.WENDEL	Physique
B.EHRESMANN	Biochimie	F.LOOR	Immunologie	B.WILL	Psycho-physiologie
V.ERN	Physique	J.LUCAS	Géologie	C.WINTER	Chimie
J.FARAUT	Mathématiques	D.MAGNAC	Physique	C.WIPPLER	Physicoch.des Hauts Polymères
P.FEDERLIN	Chimie				

Professeurs émérites : G.GLAESER (Math.) - L.HIRTH (Microbiologie) - R.LECOLAZET (Phys. du Globe) - G.MILLOT (Géologie Paléontologie).

Professeur adjoint : J.SITTLER (Géologie).

Professeurs associés :

Z. AKCASU	Optique physique	J. GROVES	Chimie minérale	L. MEZZA-BASSO	Biochimie
K. BHATT	Physique nucléaire théorique	T. HOFMOKL	Physique nucléaire et corpusculaire	J.L. MORAN-LOPEZ	Physique
P. BIRD	Chimie minérale	A. KORANYI	Mathématiques	I. SATAKE	Mathématiques
H. BJELKHAGEN	Electronique et Electrotechnique	G. LETTA	Mathématiques	H. SCHMIED	Physique
C. CAMACHO	Mathématiques	A. MELFI	Géochimie	H. UMEMURA	Mathématiques
P. CARSKY	Chimie	P. MEYRUEIS	Robotique productique	H. YEH	Géochimie
M. CONSTANTIN	Chimie organique				

Professeurs conventionnés : P. DEJOURS (Physiol. respir.) - Y. NAKATANI (Chimie) - P. SMIGIELSKI (Physique).

Astronomes adjoints : A. FLORSCH - A. FRESNEAU (dét.) - M. JASCHEK.

Physiciens adjoints (Physique du Globe) : P. HOANG TRONG (Géophysique int.) - R. MONTIGNY (Géophysique int.).

Directeurs de recherche C.N.R.S. :

P. ALBRECHT	Chimie	J. LAHAYE	Coordination et catalyse	A. SKOULIOS	Physicochimie macromoléculaire
J.F. BIELLMANN	Chimie	G. MAIRE	Chimie	M. VAN REGENMORTEL	Virologie
S. CANDAU	Physique	J. MARCHAL	Physicochimie macromoléculaire	R. VAROQUI	Physicochimie macromoléculaire
P. DEJOURS	Physiologie respiratoire	A.J.P. MEYER	Physique des solides	A. VEILLARD	Chimie moléculaire
M. FRANCK-NEUMANN	Chimie organique	P.A. MEYER	Mathématiques	R. ZANA	Physicochimie macromoléculaire
J. HOFFMANN	Biologie animale	A. PORTE	Biologie cellulaire	W.S. ZHOU	Astr. environnement planétaire
A. KNIPPER	Physique nucl. et corpusculaire	P. REMPP	Physicochimie macromoléculaire	A. ZUKER	Physique théorique
A. KOVACS	Physicochimie macromoléculaire	R. SCHLICH	Géophysique marine		
		P. SIFFERT	Physique nucl. et corpusculaire		

Maîtres de recherche C.N.R.S. :

J. Ch. ABBE	Physicoch. des interact. et interfaces	H. GIRARD	Physiologie respiratoire	L. PINCK	Virologie
J.J. ANDRE	Physicochimie macromoléculaire	P. GRAMAIN	Physicochimie macromoléculaire	F. POIX	Chimie
E. ASLANIDES	Physique nucléaire et corpusculaire	J.B. GRUN	Physique	J. POUYET	Biophysique
H. BARREAU	Philo., Epistémol., Hist. des Sc. et Tech.	H. GUILLEY	Biochimie, Biologie végétale	B. REES	Chimie
F. BECK	Physique nucléaire et corpusculaire	F. HAAS	Physique nucléaire et corpusculaire	J. REINBOLT	Biochimie
G. BECK	Biochimie	J. HERZ	Physicochimie macromoléculaire	P. REMY	Chimie
J.P. BECK	Physiologie	F. HIBOU	Physique nucléaire	K. RICHARDS	Virologie
J.P. BEHR	Chimie	L. HILAIRE	Chimie physique	J. RICHERT	Physique nucléaire théorique
M. BENARD	Chimie quantique	G. JENNER	Chimie	J. RINGEISSEN	Physique
H. BRAUN	Physique nucléaire et corpusculaire	G. KAUFMANN	Chimie	O. ROHFRITSCH	Phytomorphogénèse
P. BRAUNSTEIN	Chimie	G. KEITH	Biochimie	J.P. ROTH (a/Dir. Jnet. Rech)	Physicochimie macromoléculaire
G. BURKARD	Biochimie végétale	H. KESSLER	Matériaux inorganiques	J.P. SAUVAGE	Chimie physique
M.C. CADEVILLE	Physique des solides	J.P. KINTZINGER	Chimie	R. SCHANTZ	Physiologie végétale
H. CALLOT	Chimie	B. KOCH	Physiologie	F. SCHEIBLING	Physique nucléaire et corpusculaire
F. CANDAU	Physicochimie macromoléculaire	E. KOCHANSKI	Struct. et dynam. molécul. -	F. SCHUBER	Chimie organique
J. CHEVELLIER	Physique nucléaire et corpusculaire		Chimie de coordination	N. SCHULZ	Physique nucléaire et corpusculaire
M. R. CHEVALLIER	Biologie cellulaire	M. LAGUEUX	Bio organismes/dév.	C. SCHWAB	Physique
N. CLAUER	Géologie	B. LANG	Cristallographie	O. SCRIVENER	Sc. phys. pour l'Ingénieur
J.P. COFFIN	Physique nucléaire et corpusculaire	J. LANG	Physicochimie macromoléculaire	R. SELTZ	Physique nucléaire et corpusculaire
A. CORET	Physique	P. LAURENT	Physiol. comparée des régulations	B. SIFFERT	Coordination et catalyse
M. CROISSIAUX	Physique nucléaire et corpusculaire	C. LERAY	Physiol. comparée des régulations	P. SIMPSON	Bio organismes/dév.
E. CROUSE	Biochimie végétale	R. LEVY	Physique	C. SITTNER	Géologie
C. DECKER	Chimie théorique et macromoléc.	J.L. LODAY	Mathématiques	A. SOLLADIE	Chimie
D. DISDIER	Physique nucléaire et corpusculaire	B. LOTZ	Physicochimie macromoléculaire	M.E. STOECKEL	Biol. des interactions cellulaires
J. DOUBINGER	Géologie	B. LUU	Chimie organique	C. STRAZIELLE	Physicochimie macromoléculaire
F. DURST	Physiologie végétale	A. MALAN	Physiologie respiratoire	M. SUFFERT	Physique nucléaire et corpusculaire
R. EHRBURGER	Coordination et catalyse	E. MARCHAL	Physicoch. molécul. et macromol.	J.C. THIERRY	Chimie
S. EL KOMOSS	Physique	P. MARTINOTY	Sc. Physique pour l'Ingénieur	K. TRAORE	Physicochimie atomique et ionique
J. FLECK	Virologie	J.C. MERDINGER	Physique nucléaire	J.P. VIVIEN	Physique nucléaire et corpusculaire
B. FRANÇOIS	Physicochimie macromoléculaire	C. MIOSKOWSKI	Chimie	P. WAGNER	Physique nucléaire et corpusculaire
J. FRANÇOIS	Physicochimie macromoléculaire			G. WALTER	Physique nucléaire et corpusculaire
E. FRANTA	Physicochimie moléculaire	D. MORAS	Chimie	F. WEBER	Géologie
J.M. FRIEDT	Physicoch. des interact. et interfaces	T. MULLER	Physique nucléaire et corpusculaire		
B. FRITIG	Virologie	G. MUNSCHY	Physique	J.P. WENIGER	Zoologie
R. FUCHS	Biophysique	E. PAPIREY	Chimie théor. et macromol.	M. WESTPHAL	Géophysique
J.C. GALIN	Physicochimie macromoléculaire	H. PAQUET	Géologie	J.C. WITTMANN	Chimie théor. et macromol.
Y. GALLOT	Physicochimie macromoléculaire	M. PATY	Physique nucléaire et corpusculaire	J. WITZ	Biologie cellulaire
J. GANGLOFF	Biochimie	P. PEVET	Zoologie	R. WOLFF	Chimie
J.P. GERBER	Physique nucléaire et corpusculaire	C. PICOT	Physicochimie macromoléculaire	J.P. ZIELINGER	Physique
R. GIEGE	Biochimie			L. ZILLOX	Mécanique des Fluides
C. GIGOT	Virologie				

Les recherches qui font l'objet de ce mémoire ont été effectuées sur le Centre d'Adiopodoumé en Côte d'Ivoire au laboratoire de Phytovirologie de l'ORSTOM, dont le siège est à Paris.

Je suis reconnaissant à Monsieur le Ministre de l'Éducation Nationale et de la Recherche Scientifique de Côte d'Ivoire d'avoir accepté que ce programme de recherche s'effectue sur le territoire de la Côte d'Ivoire, et de n'avoir rien fait qui puisse gêner son déroulement.

Monsieur le Professeur L. HIRTH, mon Directeur Scientifique, a décidé de la création de ce laboratoire de Virologie des plantes en 1968, il a choisi ce programme de recherche et il m'a confié une partie de sa réalisation, qu'il en soit ici respectueusement remercié. Je lui suis également reconnaissant d'avoir accepté de juger ce mémoire avec toute sa très grande compétence, et je tiens à lui présenter ici l'hommage de mon profond respect et de ma très haute considération.

A Monsieur le Professeur BOULANGER, Président du jury,
A Mademoiselle le Professeur LEBEURIER,
Au Docteur HARRISON,
Au Docteur VAN REGENMORTEL,

Que tous les membres du jury veuillent agréer l'expression de ma gratitude pour l'honneur qu'ils me font de lire et de juger ce travail.

Au Dr B.D. HARRISON, en particulier, j'adresse toute ma reconnaissance pour avoir accepté d'être mon Parrain Scientifique au sein de l'ORSTOM, pour avoir toujours montré de l'intérêt pour mes recherches, pour avoir toujours été très patient avec la correction de nos publications pour lesquelles il a toujours été extrêmement méticuleux et surtout pour m'avoir fait bénéficier de son immense compétence.

Je tiens à rendre un chaleureux hommage au Dr A.J. GIBBS qui dans un moment difficile m'a apporté un très réel soutien, la compétence de ses conseils et un support scientifique très actif qui m'a parfois sauvé du découragement.

Les fructueuses et amicales discussions que j'ai pu avoir avec le Dr K.R. BOCK au Kenya, m'ont permis de progresser dans mon travail, qu'il en soit ici grandement remercié.

Que le Professeur Y. BOULANGER pour avoir accepté que les analyses de protéines se fassent dans son laboratoire, et que le Dr REINBOLT pour avoir participé activement à leur réalisation, soient remerciés.

Que mon collègue J. DEJARDIN, biométricien à l'ORSTOM, qui a conduit les analyses statistiques indispensables à la seconde partie de mon travail, soit assuré de ma réelle et sincère gratitude.

Je remercie vivement J-C THOUVENEL, mon collègue de tous les jours, avec qui j'ai réalisé une grande partie de ce travail, ainsi que tous mes collègues Phytovirologues de l'ORSTOM et du LPRC (Laboratoire de Phytovirologie des Régions Chaudes) pour leur apport personnel à l'inventaire des virus de Côte d'Ivoire. Je remercie en particulier mon jeune collègue D. FARGETTE qui, dans les moments de découragement, m'a toujours encouragé à persévérer.

Merci également à tout le personnel du laboratoire de Phytovirologie d'Adiopodoumé et à tout le personnel administratif de l'ORSTOM pour m'avoir aidé. De même je suis reconnaissant au personnel du service des éditions de l'ORSTOM pour avoir contribué à l'édition de l'Inventaire et de ce mémoire.

A Monsieur le Professeur WEIL j'adresse ma respectueuse et profonde gratitude pour m'avoir fourni les renseignements et les conseils nécessaires sans lesquels je n'aurais pu présenter ce mémoire.

Enfin je remercie chaleureusement mon ami Lothaire PINCK, Directeur de Recherche à l'IBM de Strasbourg pour m'avoir toujours et en toutes circonstances aidé, sans lui cette thèse n'aurait pu être soutenue.

*Je dédie cette thèse à Claire, Emilie et Adrien
pour avoir attendu leur mari et père
pendant de longues heures.*

SOMMAIRE

1. PHYTOVIRUS DE COTE D'IVOIRE.....	1
1.1. INTRODUCTION.....	5
1.2. DESCRIPTION THEMATIQUE DES PHYTOVIRUS DE COTE D'IVOIRE.....	19
1.2.1. INTRODUCTION.....	21
1.2.2. VECTEURS DES PHYTOVIRUS EN AFRIQUE TROPICALE.....	23
1.2.3. VIRUS TRANSMIS PAR ALEURODE EN AFRIQUE.....	31
1.2.4. VIRUS FILAMENTEUX EN AFRIQUE.....	43
1.2.5. LES POTYVIRUS DE COTE D'IVOIRE.....	53
1.2.6. LES VIROSES DE L'ARACHIDE EN AFRIQUE DE L'OUEST.....	65
1.2.7. LES VIROSES DE L'IGNAME EN COTE D'IVOIRE.....	87
1.2.8. LES VIROSES DU MAIS EN COTE D'IVOIRE.....	97
1.2.9. LES VIROSES DES PLANTES MARAICHERES EN COTE D'IVOIRE.....	105
1.2.10. LES VIROSES DU POIS AILE EN COTE D'IVOIRE.....	131
1.2.11. CONCLUSION.....	157
1.3. DESCRIPTION DES PHYTOVIRUS DE COTE D'IVOIRE PAR MALADIE VIRALE.....	159
1.3.1. INTRODUCTION.....	161
1.3.2. MALADIES VIRALES DES PLANTES EN COTE D'IVOIRE.....	163
1.3.3. CONCLUSION.....	173
1.4. DESCRIPTION DES PHYTOVIRUS DE COTE D'IVOIRE SUIVANT LEUR STRUCTURE.....	175
1.4.1. INTRODUCTION.....	177
1.4.2. VIRUS ISOMETRIQUES.....	179
1.4.2.1. TYMOVIRUS.....	181
Voandzeia Necrotic Mosaic Virus, VNMV.....	183
1.4.2.2. SOBEMOVIRUS.....	193
Rice Yellow Mottle Virus, RYMV.....	195
1.4.2.3. VIRUS NON CLASSES.....	203
Maize Eye Spot Virus, MESV.....	205
1.4.3. VIRUS HELICOIDaux.....	211
1.4.3.1. FUROVIRUS.....	213
Peanut Clump Virus, PCY-G (souche verte).....	215
Rice stripe necrosis virus, RSNV.....	251
1.4.3.2. POTEXVIRUS.....	271
Groundnut Chlorotic Spotting Virus, GCSV.....	273
1.4.3.3. CARLAVIRUS.....	283
Cowpea mild mottle virus, CMMV.....	285
1.4.3.4. POTYVIRUS.....	287
Yam Mosaic Virus, YMV.....	289
Guinea Grass Mosaic Virus, GGMV-A (souche panicum).....	299
Guinea Grass Mosaic Virus, GGMV-B (souche mais).....	303
Guinea Grass Mosaic Virus, GGMV-D (souche mil).....	309
Asystasia Mottle Virus, AsMoV.....	319
1.4.4. CONCLUSION.....	325
1.5. CONCLUSION GENERALE.....	327
1.6. BIBLIOGRAPHIE.....	335

1

PHYTOVIRUS DE COTE D'IVOIRE

1.1.

INTRODUCTION

1.1. INTRODUCTION

L'ORSTOM créait en 1968 le laboratoire de Phytovirologie d'Abidjan, en Côte d'Ivoire, et lui confiait l'étude des virus des plantes de ce pays et de cette région du globe. Tout naturellement le premier travail du laboratoire fut de dresser :

"l'Inventaire des Maladies Virales des Plantes de Côte d'Ivoire".

Des questions viennent immédiatement à l'esprit : pourquoi créer un tel programme, pourquoi dans ce pays et dans quel but ?

A la question : "pourquoi créer un programme d'Inventaire des Maladies Virales des Plantes en Côte d'Ivoire?", la réponse est d'évidence : par avidité de connaissances, pour connaître la population virale des plantes cultivées dans cette région du monde.

Partout ailleurs dans le monde les viroses sont réputées être des maladies dévastatrices et souvent inéluctables; quelle est donc la situation en Afrique? Ce continent est-il épargné ou bien subit-il des pertes importantes en raison du développement de ces pathogènes ?

Parmi les viroses les plus dévastatrices dans le monde, on peut citer les viroses de la pomme de terre en général et le Potato leaf roll virus en particulier (RUSSEL, 1978), le Citrus tristeza virus qui a éliminé 75 % des arbres au Brésil (6 millions d'arbres) (LISTER & BAR-JOSEPH, 1981) et les maladies de la vigne en Europe avec le Grapevine fanleaf virus qui peut diminuer le rendement de 50 % (VUITTENEZ, 1970). Les graminées ne sont pas épargnées avec le Wheat mosaic virus et le Barley yellow dwarf virus (SLYKHUIS, 1967), ainsi que les viroses de la betterave qui ont occasionné des pertes très importantes empêchant la culture dans certaines régions (RUSSELL, 1958). En Afrique seule la virose du cacaoyer, le Cacao swollen shoot virus est connue comme une maladie dévastatrice pour avoir décimé 180 millions d'arbres au Ghana (POSNETTE, 1947; THRESH, 1958a; OWUSU, 1983). On pourrait donc se demander si une situation semblable prévalait sur les autres plantes cultivées dans cette région du monde, et cette raison justifiait pleinement à elle seule ce programme.

La Virologie des plantes est une science relativement jeune puisque la première preuve de l'existence d'un virus remonte à 1898 (BEIJERINCK) et fut trouvée en Hollande. C'est en Europe, puis aux Etats-Unis que la plupart des recherches dans ce domaine ont été réalisées. La bibliographie est énorme et un travail gigantesque a été effectué sur les maladies virales des plantes dans les régions tempérées, mais il existe peu de choses en ce qui concerne le milieu tropical. Et pourtant tout y est différent, le climat, les plantes, les insectes, les techniques culturales... on pourrait donc penser que les virus soient également différents. Cette situation était vraie pour toutes les zones tropicales de tous les continents mais encore plus pour l'Afrique.

Quant aux virologues, ils étaient poussés par la soif de découvrir les virus de cette partie du monde, n'y avait-il pas des virus particuliers, étranges, inconnus, transmis par de nouveaux vecteurs ?

Tout d'abord lorsque l'on parle de l'Afrique, il faut définir exactement ce que l'on considère. En effet c'est un immense continent qui est très hétérogène de par sa climatologie, sa végétation, ses cultures et ses hommes. Nous ne considérerons ici que la partie tropicale de l'Afrique (entre les deux tropiques) qui est beaucoup plus homogène biologiquement parlant. L'Afrique du Nord et l'Afrique du Sud, grâce à leur climat de type méditerranéen et de par leur histoire ont connu une colonisation qui a apporté et cultivé des plantes de type tempéré et qui a peut-être aussi introduit des virus. L'Afrique tropicale qui ne permet pas (ou très peu) de cultiver ces plantes, est restée beaucoup plus vierge à ce point de vue. Elle est aussi beaucoup plus originale de par les plantes qu'on y cultive : bananes, cacao, café, ananas, igname, manioc, taro, patate douce, arachide, légumineuses alimentaires, mil, sorgho... Mais on y trouve aussi des plantes universellement cultivées : riz, maïs, cultures maraîchères... De plus, il ne faut pas croire que l'Afrique tropicale est une zone homogène, le volume des pluies varie de 600 mm au Sahel à 4 000 mm au pied du Mont Cameroun. Le régime des pluies y diffère largement des tropiques vers l'équateur avec une ou deux saisons des pluies séparées par une saison sèche plus ou moins longue. Enfin entre l'Est et l'Ouest du continent la Rift Valley est une cassure profonde qui a eu peut-être une répercussion sur la végétation et donc sur ses pathogènes, dont font partie les virus de plantes.

En 1968 les connaissances en matière de Virologie des plantes étaient inexistantes en Côte d'Ivoire mais non pas nulles pour le reste de l'Afrique Tropicale. Il y eu, avant cette date, des nombreuses descriptions de symptômes de maladies virales, (BOURIQUET, 1946 ; ROGER & MALLAMAIRE, 1938...), des expériences de transmission et des sélections réalisées dans un certain nombre de cas. Nous ne ferons pas l'inventaire exhaustif de tout ce travail mais nous relaterons quelques exemples marquants.

La Phytovirologie Africaine avant 1970

Tout d'abord l'histoire Africaine de la Virologie des plantes sera à jamais marquée par le travail en Afrique de l'Est de STOREY. Ce chercheur s'est intéressé à de nombreuses maladies virales de plantes très différentes, il a étudié la transmission de plusieurs d'entre elles et il a même effectué des sélections de matériel résistant, en particulier avec NICHOLS pour ce qui est du manioc.

Maladies virales du manioc

Une des plantes les plus importantes et où sévit une virose également très importante est le manioc. La Mosaïque Africaine du manioc

fut signalée pour la première fois à la fin du siècle dernier par WARBURG en 1894 et au début de celui-ci par ZIMMERMANN en 1906, DADE en 1931, PASCALET en 1932, et GOLDING en 1936. La transmission par *Bemisia tabaci*, signalée par GHESQUIERE (1932) fut étudiée ainsi que des éléments d'épidémiologie par STOREY & NICHOLS (1936 et 1938). La transmission mécanique fut essayée par HEDIN (1931), STANER (1931), KUFFERATH & GHESQUIERE (1932), PASCALET (1932) et LEFEVRE (1935). Enfin un programme de sélection qui débouchera sur la création des clones résistants, actuellement utilisés, fut entrepris par WILLIAMS (1940), NICHOLS (1947), COURTS (1951) et poursuivi par JENNINGS (1957, 1960), DOUGHTY (1958) et DOKU (1965).

Le Cassava brown streak virus, également une maladie virale du manioc transmise par aleurodes, est connu depuis très longtemps (NICHOLS, 1950). Les symptômes sont beaucoup plus discrets que ceux de la mosaïque Africaine et il y a eu beaucoup moins d'études réalisées sur cette virose, cependant dans la plupart des sélections faites pour la mosaïque, les sélectionneurs ont également pris en compte le Cassava brown streak virus (JENNINGS, 1957).

Maladies virales du cotonnier

Un autre pôle d'intérêt en matière de Virologie des plantes en Afrique fut l'étude des maladies virales du cotonnier. Le leaf-curl du cotonnier fut signalé au Nigeria en 1912 (FARGHASON) puis au Soudan en 1950 (HUTCHINSON) et enfin en Côte d'Ivoire et au Togo en 1968 (COUTEAUX et al.; LAGIERE). NOUR & NOUR (1964 et 1968) étudient cette virose au Soudan et décrivent deux types de symptômes. Les modalités de transmission par *Bemisia tabaci* (GOLDING, 1930; KIRKPATRICK, 1930; 1931; et TARR, 1951, 1957) ainsi que les réservoirs ont été bien étudiés. STOREY (1935), grâce à des expériences de transmission a pu montrer que cette maladie était différente du Tobacco leaf curl. Ceci fut également confirmé par YASSIN & EL NUR (1965 et 1970). Enfin l'épidémiologie de cette maladie a été relativement bien étudiée par BOUGHEY (1947), GIHA & NOUR (1969), KIRKPATRICK (1931), NOUR & NOUR (1963) et TARR (1964). Une méthode de lutte, en utilisant des variétés résistantes, a pu être mise au point par SIDDIQ en 1968.

Une autre maladie virale avait également été identifiée sur cotonnier, il s'agit de la Mosaïque Africaine du cotonnier également transmise par Aleurodes. Cette maladie signalée dans de très nombreux pays africains à l'état endémique, a explosé en 1968-1971 (BRADER & ATGER, 1971; FOURNIER & CATELAND, 1971; BINK, 1973; 1975); à nouveau c'est la sélection qui fournit la solution pour lutter contre le développement de cette virose (CATELAND, 1971, 1973 et CATELAND & BINK, 1974).

Enfin il existe encore une virose du cotonnier : la maladie bleue. Elle fut signalée en 1949 mais c'est également dans les années 1970 qu'elle

connaît un important développement (CAUQUIL, 1977; DYCK, 1979). A nouveau la vection, la transmission et l'épidémiologie de cette maladie du cotonnier ont été bien étudiées (CAUQUIL & VAISSAYRE, 1971; VAISSAYRE, 1971a, 1971b; DENECHERE, 1981). De même que pour les autres maladies du cotonnier la méthode de lutte préconisée et mise au point fut la sélection de variétés résistantes (MAHAMA & CAUQUIL, 1976).

Il y a donc sur cotonnier plusieurs maladies virales qui peuvent connaître un développement important et de nombreuses études ont été faites en ce qui concerne la transmission, l'épidémiologie et la sélection de variétés tolérantes.

Maladies virales du cacaoyer

Un autre pôle important de la phytovirologie tropicale en Afrique concerne l'épopée de Cocoa swollen shoot virus (CSSV). Cette maladie fut la plus spectaculaire et la plus dévastatrice dans le monde puisque plus de 180 millions d'arbres (OWUSU, 1983) ont été éradiqués au Ghana, seul pays véritablement touché en Afrique (TRESH, 1958a). Cette maladie fut décrite au Ghana en 1936 par STEVEN puis en 1940 par POSNETTE, puis à nouveau en 1947 par POSNETTE. La recherche du vecteur commença en 1940 également (POSNETTE, 1941) mais la preuve de la vection du CSSV ne fut réellement apportée qu'en 1945 (BOX) et 1948 (POSNETTE & STRICKLAND). Ce sont les cochenilles qui sont vectrices de cette virose, ce qui la rend encore plus exceptionnelle, puisque actuellement seul le CSSV et des virus très proches (tous isolés sur cacao) sont transmis par ce type d'insecte. Toutes les tentatives faites avec d'autres maladies, se sont révélées négatives ou incertaines (ROIVAINEN, 1980). Le CSSV est encore exceptionnel par ses hôtes naturels qui sont des arbres indigènes de l'Afrique de l'Ouest, appartenant aux familles des Bombacaceæ, Sterculiaceæ, Tiliaceæ et Malvaceæ (POSNETTE et al., 1950; TINSLEY & WHARTON, 1958; ATTAFAUAH & TINSLEY, 1958).

A nouveau la transmission de cette maladie fut particulièrement bien étudiée, et ce, à tous points de vue et par de nombreux auteurs (ADEGBOLA, 1965; 1971; DALE, 1955a; 1957; 1958; IGWEGBE, 1966a; 1966b; LEGG & BONNEY, 1967; OKUSANYA, 1969; 1970; OWUSU, 1970; 1972; POSNETTE, 1950; POSNETTE & ROBERTSON 1950; ROIVAINEN, 1971; 1976). Bien sûr ces études de transmission furent souvent couplées avec des études épidémiologiques qui ont conduit à une campagne massive d'éradication (TRESH, 1958a; 1958b; OWUSU, 1983) et également à l'élaboration de programmes de sélection (BLENCOWE, 1962; BLENCOWE & ATTAFAUAH, 1959; KENTEN & LEGG, 1970; KENTEN & LOCKWOOD, 1977; LEGG & BONNEY, 1968; LEGG & LOCKWOOD, 1977; OWUSU, 1971b; POSNETTE & TODD, 1951).

La transmission mécanique de la maladie fut réussie et prouvée en 1960 par BRUNT & KENTEN et c'est en 1964 que BRUNT et al., obtinrent les

premières photographies de particules virales (BRUNT, 1970), ce qui à nouveau rend cette maladie exceptionnelle puisque c'est la première fois que l'on a pu "voir" un virus africain ! Sans compter que ce virus est à son tour exceptionnel puisque c'est le seul exemple connu ayant cette structure et cette vocation, et en conséquence il n'est pas classé !

Maladies virales du maïs

Une maladie virale connue depuis très longtemps en Afrique est le Maize streak virus. Elle fut décrite pour la première fois par FULLER en 1901. Mais c'est seulement en 1924 que STOREY en décrit le mode de transmission par *Cicadulina mbila* (Naude). Elle fut ensuite décrite à Maurice (SHEPHERD, 1925) au Ghana (Mc KINNEY, 1929) et en Rhodésie (HOPKINS, 1935; JACK, 1937). Plus récemment elle fut relatée au Nigeria (ESENAM, 1966) au Dahomey (LE CONTE, 1974) et en Côte d'Ivoire (FAUQUET & THOUVENEL, 1976). En fait cette maladie est omniprésente dans toute l'Afrique avec des degrés d'infestations différents. Il semblerait même que cette virose soit aussi présente aux Indes (SETH et al., 1971; 1972). Comme pour plusieurs autres maladies, c'est STOREY qui étudia, dans les plus petits détails, les modalités de transmission de cette virose (STOREY, 1924 - 1939).

Plusieurs méthodes de lutte ont été étudiées et préconisées comme le choix des dates de plantation ou l'éradication des plantes infestées ou encore des barrières de sol nu (GORTER 1951, 1953; STOREY, 1936) mais c'est finalement, une fois de plus, la sélection de variétés résistantes qui est fortement considérée (GORTER, 1959; ROSE, 1941; FIELDING, 1949; STOREY & HOWLAND, 1967), mais à nouveau on se heurte aux qualités agronomiques des variétés résistantes qui les rendent souvent inutilisables.

Maladies virales de l'arachide

La Rosette de l'arachide est une maladie virale typiquement Africaine et très spectaculaire. Elle fut décrite pour la première fois par ZIMMERMAN en 1907 puis par STOREY & BOTTOMLEY en 1928. Ce sont ces derniers auteurs qui montrèrent que cette virose est transmissible sur le mode persistant par *Aphis craccivora* (Koch). En fait il existe au moins deux types de Rosette, la Rosette chlorotique plus courante en Afrique de l'Est et la Rosette verte plus fréquente en Afrique de l'Ouest (PORTERES & LEGLEU, 1937; HAYES, 1932; SOYER, 1939). C'est encore STOREY & RYLAND (1955, 1957) qui ont réussi la transmission mécanique de la maladie, et qui ont pu mettre en évidence l'existence de plusieurs souches de virus dans une même plante. WATSON & OKUSANYA (1967) ont étudié les modalités de transmission de cette virose qui est en fait un complexe de deux virus (OKUSANYA & WATSON, 1966) et HULL & ADAMS (1968) ont prouvé qu'il existait bien un virus pour la Rosette de l'arachide et un virus "assistant" pour permettre la transmission de la Rosette par puceron. Une méthode de lutte reposant sur de fortes densités d'arachide a été testée avec succès (BOOKER, 1963; A'BROOK, 1964). Quant aux variétés résistantes, il faudra attendre 1975 pour disposer de

matériel végétal performant et résistant (GILLIER, 1978).

Il y a beaucoup d'autres maladies virales de l'arachide en Afrique mais paradoxalement il y eut peu de descriptions, on peut cependant relever la description du Groundnut ringspot virus (KLESSER, 1966) et du Groundnut vein banding virus (KLESSER, 1967), en Afrique du Sud. Les modes de transmission, les gammes d'hôtes et les symptômes ont été décrits mais il n'y a aucune information sur les agents pathogènes de ces maladies virales.

Par conséquent il y a eu, avant 1970, beaucoup de travail réalisé en Afrique Tropicale sur les maladies virales des plantes et sur leurs modes de transmission. Toutes ces études ont en commun la même succession d'actions de recherches : description des symptômes, étude souvent très poussée du ou des modes de transmission et enfin recherche de matériel résistant. Dans presque tous les cas des variétés ou des clones tolérants ont été sélectionnés mais avec beaucoup de défauts agronomiques qui les rendent peu utilisables directement (sauf dans le cas du coton).

Ces études ont toutes aussi en commun (sauf pour le CSSV) l'absence de description des virus eux-mêmes. Ceci est dû au manque d'équipement général des laboratoires de virologie et à l'absence de microscope électronique en Afrique. On peut aussi remarquer que toutes les maladies étudiées sont des viroses spectaculaires de par leurs symptômes et de par leur large diffusion sur le continent Africain, ayant très probablement un impact économique énorme.

A la question : où installer un nouveau programme de recherche en Phytovirologie? nous pouvons donc répondre que l'essentiel de l'activité avant 1968, si l'on excepte les études du CSSV, fut réalisé en Afrique de l'Est et en Afrique Centrale, il était donc logique de créer un tel laboratoire en Afrique de l'Ouest!

La Phytovirologie Africaine après 1970

A partir de 1970 les recherches en phytovirologie changent avec l'avènement de la microscopie électronique et la possibilité de purifier des virus dans des laboratoires bien équipés. Ces améliorations techniques ainsi que de meilleures connaissances générales sur les virus des plantes, vont permettre aux virologues de faire des progrès considérables dans plusieurs domaines.

On peut résumer l'essentiel de l'ensemble de l'activité phytovirologique menée dans la partie tropicale du continent africain, en disant qu'il y aura quatre pôles de recherche avec des moyens techniques et des approches différentes

- le Kenya avec les recherches de BOCK
- le Ghana avec les études de BRUNT et KENTEN
- le Nigéria avec le laboratoire de Phytovirologie de l'Université d'Ibadan et celui de l'IITA
- le laboratoire de Phytovirologie de l'ORSTOM en Côte d'Ivoire.

Bien sûr d'autres actions seront menées dans de nombreux pays, mais le but de ce travail étant de faire le point et de nous situer vis à vis des recherches faites ailleurs, nous parlerons uniquement de l'essentiel, ce qui ne retire rien à la qualité de ces recherches plus ponctuelles.

La Phytovirologie en Afrique de l'Est

Le Dr. BOCK au Kenya reprendra le laboratoire de Virologie créé par STOREY et, profitant de son expérience et du travail déjà réalisé pendant de nombreuses années, il apportera une énorme quantité de connaissances sur les viroses africaines :

- description du Maize streak virus (MSV), en 1974. Maladie typiquement Africaine, peut-être présente aux Indes, il s'agit du premier geminivirus décrit en Afrique (BOCK et al., 1974). BOCK a également décrit deux souches du MSV sur canne à sucre et *Panicum maximum*,
- description du Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV) sur vigna. Il s'agit d'un potyvirus transmis par les semences et par de nombreuses espèces de pucerons, sur le mode non persistant, qui infecte principalement les vigna et les haricots (BOCK, 1973). Ce virus a par ailleurs été décrit en Italie (LOVISOLO & CONTI, 1966),
- description du Peanut mottle virus (PnMV). C'est un potyvirus transmis par pucerons sur le mode non persistant ainsi que par les semences d'arachide, qui a été identifié sur arachide, soja et voandzeia, cette dernière souche étant quelque peu différente pour sa gamme d'hôtes et ses relations sérologiques. Le PnMV africain est sérologiquement indistinguable du PnMV américain (BOCK, 1973; BOCK et al., 1978),
- description du Sweet potato mild mottle virus (HOLLINGS et al., 1976). Il s'agit d'un virus typiquement africain qui a la grande particularité d'être un virus filamenteux de 950 nm de longueur transmis par Aleurode. C'est la seule identification connue d'un tel virus qui, pour le moment, n'est pas réellement considéré comme un potyvirus,

- description du Clitoria yellow vein virus (BOCK et al., 1977), qui est un tymovirus de légumineuse sérologiquement relié à d'autres tymovirus de légumineuses (KOENIG, 1976),
- description du Tephrosia symptomless virus (BOCK et al., 1981), qui pourrait être un tombusvirus étant donné le grand nombre de ses propriétés qui sont proches de celles des tombusvirus, en dehors de l'absence de relations sérologiques. Ce virus isolé de Tephrosia peut aussi infecter les haricots, le Voandzeia et le soja,
- description de l'African cassava mosaic virus (antérieurement le Cassava latent virus). Cette virose fut longtemps une énigme, mais c'est finalement BOCK qui réussit à la clarifier. Tout d'abord il purifia un géminivirus (le second en Afrique) qu'il dénomma Cassava latent virus, faute de pouvoir provoquer les symptômes caractéristiques de la Mosaïque Africaine du Manioc à partir de particules purifiées (BOCK et al., 1978). Mais dans la même année BOCK réussit à transmettre mécaniquement la maladie de manioc à manioc (BOCK et al., 1978) et il montre l'existence d'une souche Est et d'une souche Ouest du Cassava latent virus (BOCK et al., 1981). Finalement après de multiples essais, BOCK réussit à prouver que le Cassava latent virus est bien l'agent causal de la Mosaïque Africaine du Manioc (BOCK et al., 1983) et il ferme ainsi définitivement ce dossier.
- Parallèlement à ces recherches sur l'étiologie de la Mosaïque Africaine du Manioc, BOCK développe un programme d'épidémiologie sur cette même maladie. Il hérite de tous les travaux réalisés par STOREY, NICHOLS et JENNINGS, en Afrique de l'Est (voir plus haut) et surtout de tout le matériel végétal créé par ces chercheurs. BOCK mettra ainsi en évidence le rôle de l'homme comme vecteur de cette virose, aussi bien au cours de l'histoire (BOCK et al. 1981) que chaque année lorsqu'il replante ses champs (BOCK, 1980). Il montrera également l'importance des réservoirs, et surtout l'influence du niveau de résistance sur le développement de la maladie (BOCK & GUTHRIE, 1977; 1982; BOCK, 1983).

Par ailleurs il y a eu en Afrique de l'Est un très important programme d'épidémiologie portant sur le Maize streak virus et sur son vecteur *Cicadulina mbila*, où tous les aspects du problème ont été abordés (ROSE, 1962-1975).

La Phytovirologie au Ghana

Le second volet de la Phytovirologie en Afrique Tropicale depuis 1970 est le programme Anglais mené au Ghana, qui s'est exercé dans deux domaines.

1. la poursuite du programme CSSV avec les programmes de sélection : LEGG, 1979; LEGG & LOCKWOOD, 1981; LEGG et al., 1972; 1980; OWUSU, 1972; 1978.

2. l'identification d'autres maladies virales sur d'autres plantes et dans ce cas ce sont BRUNT & KENTEN qui oeuvreront le plus :

- identification du Pepper veinal mottle virus (BRUNT & KENTEN, 1971), qui est un potyvirus typiquement africain, transmis par plusieurs espèces de pucerons et qui peut infecter beaucoup de solanaceæ (FAUQUET & THOUVENEL, 1980) ;
- identification du Cacao necrosis virus (KENTEN, 1972) qui est le premier nepovirus isolé en Afrique, dont le vecteur n'a pu être découvert, et qui infecte le cacao au Sierra Leone ;
- identification du Cowpea mild mottle virus (BRUNT & KENTEN, 1973). Il s'agit d'un virus qui a beaucoup de propriétés des carlavirus mais qui est transmis par les mouches blanches et non pas par les pucerons (IWAKI et al., 1982). Ce virus a également été isolé aux Indes (Iizuka et al., 1983) et en Thaïlande (IWAKI et al., 1982) sur d'autres plantes que le Vigna (soja, arachide)(BOCK et al., 1981) et plus récemment BRUNT & PHILLIPS (1981) l'ont isolé de la tomate. D'après BRUNT et al. (1983), ce virus aurait également des particularités au niveau des inclusions cytoplasmiques qui le différencieraient encore plus des carlavirus.
- identification de l'Hibiscus latent ringspot virus (BRUNT et al. 1980). C'est vraisemblablement un nepovirus (le second en Afrique) mais, comme pour le Cacao necrosis virus, il n'a pas été possible de trouver le vecteur.

La participation des anglais pour la virologie des plantes en Afrique de l'Ouest fut donc extrêmement importante et elle a permis d'avancer considérablement dans le domaine de la connaissance de ces virus.

La Phytovirologie au Nigéria

Les recherches phytovirologiques réalisées au Nigeria depuis 1968 portent sur plusieurs points :

- identification de viroses
- études épidémiologiques
- programmes de sélection vis-à-vis de maladies virales

ces actions pouvant se faire simultanément dans le même institut. Il faut aussi noter que l'IITA s'est installé en 1971 au Nigeria et que le

laboratoire de Virologie a été installé en 1975.

Dans le domaine de l'identification virale il faut relever les points suivants :

- description du Cowpea mottle virus (CMeV) (SHOYINKA et al., 1978 ; BOZARTH & SHOYINKA, 1979 ; ALLEN et al., 1982). Il s'agit d'un nouveau virus africain qui est transmis par un coléoptère : *Ootheca mutabilis* et qui infecte les vigna,

- description du Cowpea yellow mosaic virus (CoMV). Ce virus fut en fait décrit avant 1970 (CHANT, 1959; BOCK, 1971) et de plus il n'est pas typiquement africain puisqu'il a été isolé, en outre, au Surinam, à Trinidad et aux USA (VAN KAMMEN & DE JAGER, 1978). Mais c'est un virus particulièrement répandu au Nigeria où il cause de très graves dégâts. C'est un comovirus transmis par de nombreuses espèces de coléoptères et par la semence (VAN KAMMEN & DE JAGER, 1978),

- description de l'Okra mosaic virus (OMV). Il s'agit d'un tymovirus africain précédemment décrit en Côte d'Ivoire (GIVORD & KOENIG, 1974) et qui a été isolé au Nigeria de plusieurs malvaceæ et de l'arachide (LANA et al., 1974; 1978 ; LANA & TAYLOR, 1976; LANA & BOZARTH, 1975; BOZART et al., 1976),

- description du Rice yellow mottle virus (RYMV). Il s'agit d'un sobemovirus africain, transmis par plusieurs espèces de coléoptères qui fut isolé pour la première fois en 1974 au Kenya (BAKKER) puis en Côte d'Ivoire en 1976 (FAUQUET & THOUVENEL, 1977; 1978). Il a été isolé dans plusieurs endroits du Nigeria (ROSSEL et al., 1982) et un programme de sélection est en cours (ATTERE & FATOKUN, 1983),

- description de Cowpea golden mosaic virus (CGMV). Selon THOTTAPPILLY (1983) il s'agirait d'un géminivirus africain transmis par mouche blanche. Il y a peu de renseignements sur le virus lui-même, mais une étude épidémiologique a été réalisée (ANNO-NYAKO et al., 1983 ; VETTEN & ALLEN, 1983),

- description du Lima bean golden mosaic virus (LGMV). C'est également un virus transmis par aleurodes et infectant le *Phaseolus lunatus* (WILLIAMS, 1976) pour lequel il n'y a aucun renseignement en dehors de la transmission et d'une étude épidémiologique comparative (VETTEN & ALLEN, 1983),

- description d'un complexe viral sur la patate douce. SCHAEFERS & TERRY ont décrit en 1970 un complexe viral sur *Ipomea batatas* composé d'un potyvirus transmis par puceron et d'un virus, de nature imprécise, transmis par mouche blanche. Lorsque les deux virus sont séparés, ils sont pratiquement latents et lorsqu'ils infectent la même plante, ils provoquent de forts symptômes de nanisme,

éclaircissement des nervures et chlorose. Bien qu'ayant peu de renseignements sur ces virus il est intéressant de noter leur existence au Nigeria ;

- description du Maize mottle chlorotic stunt (MMCSV) par ROSSEL (1979 ; 1980) et par ROSSEL & THOTTAPPILLY (1983). Il s'agit d'un virus isométrique de 40 nm de diamètre qui est transmissible par *Cicadulina triangulata* Storey. En fait il n'est pas impossible que ce virus ait été décrit au Kenya par STOREY en 1937.

En dehors de ce travail d'inventaire il y a eu au Nigeria des programmes importants de sélection qui ont porté sur 4 points différents :

- Le manioc : un important programme de sélection de clones de manioc résistants à la Mosaïque Africaine du Manioc a été initié à l'IITA en 1972. Le matériel de base pour les croisements fut un des clones issu des croisements réalisés en Afrique de l'Est (5318/34). Celui-ci fut à nouveau croisé avec des clones sud-américains pour lui redonner de meilleurs caractères agronomiques. Ce programme a donc abouti à la création d'une collection comprenant de nombreux clones plus ou moins tolérants vis à vis de la Mosaïque Africaine du Manioc (HAHN), 1978; HAHN et al., 1980a; 1980b).

- Le maïs : un programme de sélection de variétés résistantes au Maïs streak virus, a été entrepris par l'IITA et ce programme a débouché sur la création de variétés tolérantes à hauts rendements, qui ont été testées dans de nombreux pays africains (SOTO et al., 1982).

- Les légumineuses : l'IITA compte également parmi ses programmes prioritaires les légumineuses alimentaires et plusieurs programmes ont été élaborés et sont actuellement en cours, en vue d'une sélection contre un complexe viral : Cucumber mosaic virus - Cowpea aphid-borne mosaic - Cowpea mosaic virus et Cowpea mottle virus (Anon., 1978; 1982).

- Le riz : à la suite d'un rapport alarmiste de la WARDA (West African Rice Development Association) l'IITA a décidé de monter un programme de sélection variétale vis à vis du RYMV, qui aurait produit en 1982 des variétés tolérantes (Anon., 1978; 1982).

Les différents programmes de recherche et descriptions de virus que nous avons cités pour le Nigeria ne représentent pas la totalité de l'activité phytovirologique de ce pays depuis 1970, mais l'essentiel de ce qui a été fait. Il faut remarquer le rôle prépondérant de l'IITA dans le domaine de la sélection variétale contre toutes les viroses. Ce moyen de lutte est exclusivement considéré, par cet institut, comme la seule possibilité de lutter contre les virus de plantes.

La Phytovirologie en Côte d'Ivoire

Nous avons vu qu'elles étaient les raisons qui avaient poussé l'ORSTOM à mettre en œuvre un programme de recherche sur la virologie des plantes et nous avons vu les raisons du choix de son implantation. A l'ultime question : dans quel but créer ce programme ? Nous pouvons répondre que le but final est d'élaborer les moyens de lutte contre les viroses des plantes. Pour cela, et préalablement, il faut savoir quelles sont les maladies présentes, leur importance, leurs modes de transmission et également leur épidémiologie. Dans le cas des virus de plantes les relations entre la biologie et la biochimie sont extrêmement étroites. Si l'on caractérise parfaitement les particules virales on pourra prévoir les modes de transmission qu'il suffira de confirmer dans la nature. Par ailleurs le premier problème avec les maladies virales est le diagnostic de ces maladies. Les symptômes sont souvent identiques d'un virus à un autre sur une même plante, ou au contraire la variabilité entre souches est telle que l'on pourrait croire qu'il s'agisse de deux virus différents. Le diagnostic le plus fiable est le diagnostic sérologique qui à nouveau repose le problème de la détermination des virus concernés et la mise au point des tests sérologiques les plus appropriés.

Par conséquent il est indispensable avant tout de faire un inventaire, le plus complet possible, de toutes les maladies virales sévissant dans un milieu écologique donné. Mais il est indispensable d'identifier et de caractériser le plus possible les virus en cause, que ce soit au niveau biochimique, structural ou biologique, afin d'élaborer des tests de diagnostic sûrs, et afin de connaître tous les modes de transmission de ces virus.

Un programme d'inventaire des maladies virales des plantes a donc été mis en place en 1968, par l'ORSTOM en Côte d'Ivoire, auquel tous les chercheurs affectés à ce laboratoire ont contribué. Le fascicule intitulé :

"Maladies Virales des Plantes de Côte d'Ivoire"

qui est la troisième version bilingue de cet inventaire, présente donc la totalité des résultats obtenus dans ce laboratoire, jusqu'en 1985.

Par contre tous les articles réunis ici concernent les études auxquelles mon collègue J-C. THOUVENEL et moi-même avons contribué directement.

Nous présenterons la population virale de Côte d'Ivoire, sous trois aspects différents :

- tout d'abord de façon thématique,
- ensuite par l'inventaire des maladies virales,
- enfin selon leur structure.

Dans la première partie nous présenterons les virus de Côte d'Ivoire (ou d'Afrique) selon différents thèmes comme :

- la vection :
 - . vecteurs des virus de Côte d'Ivoire
 - . vecteurs transmis par aleurode en Afrique

- la structure :
 - . les virus filamenteux en Afrique
 - . les potyvirus de Côte d'Ivoire

- la plante
 - . les virus de l'arachide
 - . les virus de l'igname
 - . les virus du maïs
 - . les virus des plantes maraichères
 - . les viroses du pois ailé.

Si l'on pense que la présentation précédente est une présentation horizontale, on peut penser que la seconde partie est une présentation verticale des maladies à virus, puisque nous décrivons les maladies virales des plantes de Côte d'Ivoire. Ce chapitre étant exclusivement constitué par le livre bilingue dont le titre est :

"Les Maladies Virales des Plantes de Côte d'Ivoire"

qui sera édité par l'ORSTOM en 1986.

Enfin la troisième partie comprend la description précise de quelques virus de Côte d'Ivoire, que nous avons isolés, identifiés et étudiés au laboratoire. Nous n'avons présenté ici que les travaux publiés ou en cours de publication en omettant les descriptions virales qui sont en cours de préparation dont la liste est donnée à la fin de ce mémoire.

Tout ce volume concerne la description des maladies virales de Côte d'Ivoire, sous divers aspects, mais n'inclut pas tout le travail épidémiologique qui a été réalisé sur le Rice yellow mottle virus (en cours de rédaction), ni le programme sur l'African Cassava Mosaic Virus (FAUQUET et al., 1983; 1986a-d; FARGETTE et al., 1985; 1986a-g).

1.2

**DESCRIPTION THEMATIQUE
DES
PHYTOVIRUS DE COTE D'IVOIRE**

1.2.1. INTRODUCTION

Dans cette présentation thématique des virus de Côte d'Ivoire nous avons retenu quelques thèmes importants. Tout d'abord la vection des virus africains, ce qui parmi les propriétés biologiques reste le point essentiel pour lutter contre ces maladies, et ce qui déterminera leur mode de diffusion dans la nature. Dans un article intitulé:

"Transmission par insectes des maladies virales de plantes en Afrique tropicale"

nous faisons une revue des modes de vection des maladies transmises par chaque type de vecteur et nous comparons la situation africaine par rapport à la situation mondiale. Parmi les vecteurs les plus importants en Afrique, les Aleurodes ont une place de choix, c'est pourquoi nous avons présenté une revue des viroses transmises par mouches blanches en Afrique:

"Whitefly transmitted viruses in Africa."

Un autre thème important concerne la structure des particules virales. Parmi tous les virus identifiés et plus particulièrement en Afrique de l'Ouest, les virus de type filamenteux sont très fréquents. C'est pourquoi nous avons consacré deux articles à la description de ces virus : le premier :

"Diseases Caused by Filamentous Viruses : The Top Ten in Africa"

présente l'ensemble des virus filamenteux en Afrique avec les différents groupes qui y sont présents et leurs modes de vection. Le second :

"Influence des Potyvirus sur les Cultures Vivrières Tropicales en Afrique de l'Ouest"

traite des membres du groupe des potyvirus que l'on a isolés en Côte d'Ivoire, en les comparant les uns aux autres, à tous les niveaux accessibles dans notre laboratoire : gamme d'hôte, transmission, structure, biochimie et sérologie.

Enfin nous avons consacré plusieurs articles à des revues des viroses présentes en Côte d'Ivoire sur les plantes les plus importantes dans ce pays et nous verrons successivement :

- les viroses de l'arachide
- les viroses de l'igname
- les viroses du maïs
- les viroses des plantes maraîchères
- et les viroses du pois ailé.

1.2.2. VECTEURS DES PHYTOVIRUS EN AFRIQUE TROPICALE

Transmission par insectes des maladies virales de plantes en Afrique tropicale

par Christian FAUQUET & Jean-Claude THOUVENEL

Le programme du Laboratoire de Virologie des Plantes de l'ORSTOM en Abidjan est: Inventaire des maladies virales des plantes cultivées en Côte d'Ivoire. Par inventaire nous entendons identification et caractérisation des virus et aussi définition de leurs modes de transmission. Parmi ces modes de transmission nous pouvons avoir une transmission mécanique, de plante à plante, une transmission végétative par les boutures, une transmission par la graine ou encore une transmission par un vecteur qui peut être un Nématode, un Champignon du sol ou bien sûr un Insecte. Un des buts de notre travail est d'évaluer l'importance de ces modes de transmission les uns par rapport aux autres pour déterminer où l'on peut et où l'on doit agir préférentiellement. Nous verrons successivement les différents types d'Insectes vecteurs des viroses de plantes de l'Afrique tropicale, leur spécificité par rapport au virus et à la plante, leur répartition géographique et leur importance par rapport aux autres modes de transmission.

I. — LES DIFFÉRENTS TYPES DE VECTEURS. — Si l'on considère la liste exhaustive des familles de vecteurs de virus de plantes, toutes ne sont pas représentées en Afrique tropicale, mais si l'on considère les 6 familles les plus importantes par le nombre de vecteurs, elles sont toutes présentes dans cette partie du monde.

Pour le moment il a été décrit en Afrique tropicale environ 56 maladies virales (ou suspectées virales) transmises par Insectes. Ce chiffre est relativement petit par rapport aux quelque 400 maladies décrites à travers le monde. La proportion de ces maladies transmises par les différentes catégories d'Insectes est à peu près la même en Afrique tropicale que dans les autres parties du monde, sauf pour deux familles: les Cicadellidae, qui ne véhiculent que 4% des maladies au lieu de 19% et pour les Chrysomelidae qui au contraire sont vectrices de 20% des maladies virales africaines, au lieu de 9% (fig. 1).

VECTION DES MALADIES VIRALES		
	% général	% Afrique tropicale
Aphididae	41	40
Pseudococcidae	1	2
Aleyrodidae	18	20
Cicadellidae	19	4
Delphacidae	3	2
Chrysomelidae	9	20
Divers ou inconnu	9	10
	400 maladies	56 maladies

Figure 1

II. — VECTIONS.

VECTIONS PAR APHIDIDAE. — Les Aphides, en Afrique tropicale, sont vecteurs de 40% des maladies décrites à ce jour, soit environ 23 maladies différentes

qui couvrent tout le spectre des cultures tropicales : Légumineuses, Solanaceae, Dioscoreaceae, Gramineae, Cucurbitaceae et Passifloraceae...

Toutes les maladies, sauf une, sont transmises sur le mode non persistant, l'exception étant la Rosette de l'Arachide, à l'agent causal encore inconnu mais suspecté être un luteovirus.

Parmi les virus transmis sur le mode non-persistant (fig. 2), tous les types ne sont pas représentés, il n'y a que les Closterovirus, les Cucumovirus et les Potyvirus. Les Closterovirus ne sont représentés que par le virus de la tristezza qui est très largement répandu sur les *Citrus* de l'Afrique tropicale. Le virus de la Mosaïque du Concombre (Cucumovirus) est également largement

PRINCIPALES FAMILLES D'INSECTES VECTEURS ET TYPES DE VIRUS TRANSMIS

		Présence en Afrique tropicale
Aphididae	— Mode non persistant	
	Closterovirus	+
	Potyvirus	+
	Carlavirus	--
	Caulimovirus	+
	Cucumovirus	+
	AMV-Group	--
	— Mode persistant	
	Luteovirus	+ ?
	Rhabdovirus	--
PEMV-Group	--	
Pseudococcidae	Bullel-Shape	+
	inconnus	--
Aleyrodidae	filamenteux	+
	« Carlavirus »	+
	Geminivirus	+
	isométriques	--
	inconnus	+
Cicadellidae	Reovirus	--
	Geminivirus	+
	Rhabdovirus	--
	isométriques	--
Delphacidae	Reovirus	--
	Rhabdovirus	+
Chrysomelidae	Comovirus	+
	Bromovirus	--
	Tymovirus	+
	SBMV-Group	--
	isométriques	+

Figure 2

répandu mais essentiellement sur Légumineuses (Vigna, Soja, Haricot, Psophocarpus...) où 100 % des plantes peuvent être infectées alors que sur Cucurbitacées il est occasionnel.

Enfin, le groupe de virus le plus important et qui soit transmis par Puceron est bien sûr le groupe des potyvirus, avec 21 maladies différentes qui sont toutes transmises par Puceron sauf une, la Mosaïque du Panicum.

L'importance de la fréquence de ces maladies est éminemment variable, mais dans l'ensemble les dégâts sont peu importants sur une plante donnée, mais la fréquence est telle que l'on peut considérer que ce groupe de virus est une contrainte constante et sur presque toutes les cultures tropicales.

L'exemple type de potyvirus est la Panachure du Piment (PVMV) qui en Afrique tropicale remplace le virus Y de la Pomme de Terre des régions tempérées. On peut le trouver sur presque toutes les Solanacées cultivées, quels que soient l'endroit et le moment de l'année considérés.

Un autre exemple type de potyvirus africain est le virus de la Mosaïque de l'Igname, qui infecte dans une forte proportion toutes les Dioscoreacées cultivées : *Dioscorea alata*, *D. cayenensis*, *D. bulbifera*, *D. dumetorum*, *D. esculenta* et *D. trifida*. Ce virus est également transmis par les semenceaux mais il a été démontré que la transmission par Puceron est très importante sur plantules d'Igname saines, même si l'on ne trouve jamais de colonies de Pucerons sur cette plante.

En ce qui concerne les vecteurs, le nombre d'espèces de Pucerons que l'on peut rencontrer sur les plantes cultivées est relativement restreint :

Toxoptera citricidus (Kirk) : Puceron très fréquent sur les *Citrus* et qui est le vecteur de la tristezza. Ce Puceron se rencontre dans toutes les régions où se cultive le *Citrus* mais surtout dans les régions tropicales.

Rhopalosiphum maidis (Fitsch) : il est extrêmement fréquent sur Maïs dans le monde entier et c'est le seul Puceron que l'on trouve sur cette plante en région tropicale. Il est le vecteur du virus de la Mosaïque de la Canne à sucre, du virus de la Mosaïque du Mil et de celui de la Mosaïque du Maïs.

Aphis craccivora Koch : on peut trouver des colonies de cette espèce sur Arachide dans toutes les zones climatiques. C'est le vecteur de la Rosette de l'Arachide mais aussi le virus des taches ocellées de l'Arachide, qui est extrêmement répandu.

Aphis gossypii Glover : ce Puceron est très largement répandu dans le monde mais en Afrique de l'Ouest on ne trouve des colonies que sur le Coton et sur quelques Légumineuses. Ce Puceron n'est pas le vecteur d'un virus particulier mais il peut transmettre tous les potyvirus et les cucumovirus sur toutes les plantes.

Aphis citricola van der Goot : Ce Puceron est très largement répandu et en particulier il colonise une Composée adventice, *Europatorium odoratum*, que l'on trouve partout en Afrique de l'Ouest et qui est une source de Pucerons autour des cultures. La transmission du virus de la Passiflore est assurée essentiellement par ce Puceron.

Hysteroiceta setariae (Rond.) : ce Puceron se rencontre occasionnellement sur Sorgho ou sur Riz, mais c'est surtout le Puceron de petites Graminées comme *Setaria italica*. Il est capable de transmettre les potyvirus des Graminées.

Comme pour les autres potyvirus il n'y a pas de spécificité entre le virus et le vecteur mais seulement une spécificité entre le vecteur et la plante-hôte. C'est cette dernière relation qui détermine la dissémination d'un virus. C'est ce qui explique que l'on trouve fréquemment le virus du Concombre sur Légumineuse et rarement sur Cucurbitacée.

VECTIONS PAR PSEUDOCOCCIDAE. — Peu de maladies virales ou suspectées virales sont transmises par Cochenilles et la seule transmission qui soit absolument certaine est celle du virus du gonflement des tiges du Cacao, en Afrique de l'Ouest. Bien que les Cochenilles soient présentes dans toutes les parties du

monde, le nombre d'espèces est bien plus grand dans les régions tropicales. Il n'y a pas de spécificité entre ce virus du Cacao et un vecteur puisqu'au moins 18 espèces différentes peuvent le transmettre. Cette maladie est extrêmement répandue dans toutes les régions où l'on cultive du Cacao.

VECTIONS PAR ALEYRODIDAE. — Deuxième type de vection par ordre d'importance numérique de maladies transmises en Afrique tropicale. Seulement 3 espèces d'Aleurodes sont vectrices sur les 1156 connues. La majorité des maladies virales transmises par mouche blanche se situent en zone tropicale. On peut donc estimer qu'il s'agit là d'un mode de vection caractéristique des régions chaudes. En Afrique tropicale une seule espèce, *Bemisia tabaci*, est vectrice de maladies. Une autre caractéristique des maladies de plantes transmises par *B. tabaci* est la grande proportion de maladies dont l'agent causal est inconnu, ceci étant dû à deux raisons, la première est l'impossibilité (dans la grande majorité des cas) de transmettre mécaniquement les maladies et la seconde est la grande difficulté de manipuler ce vecteur qui est petit, fragile et qui s'adapte à certains hôtes.

Sur 11 maladies décrites, seulement 7 sont connues quant à la nature de l'agent causal, de plus un certain nombre de maladies sont suspectées transmises par Aleurodes sans certitude.

Parmi les différents types de virus transmis par Aleurodes presque tous sont présents en Afrique tropicale (fig. 2).

Les Virus filamenteux. — Deux virus filamenteux isolés sur Patate douce sont transmissibles par *Bemisia tabaci*. Ces virus de 900 nm sont plus longs que des potyvirus et sont donc pour le moment non classés.

Les « Carlavirus ». — Ces virus filamenteux courts (600 nm) infectent les Légumineuses mais au lieu d'être transmis par Puceron comme les véritables carlavirus, ils sont transmis par Aleurodes. Ces virus sont extrêmement répandus dans différentes régions et très fréquents sur ces plantes-hôtes.

Les Geminivirus. — En fait, un seul geminivirus est transmis par Aleurodes en Afrique tropicale, il s'agit du Cassava Latent Virus qui pourrait être l'agent causal de la Mosaïque du Manioc. Cette maladie est extrêmement répandue sur tout le continent africain partout où l'on cultive le Manioc et étant donné que cette culture est la première culture d'Afrique et que les pertes dues à cette maladie sont très importantes, on peut dire qu'il s'agit de la virose la plus importante d'Afrique.

Maladies inconnues. — Parmi les maladies des plantes transmises par Aleurodes et dont l'agent causal est inconnu, il faut citer la Mosaïque du Cotonnier, le leaf-curl du Gombo et du Coton et surtout le leaf-curl jaune de la tomate. De nombreuses cultures de Tomates de la région sahélienne ou sub-sahélienne (Sénégal, Soudan...) sont atteintes par cette virose qui cause donc un préjudice important à cette culture.

VECTIONS PAR CICADELLIDAE. — Contrairement au reste du monde, le nombre de viroses transmises par Cicadelles est très faible en Afrique puisqu'une seule maladie est connue à ce jour, il s'agit de la striure du Maïs. Cette maladie est présente, à des taux variables, dans toute la zone tropicale, elle peut atteindre 100 % des plants de Maïs et être très grave pour la récolte. Cette

maladie due à un geminivirus est transmise par *Cicadulina mbila* et par *Cicadulina bipunctata* qui sont des espèces strictement africaines.

VECTIONS PAR DELPHACIDAE. — Avec 2% de maladies transmises par Delphacide, le pourcentage est comparable à celui du reste du monde. En fait, il s'agit d'une maladie qui a déjà été isolée dans différentes parties du globe : la Mosaïque du Maïs qui est un rhabdovirus transmis par *Peregrinus maidis*. Cette maladie est importante pour la plante malade mais la fréquence est encore faible.

VECTIONS PAR CHRYSOMELIDAE. — A l'inverse de la situation des vections par Cicadellidae, le pourcentage de vection par Chrysomelidae est plus important en Afrique (19%) que la moyenne (9%).

Presque tous les groupes de virus transmis par Chrysomélides sont représentés en Afrique à l'exception des bromovirus. Cinq tymovirus, 1 comovirus, 1 virus de SBMV group et 5 virus non encore classés sont transmis par Coléoptères.

Dans l'ensemble ces maladies sont occasionnelles, sauf la Mosaïque du Gombo transmise par *Podagrica* sp. qui fait des colonies sur cette Malvacée et la Mosaïque jaune du Vigna transmise par *Ootheca mutabilis* (Sahlb.) qui est une espèce typiquement africaine inféodée aux Légumineuses.

Dans le cas du virus de la Panachure jaune du Riz, qui est endémique dans toute la zone tropicale, les vecteurs (13 espèces différentes) jouent un rôle important dans la mesure où ils apportent dans la rizière le virus qui, ensuite, peut se propager de plante à plante par contact ou bien par l'eau de la rizière. Donc dans ce cas, même si les populations de vecteur sont faibles et celui-ci peu efficace, il peut néanmoins y avoir diffusion rapide de la maladie.

III. — EPIDÉMOLOGIE DE LA MOSAÏQUE AFRICAINE DU MANIOC. — Etant donné l'importance de cette culture et de cette maladie, nous avons entrepris l'étude de son épidémiologie en vue de déterminer quelle était l'importance relative des deux voies de transmission qui sont :

- transmission par les boutures,
- transmission par les Aleurodes.

Pour ce faire nous avons donc sélectionné et multiplié du matériel végétal indemne de symptômes de mosaïque puis nous observons comment se fait la recontamination de ces boutures en fonction du lieu, de la variété et du moment de plantation.

Les premières conclusions sont :

- que le choix des boutures est primordial pour obtenir une culture saine au départ ;
- que la réinfestation est proportionnelle à la pluviométrie du lieu ;
- que pour un lieu donné il y a de très grosses variations variétales, 10 à 100% ;
- que pour un lieu donné il y a une variation du taux de recontamination en fonction du moment de plantation, donc en fonction du régime pluviométrique ;
- que le voisinage de plantes malades augmente la réinfestation de plantes saines.

Par conséquent en jouant sur tous ces facteurs il est envisageable de faire des cultures saines au moins pendant un temps assez long et donc d'augmenter considérablement la production de Manioc.

CONCLUSION. — Le nombre de viroses de plantes connues en Afrique tropicale est encore trop réduit pour avoir une opinion générale quant à la transmission par les Insectes de ces maladies. Toutefois, dès à présent, on peut dire que les principaux groupes de vecteurs du monde sont présents sur ce continent, certainement avec des importances relatives différentes. Les Pucerons sont, comme partout, les vecteurs majoritaires pour le nombre de maladies transmises mais aussi pour le nombre de plantes infectées. Les maladies transmises par mouche blanche, qui sont caractéristiques des régions tropicales, sont très importantes sur le continent africain, bien qu'elles soient encore mal connues. La Mosaïque africaine du Manioc qui en est l'exemple type commence à être étudiée du point de vue épidémiologique et les premiers résultats laissent penser que cette maladie n'est pas inéluctable.

REFERENCES

- FAOUT (C.) & THOUVENI (J.C.), 1980. — Maladies virales des plantes cultivées en Côte d'Ivoire. ORSTOM. Initiations et Documents Techniques, n° 46, 128 p.
- HARRIS (K.F.) & MARAMOROSCH (K.), 1977. — Aphids as virus vectors. Academic Press, 559 p.
- 1980. — Vectors of Plant Pathogens. Academic Press, 467 p.
- MARAMOROSCH (K.) & HARRIS (K.F.), 1979. — Leafhopper vectors and Plant Disease Agents. Academic Press, 654 p.

(ORSTOM, B.P. 51, Abidjan, Côte d'Ivoire)

1.2.3. VIRUS TRANSMIS PAR ALEURODES EN AFRIQUE

WHITEFLY TRANSMITTED VIRUSES IN AFRICA

C. FAUQUET & J.C. THOUVENEL
ORSTOM, ABIDJAN, Côte d'Ivoire

Communication au IVème Congrès International de Phytopathologie
du 17-24 août 1983, à MELBOURNE, AUSTRALIE.

The virus diseases affecting plants and transmitted by Aleurodidæ are mostly centred in the tropical areas of the world (BIRD & MARAMOROSCH, 1975; 1978; BIRD & SANCHEZ, 1971; NENE, 1972 ; PAL & TANDON , 1937 ; THUNG, 1932) and the majority of their descriptions comes from India (MUNIYAPPA, 1980). Nevertheless Africa is not an exception and many whitefly transmitted diseases are now well identified in this continent (FAUQUET & THOUVENEL, 1980a).

We will speak mostly of the central tropical part of Africa, excluding the Northern and the Southern parts of this continent, because of their very different climatic conditions.

Though being not as numerous as those transmitted by aphid (FAUQUET & THOUVENEL, 1980), the whitefly transmitted diseases are anyhow very frequent and present very spectacular symptoms. They form the first virological factor limiting food crops in Africa.

Whitefly transmitted viral diseases in Africa infect plants as different as : leguminosæ, solanaceæ, malvaceæ, convolvulaceæ or euphorbiaceæ.

Concerning the aleurodidæ, *Bemisia tabaci* is the most well known whitefly vector in Africa.

All whitefly transmitted virus diseases in Africa, but one, are transmitted only by this vector species ; in their great majority they are not seed transmitted and on the whole it is very uneasy to transmit them mechanically and consequently to realize virological studies. This accounts for the important lack of information concerning their causal agent, in the majority of those diseases.

We shall review successively the diseases whose causal agent is unknown, then the diseases caused by a filamentous virus over 700 nm in length, then those caused by a filamentous virus of 650 nm in length, and in the end the diseases caused by a geminivirus.

I. WHITEFLY TRANSMITTED DISEASES WITH UNKNOWN CAUSAL AGENT

Very numerous viral plant diseases transmitted by whiteflies are already known but we shall study here only the diseases affecting cultivated plants.

TOBACCO LEAF-CURL DISEASE

This name concerns in fact several diseases : 3, 4 and even 5 according to the authors, all of them being transmitted by Aleurodidæ. Those diseases are present in the three continents : America, Africa, and Asia.

Numerous studies were made between the years 1930 and 1950 and the disease could be transmitted to 63 different species of plants by at least three different species of whiteflies. Several reservoir plants are known and a control method consists in their eradication from the fields.

These diseases are highly present in African tobacco fields (STOREY, 1931, 1932, 1935; WEST, 1936; 1940) and have consequently a real impact on the production. Several authors have described viruses purified from plants with symptoms such as : spherical viruses, 40 and 30 nm in diameter, geminiviruses and also a filamentous virus of 1140 nm is length. Consequently, up to now, no specific symptom can be imputed to any specific causal agent.

Sanitation of the former fields as well as cultural techniques have been recommended and have caused a certain result in Nigeria.

A specific strain of tobacco leaf-curl virus infects tomatoes in India and in Sudan, causing a very high crop loss : Tomato leaf-curl disease. YASSIN & ABUSALIH (1972) made an important work in Sudan studying epidemiology as well as control methods.

Several reservoir plants were discovered and it is possible to stop the spreading of the disease by using adapted cultural techniques : insecticides, mulching, intercropping plants... and resistant varieties (YASSIN, 1975).

OKRA LEAF-CURL DISEASE

In quite the whole of West African okra fields, very specific downwards curling symptoms and "bat-wing symptoms" can be observed.

This disease whose causal agent is unknown but suspected to be a geminivirus is transmitted by *B. tabaci* and is different from tobacco leaf-curl as well as from cotton leaf-curl. It is present in India (VARMA, 1962), and also transmissible to *Hibiscus rosasinensis* (MUKHERJEE & RAYCHAUDHURI, 1964).

Some okra varieties appear to be resistant to this viral disease.

COTTON LEAF-CURL DISEASE

This typically African disease was up to 1965 the major cause limiting cotton production in a great part of Africa (JONES & MASON, 1926 ; GOLDING, 1930 ; KIRKPATRICK, 1930a, 1931). Consequently its etiology and epidemiology were completely studied, but no causal agent was yet determined. The disease was successfully transmitted to numerous host plants by *B. gossyperda* (TARR, 1955, 1957b; NOUR & NOUR, 1964; EL NUR & ABUSALIH, 1970; KIRKPATRICK, 1931; COWLAND, 1934). It could be eradicated by using resistant cotton varieties (HUTCHINSON et al., 1950; LAGIERE, 1968; SIDDIQ, 1968).

COTTON MOSAIC DISEASE

The cotton mosaic disease is another African viral disease whose causal agent is unknown but supposed to be a geminivirus.

The disease was recently described in 1968 (BRADER & ATGER, 1971), (BINK, 1973, 1975), and it was possible to show that it is different from cotton leaf-curl and from okra leaf-curl. It may be transmitted by only one species of whitefly : *B. tabaci*, over 40 species tested (LOURENS et al., 1972).

It was possible to control the disease by the use of tolerant varieties (CATELAND & BINK, 1974) and by technical agricultural methods .

LIMA-BEAN GOLDEN DISEASE

Recently described in Nigeria by the IITA virologists (WILLIAMS, 1976) the disease might be caused by a geminivirus and it is different from Cowpea Golden Mosaic Virus (see later on).

A similar disease was already described in India (CAPOOR & WARMA, 1948) and Brazil (BIRD et al., 1972) but no one knows if it is the same virus or not.

AFRICAN SOYBEAN DWARF DISEASE

Another new disease has just been described in Nigeria too (THOTTAPILLY, 1983) : Soybean dwarf whose symptoms are quite similar to the ones described in Japan (TAMADA & KOJIMA, 1977) but transmitted by whitefly instead of aphid. Its causal agent remains unknown, as well as the economical impact of the disease.

II. LONG FILAMENTOUS VIRUSES TRANSMITTED BY WHITEFLIES

SWEET POTATO MILD MOTTLE VIRUS

Up to now, this virus was described only in Kenya, (HOLLINGS & BOCK, 1976). We know nothing of its economical impact. It is a filamentous, mechanically transmissible virus, about 950 nm in length, which is classified as a tentative member of the potyvirus group.

SWEET POTATO VIRUS COMPLEX

SCHAEFFERS & TERRY (1976) in Nigeria are now studying a disease affecting sweet potato that is in fact a complex between a filamentous virus (probably a potyvirus) transmitted non persistently by aphids and also a probably filamentous virus transmitted by Aleurodidæ.

III. 650 NM LONG VIRUSES WHITEFLY TRANSMITTED

In 1982, IWAKI proved that the Cowpea mild mottle virus isolated on soybean in Thailand, and which is also present in Africa and India, was semi-persistently whitefly transmitted.

COWPEA MILD MOTTLE VIRUS

The virus is very widely spread in Africa, from Nairobi to Dakar.

Moreover it was isolated on Cowpea (BRUNT & KENTEN, 1974), Soybean (FAUQUET & THOUVENEL, 1980), Groundnut (BOCK et al., 1975) and even Tomato (BRUNT et al., 1981).

It is seed-borne on soybean in a high percentage (20-30%). The symptoms observed on those various plants are mild and mottled but nevertheless the virus causes a severe damage because of its wide spreading. The frequency of infected plants reaches almost 100 %.

VOANDZEIA MOSAIC VIRUS

The virus is serologically related to CMMV and its host range is strictly limited to Bambarra groundnut (*Voandzeia subterranea*) (FAUQUET & THOUVENEL, 1980) : it is seed-transmissible in a very high proportion : up to 25 %. It is widely spread in the Ivory Coast and has an obvious economical impact on *Voandzeia* crop. This impact may anyhow be easily limited by selecting free seeds.

GROUNDNUT CRINKLE VIRUS

Similar in morphology to the viruses reviewed before and also

serologically related to CMMV. This virus is not seed-borne in groundnuts. It is very widely spread in West Africa (DUBERN & DOLLET, 1981).

PSOPHOCARPUS NECROTIC MOSAIC VIRUS

Very similar to the previous ones, in shape and transmission mode, but not seed-borne, and with a very limited host-range.

It is not widespread and was observed only on *Psophocarpus tetragonolobus* with a low percentage and occasionally on groundnut crops (FAUQUET et al., 1979).

CASSAVA BROWN STREAK VIRUS

It is also a filamentous virus, 650 nm in length, causing bright symptoms on old cassava leaves, in Kenya, and having but a small economical impact. Several strains of the virus can be distinguished only on Tobacco (*Nicotiana glauca*). No seed transmission was related and several selection breedings were intended in the past (NICHOLS 1947, 1950 ; BOCK, 1980).

All those viruses that are 650 nm in length have a common point: their transmission by *B. tabaci* and their very reduced host range.

They are not easy to purify and are little immunogenic. Serological relationships exist between most of them and they will probably form a sub-group in the carlavirus group.

They again put in evidence, the possible transmission by whiteflies of morphologically very different viruses.

IV. GEMINIVIRUSES WHITEFLY TRANSMITTED

COWPEA GOLDEN MOSAIC VIRUS

A disease affecting cowpea and presenting symptoms of golden mosaic was recently described in India (NENE, 1972), and Pakistan (AHMED, 1978), another in Kenya (BOCK, 1980) and a third in Nigeria (IITA, 1981).

The different authors proved that the disease, non mechanically transmitted, was different from the other similar diseases affecting leguminosæ.

In Nigeria partially purified suspensions helped to detect the presence of a geminivirus. The IITA in Nigeria selects cowpea varieties that are tolerant to the virus (THOTTAPILLY, 1983).

The disease is not seed-borne.

TOMATO YELLOW LEAF-CURL

In Israel a disease affecting tomatoes and transmitted in a persistent way by *B. tabaci* causes a downwards curling of leaves and a characteristic yellowing of the plant apex (COHEN & HARPAZ, 1964; COHEN & NITZANY, 1966). Geminivirus type particles were observed within infected tomato cells (RUSSO et al., 1980). The disease is slightly different from Tobacco leaf-curl disease, it is neither mechanically transmitted nor seed-borne ; its host-range is rather wide among solanacæ, malvacæ and leguminosæ.

The number of infected plants may be very high and the damage caused is consequently very important.

A quite similar disease prevails on tomato crop in West Africa (Senegal, Upper-Volta, Ivory-Coast and Nigeria) (FAUQUET & THOUVENEL, 1980a) where crop losses may reach up to 60 to 100 %, the proportion of infected plants reaching often almost 100 % (FAUQUET & THOUVENEL, 1980b).

In Israel a control by the use of insecticides and tolerant plants is recommended (COHEN et al., 1974b) and cultural methods in Ivory-Coast help to limit the impact of the disease.

AFRICAN CASSAVA MOSAIC VIRUS

African cassava mosaic virus is certainly the most widely spread whitefly transmitted disease in the whole of Africa ; its symptoms are the most spectacular (COURS, 1951) and it undoubtedly causes the most severe losses as a whole (COURS, 1951; BOCK, 1983).

Dr. BOCK recently in 1982 proved that the causal agent of the disease was in fact a geminivirus previously described and named "Cassava latent virus" (BOCK & WOODS, 1983).

The virus is not seed-borne but mechanically transmitted to an host range reduced to Solanacæ and transmitted by *B. tabaci* in a persistent way (BOCK et al., 1978).

The disease is typical of Africa though quite similar symptoms were also described in India and recently in Indonesia. Two different strains are known (BOCK et al., 1981) as well as a mild and a strong isolate for one of them (BOCK, 1980). Right now 11 reservoir plants are suspected for the virus, belonging to leguminosæ, rubiacæ, solanacæ and convolvulacæ.

The losses caused by the virus fluctuate from 37 to 90 % according to the different clones (SEIFF, 1982; BOCK, 1983).

Now some tolerant clones are known but they give no satisfaction agronomically nor organoleptically.

Epidemiological studies are on in Kenya, Sudan, and Ivory-Coast, to attempt to make a modelisation of the virus spread in order to determine if sanitation and eradication methods may be considered or if the use of resistant clones is absolutely needed.

Here and now we know that it is possible to grow free cassava under certain conditions in the Eastern coast of Kenya and in the central part of Ivory-Coast (BOCK, 1983; FAUQUET & THOUVENEL, 1981).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AHMED, M. (1978). Whitefly (*Bemisia tabaci*) transmission of a yellow mosaic disease of cowpea, *Vigna unguiculata*. *Pl. Dis. Repr.*, 62 : 224-226.
- BINK, F.A. (1973). Nouvelle contribution à l'étude de la mosaïque du cotonnier au Tchad. I. Symptômes, transmission par *Bemisia tabaci* Genn. II. Observations sur *B. tabaci*. III. Autres maladies virales. *Cot. Fib. trop.*, 28 : 365-378.
- BINK, F.A. (1975). Leaf-curl and mosaic disease of cotton in Central Africa. *Cott. grow. Rev.*, 52 : 233-241.
- BIRD, J. & MARAMOROSCH, K. (1975). Tropical diseases of legumes. Academic Press, New York, pp 171.
- BIRD, J. & MARAMOROSCH, K. (1978). Viruses and diseases associated with whiteflies. *Adv. Virus Res.*, 22 : 55-109.
- BIRD, J. & SANCHEZ, J. (1971). Whitefly-transmitted viruses in Puerto Rico. *J. Agric. Univ. P. Rico*, 55 : 461-467.
- BIRD, J., PEREZ, J.E., ALCONERO, R., VAKILI, N.C. & MELENDEZ, P.L. (1972). A whitefly transmitted golden yellow mosaic virus of *Phaseolus lunatus* in Puerto Rico. *J. Agric. Univ. P. Rico*, 56 : 64-74.
- BOCK, K.R. (1980). pers. comm.
- BOCK, K.R. (1983). Epidemiology of cassava mosaic disease in Kenya. In *Plant virus epidemiology*. Ed. by R.T. PLUMB & THRESH. Blackwell Sci. Pub., Oxford, 337-347.
- BOCK, K.R. & WOODS, R.D. (1983). Etiology of African cassava mosaic disease. *Plant Disease* 67 : 994-995.
- BOCK, K.R., GUTHRIE, E.J., MEREDITH, G.C. & NJUGUNA, J.G.M. (1975). Groundnut viruses. *Rep. E. Afr. Agric. For. Res. Org.*, 1974 : 120-124.
- BOCK, K.R., GUTHRIE, J. & FIGUEIREDO, G. (1981). A strain of cassava mosaic disease occurring in coastal districts of Kenya. *Ann. appl. Biol.*, 99 : 151-159.
- BOCK, K.R., GUTHRIE, J. & MEREDITH, G. (1978). Distribution host-range, properties and purification of cassava latent virus, a geminivirus. *Ann. appl. Biol.*, 90 : 361-367.
- BRADER, L. & ATGER, P. (1971). Quelques réflexions sur une nouvelle maladie épidémique des cotonniers au Tchad. *Cot. Fib. trop.*, 26 : 225-228.
- BRUNT, A.A. & KENTEN, R.H. (1974). Cowpea mild mottle virus. *CMI/AAB, Descriptions of Plant Viruses*, N°140, 4p.
- BRUNT, A.A. & PHILLIPS, S. (1981). "Fuzzy vein" a disease of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in Western Nigeria induced by cowpea mild mottle virus. *Trop. Agric. Trinidad* 58 : 177-180.
- CAPOOR, S.P. & VARMA, P.M. (1948). Yellow mosaic of *Phaseolus lunatus* Linn. *Curr. Sci.*, 17 : 152-153.
- CATELAND, B. & BINK, F.A. (1974). Etude de la résistance variétale des cotonniers à la mosaïque du Tchad. *Cot. Fib. trop.*, 25 : 405-407.

- COHEN, S. & HARPAZ, I. (1964). Periodic, rather than a continual acquisition of a new tomato virus by its vector, the tobacco whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.). Ent. exp. and appl., 7 : 155-166.
- COHEN, S. & NITZANY, F.E. (1966). Transmission and host range of the tomato yellow leaf curl virus. Phytopathology 56 : 1127-1131.
- COHEN, S., MELAMED-MADJAR, V. & HAMEIRI, J. (1974b). Prevention of the spread of tomato yellow leaf curl virus transmitted by *Bemisia tabaci* Genn. (Homoptera, Aleyrodidae) in Israel. Bull. Entomol. Res., 64 : 193-197.
- COURS, G. (1951). Le manioc à Madagascar. Mem. Inst. Sci. Madagascar, Ser. B, Biol. Veg., 3 : 203-416.
- COWLAND, T.W. (1934). Gezira Entomological Section, G.A.R.S. Final report on experimental work 1932-33. A. Rept. Gezira Agric. Res., 1933, 107-125.
- DUBERN, J. & DOLLET, M. (1981). Groundnut crinkle virus, a new member of the carlavirus group. Phytopath. Z., 101 : 337-347.
- EL-NUR, E. & ABU SALIH, H.S. (1970). Cotton leaf curl disease. PANS 16 : 121-131.
- FAUQUET, C. & THOUVENEL, J.C. (1980a). Inventaire des Maladies Virales de Côte d'Ivoire. Init. Doc. Tech., N° 46. Ed. by ORSTOM Paris, pp 128.
- FAUQUET, C. & THOUVENEL, J.C. (1980b). Impact of yellow leaf curl (TYLCD) on tomato crops in Ivory Coast. Abstr. Second International Conference on the Impact of Viral Diseases on the Development of African and Middle East countries. 4-10/12/80, NAIROBI,
- FAUQUET, C. & THOUVENEL, J.C. (1981). Mosaïque du manioc. TOUMODI. Expérimentation ORSTOM. Rap. mult., ORSTOM, 6p.
- FAUQUET, C., LAMY, D. & THOUVENEL, J.C. (1979). Les maladies virales du pois ailé en Côte d'Ivoire. Bull. Phyto. FAO, 27 : 81-88.
- GOLDING, F.D. (1930). A vector of leaf curl of cotton in Southern Nigeria. Emp. Cott. Grow. Rev, 7 : 120-126.
- HOLLINGS, M. & BOCK, K.R. (1976). Sweet potato mild mottle virus. CMI/AAB, Descriptions of Plant Viruses, N° 162, 4 p.
- HUTCHINSON, J.B., KNIGHT, R.L. & PEARSON, E.O. (1950). Response of cotton to leaf curl disease. J. Genet., 50 : 100-111.
- International Institute for Tropical Agriculture (1981). Ann. Rep. for 1980, Ibadan, NIGERIA.
- IWAKI, M., THONGMEEARKOM, P., PROMMIN, M., HONDA, Y. & HIBI, T. (1982). Withfly transmission and some properties of cowpea mild mottle virus on soybean in Thailand. Plant Disease 66 : 365-368.
- JONES, G.H. & MASON, T.G. (1926). On two obscure diseases of cotton. Ann. Bot., 40 : 759-772.
- KIRKPATRICK, T.W. (1930a). Leaf curl in cotton. Nature 125 : 672.
- KIRKPATRICK, T.W. (1931). Further studies on leaf curl of cotton in the Sudan. Bull. Entomol., 22 : 323-332.
- LAGIERE, R. (1968). Notes on leaf curl and anthracnose of cotton in Togoland. Cot. Fib. trop. 23 : 394-395.

- LOURENS, J.H., VAN DER LAAN, P.A. & BRADER, J. (1972). Contribution à l'étude d'une mosaïque du cotonnier au Tchad. Distribution dans un champ, des Aleurodidae connus, essais de transmission de cotonnier à cotonnier par les Aleurodidae. *Cot. Fib. trop.*, 27 : 225-230.
- MOORE, E.S. (1933). Important to tobacco growers. The crinkly dwarf menace of tobacco. *Fmg. S. Afr.*, 8 : 276-279.
- MUKHERJEE, A.K. & RAYCHAUDHURI, S.P. (1964). Leaf curl of *Malveviscus arboreus* Cav. *Indian J. Hort.*, 21 : 176-177.
- MUNIYAPPA, V. (1980). Witherflies. In vectors of plant pathogens. Ed. by K.F. HARRIS & K. MORAMOROSCH. Academic Press, New York, 39-85.
- NENE, Y.L. (1972). A survey of viral diseases of pulse crops in UP. O.B. Plant Univ. Agric. Tech., 191 pp.
- NICHOLS, R.F.W. (1947). Breeding cassava for virus resistance. *E. Afr. Agric. J.*, 12 : 184-194.
- NICHOLS, R.F.W. (1950). Brown streak disease of cassava. *E. Afr. Agric. J.*, 15 : 154-159.
- NOUR, M.A. & NOUR, J. (1964). Identification, transmission and host range of leaf-curl viruses infecting cotton in the Sudan. *Emp. Cott. Grow. Rev.*, 41 : 27-37.
- PAL, B.P. & TANDON, R.K. (1937). Types of tobacco leaf curl in northern India. *Indian K. agric. Sci.*, 5 : 263-266.
- RUSSO, M., COHEN, S. & MARTELLI, G.P. (1980). Virus-like particles in tomato plants affected by the yellow leaf curl disease. *J. gen. Virol.*, 49 : 209-213.
- SCHAEFFERS, G.A. & TERRY, E.R. (1976). Insect transmission of sweet potato disease agents in Nigeria. *Phytopathology* 66 : 642-645.
- SEIFF, A.A. (1982). Effect of cassava mosaic virus on yield of cassava. *Plant Disease* 66 : 661-662.
- SIDDIQ, M.A. (1968). Genetics of resistance to cotton leaf curl in sahel cotton. *J. agric. Sci. Camb.*, 70 : 99-103.
- STOREY, H.H. (1931). A new virus disease of the tobacco plant. *Nature* 128 : 187-188.
- STOREY, H.H. (1932). Leaf curl of tobacco in Southern Rhodesia. *Rhodesia agric. J.*, 29 : 186-192.
- STOREY, H.H. (1935). Virus diseases of East African plants. II. Leaf curl disease of tobacco. *E. Afr. agric. J.*, 1 : 148-153.
- TAMADA, T. & KOJIMA, M. (1977). Soybean dwarf mosaic virus. CMI/AAB, Descriptions of Plant Viruses, N° 179, 4 p.
- TARR, S.A.J. (1957a). The host range of the cotton leaf curl in Sudan. *Emp. Cott. Grow. Rev.*, 34 : 258-262.
- TARR, S.A.J. (1957b). Recent observations on diseases of cotton in the Sudan Gezira. *FAO Pl. Prot. Bull.*, 5 : 85-88.
- THOTTAPILLY, G. (1983). pers. comm.
- THUNG, T.H. (1932). The curl and crinkle diseases of tobacco and the causes of their dissemination. *Proefstat. Vorstenlandsche Tabak Meded* 72 : 1-54.

- VARMA, P.M. (1962). Transmission of plant viruses by witheflies. Proc. Symp. on Plant and Animal Viruses held at Cuttack on Dec. 31, 1961 to Jan. 1, 1962. Bull. Natl. Inst. Sci., India 24 : 14-15.
- WEST, J. (1936). Leaf curl of tobacco in Southern Nigeria. Trop. Agric. Trin. 13 : 242-244.
- WEST, J. (1940). The control of leaf curl of tobacco in Southern Nigeria. Pap. Third W. Afr. agric. Conf., 1938, 1 : 205-206.
- WILLIAMS, R.J. (1976). A withefly transmitted disease of lima bean in Nigeria. Plant Dis. Repr., 60 : 853-857.
- YASSIN, A.M. (1975). Epidemics and chemical control of leaf curl virus disease of tomato in the Sudan. Exp. Agric., 11 : 161-165.
- YASSIN, A.M. and ABUSALIH, H.S. (1972). Leaf curl of tomato. Tech. Bull. agric. Res. Corporation, Sudan, 3, pp 33.

1.2.4. VIRUS FILAMENTEUX EN AFRIQUE

FAUQUET, C. & VON WEICHMAR, B. (1986). Diseases caused by filamentous viruses : The top ten in Africa., in Filamentous Plant Viruses. Ed. by R.G. MILNE (Plenum Press, New-York) (sous presse).

"Diseases Caused by Filamentous Viruses : The Top Ten in Africa".
C. FAUQUET* and B. VON WEICHMAR**

* ORSTOM, B.P. V51, ABIDJAN, Côte d'Ivoire
** Microbiology Dpt., Cape Town, Rondenbosch 7700, South Africa

INTRODUCTION

The African continent can be considered within 3 parts ; the northern area above the tropic of Cancer, the second one is the intertropical area and the third area is the southern part under the tropic of Capricorn. Filamentous viruses of the northern zone are described in the "Top Ten viruses of the Mediterranean region" and we only have to present here what remains of the african continent.

The ecological situation, the agricultural development, the crop plants and the history of these two zones are completely different. Furthermore they are separated by desertic regions and consequently, it is not at all surprising to find two different situations concerning the plant filamentous viruses.

The South Africa area is characterized by a filamentous virus population typical of temperate countries (see Table I), i.e. viruses identified in many different parts of the world. As for the tropical zone (see Table I), the viruses are almost completely different and most of them are new viruses (□ in Table I). One of the most particular tropical virus group is the carlavirus group which contains only viruses transmitted by whiteflies instead of aphids, we have also to notice that the only potyvirus known to be whitefly-transmitted, was isolated in Africa (Hollings *et al*, 1976).

Certainly the particularity of the tropical plants and the isolation of these countries is principally responsible for this huge difference but we may also consider that this ecological refuge has been, in the past, invaded by a typical and tropical population of filamentous viruses.

I- FILAMENTOUS VIRUSES OF THE SOUTH AFRICAN AREA

A-POTYVIRUSES

1-Potato virus Y . PVY.

PVY is the most important virus disease on potato, the major vegetable crop in South Africa. PVY is also important in tobacco (Thatcher, 1978) where 100% infections are not uncommon leading to decreased quality. Tomato and green pepper crops are also contaminated (Thompson, 1980). Strains YO and YN have been identified. New strains of YO are differentiated biologically on various host species, the green-pepper YO - variant does not infect potato. The finding is similar to that of Bock and Robertson (1976) in

East Africa. PVY transmission is by aphids (*Myzus persicae*, *Macrosiphum euphorbia* and other species) and infected seed potatoes. A seed potato certification scheme exists based on ELISA testing for all YO and YN strains. To control the disease, potato cvs. with field immunity, ie. BPI, are planted.

2-Sugarcane mosaic virus. SCMV.

This is the most important virus disease in sugarcane in South Africa. It is widely distributed in the Natal clone fields, but severe outbreaks are restricted to the cooler and higher altitude regions. Two popular varieties NCO 376 and NCO 2893 are particularly susceptible. The virus spreads by planting infected seeds and by transmission of the aphid *Rhopalosiphum maidis*. Maize and several grass species serve as alternate hosts. Yield loss on severely affected farms is estimated to be in the order of 20% annually but can be as high as 50% in individual fields (Bailey, 1979; Bailey and Fox, 1980).

SCMV in sugarcane was found to be serologically closely related to maize dwarf mosaic virus strain-B, (MDMV-B) (Von Wechmar and Chauhan 1985) originally isolated from sorghum (Von Wechmar 1967, Von Wechmar and Hahn 1967). The presence of seedborne MDMV-B in maize may confuse relationship studies when SCMV from cane is propagated in maize (Von Wechmar and Chauhan 1984, 1985). MDMV-B is widespread in maize and sorghum throughout the maize production region, but only isolated incidences of severe infection are on record. Spread occurs through seedborne virus and by aphids, mainly *R. padi* and *R. maidis*. A new invader aphid in small grains *Diuraphis noxia* transmits MDMV-B freely.

3-Watermelon mosaic virus. WMV.

WMV is a serious disease in cucurbits, the fourth most important vegetable crop in South Africa (200 000 tons in 1982/83 season). The WMV-Morocco strain is dominant throughout the country, whereas WMV-2 (Van Regenmortel, 1961) occurs only in the western Cape province. WMV-1 does not occur. *Myzus persicae* is considered the major aphid vector. No evidence for seed transmission exists (Van der Meer, 1985).

B- CLOSTEROVIRUSES

1-Citrus tristeza virus. CTV.

CTV is ubiquitous in South Africa, being present in virtually every citrus tree in the country (McClellan, 1963). The only real problem caused by CTV in South Africa is on grapefruit where it causes severe stem pitting and a slow decline of trees (Da Graca et al., 1982). Local mild strains with good stable protective ability have been selected and were introduced into the citrus super plant scheme (virus-free plants reinfected with CTV). It is foreseen that in the near future virtually all citrus planted will originate from this budwood so that the stable mild strains will predominate protecting trees from severe strains (Moll, pers. comm.). The main spread of CTV is by the aphid *Toxoptera citricidus* (McClellan, 1957B).

2-Apple stem grooving virus. ASGV.

A progressive decline of Packham's Triumph pear grown on seedling rootstock (William's Bon Chretien) is widespread and randomly distributed in pear orchards of the western cape province of South Africa. Infection in individual orchards can vary from 5-45% for Bon Chretien and as much as 91% for Packham's Triumph (Siebert, pers. comm.). ASGV is considered to be the most important pear virus disease in this region. Reduced terminal growth and die-back of feeder roots are characteristic in trees older than seven years. Severe stem grooving develops in the xylem at bud-union of seedling rootstock. The disease is identified by indexing on *Pyronia veitchii* and *Nicotiana glutinosa*. To control the disease it is essential to use only virus-tested scion wood on seedling rootstock (Siebert and Engelbrecht, 1982).

II. FILAMENTOUS VIRUSES OF THE TROPICAL AREA.

They are mainly represented by 2 groups, the carlavirus group with 5 viruses and the potyvirus group with 21. The only member of the potexvirus group has been recently isolated (Fauquet *et al*, 1985) and is transmissible by aphid.

A. CARLAVIRUSES

1. Cowpea Mild Mottle Virus. CMMV.

It is now considered as the type member of the whitefly transmitted subgroup of the carlaviruses (Brunt *et al*, 1983). It was isolated on several legume crops as cowpea in Ghana (Brunt and Kenten, 1973), on soybean in Thailand (Iwaki *et al*, 1982), and Ivory Coast (Thouvenel *et al*, 1982), and in groundnut in Kenya (Bock *et al*, 1975) and In India (Iizuka *et al*, 1983). CMMV is also known to occur in tomato (Brunt and Phillips, 1981). In the Ivory Coast 3 different viruses, Psophocarpus necrotic mosaic virus, Voandzeia mosaic virus, (Fauquet and Thouvenel, 1985) and Groundnut crinkle virus (Dubern and Dollet, 1981) are closely related to CMMV and can be differentiated by their host range. The efficient vector is *Bemisia tabaci* (Aleyrodidae) in the non persistent manner (Iwaki *et al*, 1982; Muniyappa and Reddy, 1983). The virus is also spread by the seeds in the case of soybean (Brunt and Kenten, 1973). The particles are 650 nm in length and 13 nm in width. The intracellular inclusions are different from those of aphid transmitted carlaviruses and it is serologically unrelated to 12 carlaviruses (Brunt *et al*, 1983).

B. POTYVIRUSES.

1. Pepper Veinal Mottle Virus. PVMV.

This potyvirus is the type member of this group in Africa, because almost all potyviruses isolated are serologically related to PVMV (Fauquet and Thouvenel, 1980). PVMV was first isolated on pepper in Ghana (Brunt and Kenten, 1971), then in the Ivory Coast (De Wijs, 1973) and in Nigeria (Lana *et*

al., 1975) and there are reasons to believe that the virus also exists all over West and Central Africa. PVMV invade all the sweet and hot pepper, but also tomato (Fauquet and Thouvenel, 1985), egg plant (Igwegbe and Waterworth, 1982) and tobacco (Ladipo and Roberts, 1979). The infected pepper leaves develop chlorosis and dark green patches between the veins and the limb is crinkled. The plants are smaller, there is a premature senescence, the production comes down and the fruits slightly distorted show a bright mottle. The Nigerian strain is more severe and induces necrosis of the flowers. PVMV is readily transmitted by *Aphis gossypii*, *A. spiræcola*, *Toxoptera citricidus* and *Myzus persicæ*, in the non persistent manner. All the peppers are diseased and the speed of the contamination is very high. PVMV is 750 to 850 nm long and its host range is mainly concerned by the Solanaceæ. It is not seed borne and *Physalis floridanais* a natural reservoir. There are no resistant varieties available but a selection program is in progress in Ivory Coast.

2. Yam Mosaic Virus. YMV.

Almost all the *Dioscorea spp.* are contaminated Yam Mosaic Virus, (YMV) in West Africa (Thouvenel and Fauquet, 1977 ; Terry, 1976) were this crop is very important. The number of infected plants can reach 100% in the forest area. YMV is transmitted by the tubers but also by *Aphis gossypii*, *Toxoptera citricidus*, *Rhopalosiphum maidis*, and *A. craccivora* in the non persistent manner. YMV is not seed borne and yam fields issued from seeds were rapidly contaminated. YMV infects *Dioscorea cayenensis*, *D. alata*, *D. preusii* and *D. liebrechtsiana* (Thouvenel and Fauquet, 1982). The prevalent symptomatology is a green mosaic with vein-banding, dotting and swelling of the limb. Several susceptible clones were completely eliminated by YMV. The virus is 750 to 800 nm long and is serologically related to several African potyviruses (Fauquet and Thouvenel, 1980). The host range is strictly limited to the Dioscoreaceæ and to *Nicotinana benthamiana*. No natural host was identified. The thermotherapy is inefficient on infected tuber-seeds, but 14 clones of *D. alata* are available, virus-free, issued from meristem *in vitro* culture, in Nigeria (I.I.T.A. , 1981).

3. Groundnut Eye Spot Virus. GEV.

GEV was described only in the Ivory Coast (Dubern and Dollet, 1980) but it is also present in Burkina Faso and Mali. The number of infected plants in a field is often 100% and consequently it is an important viral disease for groundnut. The symptoms are yellow eyespots with dark green rings, and a green vein-banding. GEV is not seed borne but transmitted by *Aphis craccivora* and *A. citricola* in the non persistent manner. The host-range is wide in the Leguminosæ and Solanaceæ. GEV is 755 nm long and it is serologically related to the african potyviruses (Fauquet and Thouvenel, 1980).

SOUTH AFRICA AREA

POTEXVIRUS GROUP

Cassava common mosaic virus
Cymbidium mosaic virus
Papaya mosaic virus
Potato virus X

CARLAVIRUS GROUP (whitefly transmitted)

POTYVIRUS GROUP

Bean common mosaic virus*
Dasheen mosaic virus*
Lettuce mosaic virus
Maize dwarf mosaic virus (strain A* and B)
Onion yellow dwarf virus
Papaya ringspot virus
Passionfruit woodiness virus
Potato virus Y (strains YO and YN)
Soybean mosaic virus
Sugarcane mosaic virus*
Sweet Potato virus A
Watermelon mosaic virus*(Morocco,WMV-2)

CLOSTEROVIRUS GROUP

Apple chlorotic leaf spot virus
Apple stem grooving virus
Grapevine stem pitting associated virus
Citrus tristeza virus*

TROPICAL AREA

Groundnut chlorotic spotting virus

Cassava brown streak virus
Cowpea mild mottle virus
Groundnut crinkle virus
Psophocarpus necrotic mosaic virus
Voandzeia mosaic virus

Bean common mosaic virus*
Cowpea aphid borne mosaic virus
Cucurbita mosaic virus
Dasheen mosaic virus*
Dioscorea ring mottle virus
Groundnut eye spot virus
Groundnut streak virus
Guar symptomless virus
Guinea grass mosaic virus (A,B and D)
Maize dwarf mosaic virus-A*
Passiflora ring spot virus
Pawpaw decline virus
Peanut mottle virus
Pepper veinal mottle virus
Sugarcane mosaic virus*
Sweet potato complex virus
Sweet potato feathery mottle virus
Sweet potato mild mottle virus
Tobacco vein mottling virus
Watermelon mosaic virus*
Yam mosaic virus

Citrus tristeza virus*

Table I : Filamentous viruses identified in the South and in the Tropical area of Africa

Virus typically african, * Common viruses between the 2 zones.

LITERATURE

- Bailey, R.A., 1979, An assessment of the status of sugarcane diseases in South Africa, Sasta Proc. **53** : 1.
- Bailey, R.A., and Fox, P.H., 1980, The susceptibility of varieties to mosaic and the effect of planting date on mosaic incidence in South Africa, Sasta Proc. **54** : 1.
- Bock, K.R. and Robertson, D.J., 1976, Notes on east african plant virus diseases, Eat Afr. Agric. and Forestry J. **41** : 340.
- Bock, K.R., Guthrie, E.J., Meredith, G.C., and Njuguna, J.G.M., 1975, Groundnut viruses, Rep. East Afr. Agric. and Forestry Res. Org., for 1974 : p 120.
- Brunt, A.A., and Kenten, R.H., 1971, Pepper vein mottle virus - a new member of the potato virus Y group from peppers (*Capsicum annuum* L. and *C. frutescens* L.) in Ghana, Ann. appl. Biol. **69** : 235.
- Brunt, A.A., and Kenten, R.H., 1973, Cowpea mild mottle a newly recognized virus infecting cowpeas (*Vigna unguiculata*) in Ghana, Ann. appl. Biol. **74** : 67.
- Brunt, A.A., and Phillips, S., 1981, "Fuzzy-vein" a disease of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in Western Nigeria induced by cowpea mild mottle virus, Trop. Agric. Trinidad **58** : 177.
- Brunt, A.A., Atkey, P.T., and Woods, R.D., 1983, Intracellular occurrence of CMMV in two unrelated plant species, Intervirology **20** : 137.
- Da Graca, J.V., Marais, L.J., and Von Broembsen, L.A., 1982, Severe tristeza stem pitting in young grapefruit, Citrus and Subtrop. Fruit J. **588** : 20.
- De Wijs, J.-J., 1973, Pepper Veinal Mottle Virus in Ivory Coast, Neth. J. Plant Pathol. **79** : 189.
- Dubern, J., and Dollet, M., 1980, Groundnut eyespot virus, a new member of the potyvirus group, Ann. appl. Biol. **96** : 193.
- Dubern, J., and Dollet, M., 1981, Groundnut crinkle virus, a new member of the carlavirus group, Phytopath. Z. **101** : 337.
- Fauquet, C., and Thouvenel, J.-C., 1980, Influence of potyviruses on the development of plants in Ivory Coast, Second International Conference on the Impact of Viral Diseases on the Development of African and Middle East Countries, Nairobi, KENYA (1980, Dec. 1-10).
- Fauquet, C., and Thouvenel, J.-C., 1985, Plant Viruses in the Ivory Coast, Initiations-Documentations Techniques, (ORSTOM ed.), Paris, (in press).
- Fauquet, C., Thouvenel, J.-C., and Fargette, D., 1985, Une nouvelle maladie virale de l'arachide en Côte d'Ivoire: la maladie des taches chlorotiques de l'arachide, C. R. Acad. Sc. Paris, (in press).

- Hollings, R.M., and Bock, K.R., 1976, Purification and properties of sweet potato mild mottle, a whitefly borne virus from sweet potato (*Ipomoea batatas*) in East Africa, Ann. appl. Biol. **82** : 511.
- Igwegbe, E.C.K., and Waterworth, H.E., 1982, Properties and serology of a strain of pepper veinal mottle virus isolated from eggplant (*Solanum melongena* L.) in Nigeria, Phytopathol. Z. **103** : 9.
- Iizuka, N., Rajeshwari, R., Reddy, D.V.R., Goto, T., Muniyappa, V., Bharathan, N., and Ghanekar, A.M., 1984, Natural occurrence of cowpea mild mottle virus on groundnut (*Arachis hypogaea*) in India, Phytopathol. Z. **109** : 245.
- International Institute of Tropical Agriculture, 1981, Highlights for 1980, Ibadan, Nigeria.
- Iwaki, M., Thongmeearkom, P., Prommin, M., Honda, Y., and Hibi, T., 1982, Whitefly transmission and some properties of cowpea mild mottle virus on soybean in Thailand, Plant Dis. **66** : 365.
- Ledipo, J.L., and Roberts, I.M., 1979, Occurrence of pepper veinal mottle virus in tobacco in Nigeria, Plant Dis. Rept. **63** : 161.
- Lana, A.O., Gilmer, R.M., Wilson, G.F., and Shoyinka, S.A., 1975, An unusual new virus, possibly of the potyvirus group, from pepper in Nigeria, Phytopathology **65** : 1329.
- Mc Clean, A.P.D., 1963, The tristeza virus complex, S. Afric. J. Agr. Sci. **6** : 303.
- Mc Clean, A.P.D., 1957b, Tristeza virus complex : its transmission by the aphid *Toxoptera citricidus*, Phytophylactica **7** : 109.
- Muniyappa, V., and Reddy, D.V.R., 1983, Transmission of cowpea mild mottle virus by Bemisia tabaci in a non-persistent manner, Plant Dis. **67** : 391.
- Siebert, Van Z., and Engelbrecht, D.J., 1982, Association of apple stem grooving virus with a decline of Packham's Triumph pear on seedling rootstock, Acta Horticulturæ **130** : 47.
- Terry, E.R., 1976, Incidence, symptomatology, and transmission of a yam virus in Nigeria, Proc. 4th Int. Symp. Trop. Root Crops, Cali, COLUMBIA : p170.
- Thatcher, J., 1978, Isolation of an apparently new PYY strain from Burley tobacco, Phytophylactica **10** : 73.
- Thompson, G.J., 1980, Studies on a *Capsicum* mosaic on tomato spotted wilt, MSC Thesis, Univ. of Natal, 1980.
- Thouvenel, J.-C., and Fauquet, C., 1977, Une mosaïque de l'igname (*Dioscorea cayenensis*) causée par un virus filamenteux en Côte d'Ivoire, C. R. Acad. Sc. Paris **284**, Série III : 1947.
- Thouvenel, J.-C., and Fauquet, C., 1982, Les viroses de l'igname en Côte d'Ivoire, *In* "Yams", (J. Miège, and S.N. Lyonga, ed.), pp. 245-252, Oxford Sciences Pub., Oxford.

- Thouvenel, J.-C., Fauquet, C., and Monsarrat, A., 1982, Isolation of cowpea mild mottle virus from diseased soybeans in the Ivory Coast, Plant Dis. **66** : 336.
- Van der Meer, F., 1985, Identification, characterisation and strain differentiation of watermelon mosaic virus in South Africa, MSC Thesis, Univ. of the Witwatersrand (submitted).
- Van Regenmortel, M.H.V., 1961, Purification of a watermelon mosaic virus, S. Afr. J. Agric. Sci. **4** : 405.
- Von Wechmar, M.B., 1967, A study of viruses affecting graminæ in South Africa, PHD Thesis, Stellenbosch, **144**.
- Von Wechmar, M.B., and Hahn, J.S., 1967, Virus diseases of cereals in South Africa, S. Afr. J. Agric. Sci. **10** : 241.
- Von Wechmar, M.B., and Chauhan, R., 1984, Seedborne viruses of maize in South Africa, Maize Virus Diseases Newsletter **1**, 54.
- Von Wechmar, M.B., and Chauhan, R., 1985, Occurrence of two strains of maize dwarf mosaic virus in South Africa: strain A and B, Maize Virus Diseases Newsletter **2**, (submitted).

1.2.5. LES POTYVIRUS DE COTE D'IVOIRE

FAUQUET, C. & THOUVENEL, J.-C. (1980). Influence des Potyvirus sur les cultures vivrières tropicales en Afrique de l'Ouest. 2ème Conférence Internationale sur l'Impact des Maladies à Virus sur le Développement des Pays Africains et du Moyen-Orient, 2-6/12/80, Nairobi, KENYA.

INFLUENCE DES POTYVIRUS SUR LES CULTURES VIVRIÈRES TROPICALES EN AFRIQUE DE L'OUEST

C. FAUQUET et J.C. THOUVENEL
ORSTOM, B.P. V-51 ABIDJAN (Côte d'Ivoire)

Résumé

Depuis que des recherches sont effectuées en matière de virologie des plantes en Afrique de l'Ouest, un grand nombre de virus ont été isolés et parmi ceux-ci les potyvirus, tout comme ailleurs dans le monde, en constituent la majorité.

En Côte d'Ivoire nous avons isolé et identifié des potyvirus de nombreuses plantes cultivées comme : le panicum (*Panicum maximum*), le maïs (*Zea mays*), le mil (*Pennisetum americanum*), le piment (*Capsicum annuum*), la tomate (*Lycopersicon esculentum*), l'aubergine (*Solanum* sp.) l'arachide (*Arachis hypogaea*), l'igname (*Dioscorea cayenensis*), la courgette (*Cucurbita pepo medullosa*), le pois sabre (*Canavalia ensiformis*), et la passiflore (*Passiflora edulis*).

Les symptômes que ces virus induisent sont des mosaïques plus ou moins violentes suivant les plantes, qui les affaiblissent considérablement. La fréquence des plantes malades est très importante et peut atteindre 100% à l'échelle de l'Afrique de l'Ouest, comme pour le Pepper Veinal Mottle Virus sur piment (PVMV). Ils sont presque tous transmis par puceron sur le mode non persistant et aucun n'est transmissible par la graine. Leur longueur varie entre 700 et 820 nm.

Ils sont tous reliés sérologiquement, bien qu'à des degrés divers, mais par contre il n'existe pratiquement aucune parenté avec les potyvirus des autres continents, même entre le PVMV et le Potato Virus Y qui semblent occuper à peu près la même niche écologique sous des climats différents.

Le poids moléculaire de leur protéine capsidique varie entre 33 et 36 000 et présente des bandes de dégradation caractéristiques. Si l'on compare la composition en acides aminés de ces protéines entre elles et avec celle des autres potyvirus, on s'aperçoit qu'ils forment un groupe très homogène par rapport aux autres virus ; mais néanmoins, il apparaît que les potyvirus africains constituent un sous-groupe comme les relations sérologiques le laissent suggérer.

Les potyvirus de l'Afrique de l'Ouest, qui ont envahi pratiquement toutes les familles de plantes cultivées présentent donc toutes les caractéristiques classiques des potyvirus, mais il semble qu'ils en constituent un sous-groupe dit des "Potyvirus Africains".

INFLUENCE OF POTYVIRUSES ON TROPICAL FOOD CROPS IN WEST AFRICA

C. FAUQUET & J.C. THOUVENEL
ORSTOM, B.P. V-51 ABIDJAN (Ivory Coast)

Summary

In the field of West African plant virology, a great number of viruses have already been isolated, the majority of which are potyviruses like elsewhere in the world.

In Ivory-Coast, potyviruses have been isolated from numerous cultivated plants such as : panicum (*Panicum maximum*), maize (*Zea mays*), millet (*Pennisetum americanum*), pepper (*Capsicum annuum*), tomato (*Lycopersicon esculentum*), egg-plant (*Solanum* sp.) peanut (*Arachis hypogaea*), yam (*Dioscorea cayenensis*), marrow (*Cucurbita pepo medullosa*), sword bean (*Canavalia ensiformis*) and passiflora (*Passiflora edulis*).

Those viruses cause a mosaic that is more or less severe according to the plant and very much weakens them. The number of infected plants is very high and can reach 100 % in West Africa ; this is the case of Pepper Veinal Mottle Virus on pepper (PVMV). Almost every potyvirus is aphid-transmitted in the non-persistent manner and none is seed-borne. Their lengths range from 700 to 820 nm.

They are all serologically related, though differently, but nevertheless they have almost no relationship with the potyviruses from other continents, even PVMV and Potato Virus Y that are occupying nearly the same ecological world, in different regions.

The molecular weight of their coat protein ranges from 33 to 36 000 and shows characteristic degradation bands. When we compare the amino acid composition of each protein and also compare it to the amino acid composition of other potyviruses, we realize that they make a very homogeneous group, with regard to other viruses ; nevertheless, the African potyviruses appear to form a sub-group, just as the serological relationships let it be supposed.

The West African potyviruses that have invaded almost every family of cultivated plant present therefore the usual characteristics of potyviruses, but seem to form a sub-group called : "African potyviruses".

INTRODUCTION

Comme partout à travers le monde, la majorité des maladies virales des plantes de Côte d'Ivoire sont dues à des virus appartenant au groupe des Potyvirus.

Les Potyvirus sont, selon MATTHEWS (14) des virus filamenteux d'une longueur de 680 à 900 nm pour une largeur de 11 à 16 nm, et ayant une structure hélicoïdale. Ils sont composés d'une molécule d'acide ribonucléique protégée par une enveloppe de protéines capsidaires. Ils sont tous transmissibles mécaniquement ainsi que par puceron sur le mode non-persistant, et quelques-uns le sont également par la graine. Ils sont tous sérologiquement reliés à au moins un autre potyvirus. On compte actuellement selon EDWARDSON (6) 83 membres classés dans ce groupe.

Nous énumérerons successivement les Potyvirus décrits en Côte d'Ivoire, nous verrons les symptômes qu'ils induisent, les dégâts qu'ils provoquent et leur répartition géographique. Enfin nous analyserons quelques caractères biologiques et biochimiques afin de les comparer aux autres potyvirus.

SYMPTOMES, REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET IMPACT DES POTYVIRUS ISOLES EN COTE D'IVOIRE

- Le Guinea Grass Mosaic Virus - A - GGMV - A

Il s'agit d'un potyvirus isolé du *Panicum maximum* (plante fourragère) qui a été décrit par THOUVENEL et al. (19) en 1976. Les symptômes sont variables suivant les clones de panicum, en général, il s'agit d'une mosaïque très prononcée. Certains cultivars particulièrement sensibles sont en voie de disparition du fait de ce virus. Ce virus n'a été trouvé que sur des panicums cultivés mais en plusieurs endroits de Côte d'Ivoire.

- Le Guinea Grass Mosaic Virus - B - GGMV - B

Il s'agit d'une souche de GGMV qui a été identifiée sur le maïs par LAMY et al. (13) en 1979. Elle provoque une mosaïque fine et une légère diminution de croissance du maïs. Cette maladie a été détectée en quelques endroits de la région forestière de la Côte d'Ivoire, mais elle n'a pas fait l'objet d'une prospection complète et étant donné l'état physiologique du maïs il est probable que cette maladie soit très répandue et donc avec un impact assez grand pour cette culture.

- Le Guinea Grass Mosaic Virus - D - GGMV - D

Il s'agit d'une autre souche de GGMV qui semble inféodée au mil (KUKLA et al. (11)). Le mil malade est mosaïqué et rebougri. Nous avons ponctuellement isolée ce virus mais aussi bien dans le nord que dans le sud du pays.

- Le Pepper Veinal Mottle Virus - PVMV

Ce virus fut d'abord décrit au Ghana par BRUNT et KENTEN (3) en 1971, puis en Côte d'Ivoire par De WIJS (21) en 1973 et enfin au Nigeria par LANA et al. (12) en 1975. Depuis nous l'avons identifié au Sénégal, au Togo, au Bénin et au Cameroun, il est donc très largement répandu en Afrique de l'Ouest. Ce virus a été isolé sur piment, poivron, tomate, aubergine locale et aubergine-tomate. Sur toutes ces plantes le virus est extrêmement fréquent, souvent 100 % de plantes malades. Les symptômes sur piment et poivron sont : panachure et cloquage des feuilles, réduction de la croissance générale de la plante et déformation des fruits dans le cas d'attaques sévères. Sur tomate les symptômes sont variables : nécrose au Nigeria, chlorose et réduction importante de la surface foliaire en Côte d'Ivoire. Mosaïque en plages sur aubergine locale et enfin mosaïque forte et rebougrissement marqué sur aubergine-tomate.

BRUNT et KENTEN (4) ont comparé ces souches du point de vue de la gamme d'hôtes et n'ont pas constaté de très grandes différences, nous n'étudierons ici que la souche piment.

L'impact de ce virus sur les cultures maraichères est donc très grand et se fait sentir partout en Afrique de l'Ouest.

- Le Groundnut Eye Spot Virus - GESV

Ce virus a été étudié et décrit par DUBERN et DOLLET en 1970 (5). Il infecte les arachides et provoque des taches ocellées ou des colorations vert-jaune des nervures. Les pieds d'arachide malade sont moins bien développés que les pieds sains mais pas rebougris. SymptomatoLOGIquement, on peut différencier plusieurs souches, nous en étudierons deux : GESV - A et GESV - B.

Ce virus est surtout répandu dans la zone de savane du pays ainsi qu'en Haute-Volta et au Mali. L'infection peut atteindre certaines années 100 % des plantes, c'est donc une contrainte importante de la culture d'arachide.

- Le Yam Mosaic Virus - YMV

C'est un potyvirus qui infecte les ignames (*Dioscorea cayenensis*) décrit par THOUVENEL et FAUQUET en 1980 (18). Les symptômes induits sont très variables : mosaïque, taches, cloques, coloration des nervures, déformation des feuilles et diminution de la surface des feuilles. La réaction générale de la plante dépend du cultivar considéré, certains semblent peu touchés alors que d'autres sont en voie de disparition. En Côte d'Ivoire il est présent surtout dans le Sud du pays, dans la partie mésophylle. Une maladie similaire a été décrite au Nigeria et il est probable que ce virus soit très largement répandu dans l'Afrique de l'Ouest.

- Le Cucurbita Mosaic Virus - CuMV

Il s'agit d'un potyvirus isolé sur courgette (*Cucurbita pepo medullosa*) décrit par FAUQUET et al. (7). Ce virus provoque une mosaïque vert-jaune sur courgette. Il n'est qu'occasionnellement identifié sur courgette.

- Le Canavalia Mosaic Virus - CaMV

Ce virus a récemment été isolé sur le pois sabre ou *Canavalia ensiformis* (FAUQUET et al. (8)). Il y a des symptômes de mosaïque sur les vieilles feuilles et une très violente déformation pour les jeunes feuilles. La plante est extrêmement déformée et rebougrie et ne produit alors pratiquement plus de graines. En zone forestière, toutes les plantes sont malades et ce virus pour l'instant n'a été isolé qu'en zone mésophylle.

- Le Passiflora Ring Spot Virus - PRSV

Ce virus infecte les passiflores, il a été identifié par De WIJS (22) en 1974. On peut distinguer deux types de symptômes :

- 1°) Mosaïque, symptômes en anneaux sur les feuilles, chute des fleurs, aspect chétif de la plante.
- 2°) Rebougrissement, distorsion des feuilles, déformation des fruits très forte et chute des fleurs.

Le virus peut être isolé des deux types de symptômes mais on ne reproduit que le premier type.

Pratiquement toutes les plantes en zone forestière sont malades, dans le nord la maladie est très rare.

L'impact sur la production d'une plantation de passiflore est assez grand, il faut périodiquement replanter des plantes saines.

Les symptômes que provoquent les potyvirus isolés en Côte d'Ivoire sont très variables ; depuis une fine mosaïque, presque invisible, jusqu'à la mort de la plante. Le symptôme le plus fréquent est néanmoins une mosaïque verte avec déformation du limbe. Pour aucun de ces virus il n'a encore été possible de chiffrer précisément les pertes qu'ils provoquent. Elles sont très variables suivant le matériel végétal considéré, mais étant donné la fréquence élevée de plantes malades et la large dispersion de ces virus, il est certain que l'impact des potyvirus sur les cultures tropicales est très grand. Il faut noter que l'on trouve aussi bien des potyvirus en zone de savane qu'en zone de forêt mais ils sont plus fréquents dans cette dernière.

COMPARAISON DES GAMMES D'HOTES DES POTYVIRUS DE COTE D'IVOIRE

Comme nous l'avons vu les potyvirus infectent naturellement un grand nombre de familles de plantes cultivées. Les 3 souches de GGMV n'infectent exclusivement que les gramineae. Le GESV et le CaMV, qui ont été isolés sur legumineae, peuvent également se développer sur solanaceae, tandis que le PVMV n'infecte pratiquement que les solanaceae. Le CuMV et le YMV ont leur gamme d'hôtes restreinte respectivement aux cucurbitaceae et aux dioscoreaceae. Quant au PRSV il a une gamme d'hôtes plus large puisqu'on peut l'inoculer à des legumineae, à des solanaceae ainsi qu'aux passifloraceae. Il faut noter cependant que le CaMV, le PVMV, le CuMV, le YMV et le PRSV infectent le *Nicotiana benthamiana* qui peut servir de plante de multiplication pour la purification de ces virus.

En ce qui concerne les plantes réservoir naturelles, nous n'avons que très peu de données. Nous connaissons *Adenia* spp. (passifloraceae) pour le PRSV, *Physetra eglandulosa* et *Adenopus guineensis* pour le CuMV et *Solanum* spp. (Solanaceae) pour le PVMV.

Donc il n'y a pas de stricte spécificité des potyvirus (sauf les GGMV) vis-à-vis de leur gamme d'hôtes, mais néanmoins une tendance à n'infecter qu'une seule famille de plante.

TRANSMISSION DES POTYVIRUS DE COTE D'IVOIRE

A ce jour aucun des potyvirus de Côte d'Ivoire n'est transmissible par la graine, ce qui peut être un facteur de dissémination important.

Le panicum étant multiplié par éclat de souche, on peut avoir une multiplication végétative du virus GGMV-A.

Dans le cas de l'igname, la propagation du virus par les boutures de tubercules est sans nul doute un facteur très important de dissémination de la maladie.

Tous les potyvirus sont transmissibles par inoculation mécanique très facilement et il y a donc possibilité d'infecter des plantes mécaniquement, comme par exemple le panicum lors de la fauche.

Enfin ils sont tous, (sauf le GGMV-A) transmis par puceron sur le mode non-persistant. Dans le cas du panicum, nous n'avons jamais pu réussir la transmission, mais c'est peut-être tout simplement une question de plante.

On peut observer des colonies de pucerons sur certaines plantes : *Rhopalosiphum maidis* sur le maïs, *Aphis craccivora* sur arachide, ou *Aphis spiraecola* sur le pois sabre, mais par contre dans d'autres cas les pucerons ne font que passer comme sur l'igname ou la passiflore.

Les pucerons, dont les espèces et les populations sont nombreuses en Afrique de l'Ouest sont donc responsables de la plus grande partie de la dissémination des potyvirus dans cette région.

COMPARAISON DES METHODES DE PURIFICATION DES POTYVIRUS DE COTE D'IVOIRE

Pour l'ensemble des potyvirus, nous pouvons utiliser le même schéma de purification avec cependant quelques variations selon les plantes de départ ou les virus.

Nous procédons toujours à un broyage en tampon phosphate, de force ionique élevée 0,2 à 0,5 M avec un pH de 7,5 à 8,4.

Le broyat est clarifié avec du chloroforme, sauf dans le cas des GGMV où nous utilisons le TRITON X-100.

Nous concentrons et purifions par des centrifugations différentielles. Dans le cas du PRSV, du PVMV et du GESV nous pouvons concentrer le virus par précipitation au sulfate d'ammonium alors que nous utilisons le polyéthylène glycol pour le CaMV et le CuMV.

Tous les potyvirus peuvent être repris dans du tampon phosphate 0,2 M pH 8,2 avant d'être purifiés sur gradient de saccharose.

Après quoi ils seront concentrés et remis en suspension dans de l'eau, ou bien du tampon phosphate 0,01 M pH 8.

La propriété des virus est vérifiée par spectrophotométrie où nous obtenons un spectre identique pour tous les potyvirus :

maximum à 260 nm, minimum à 247 nm

Rapport 260/280 = 1.20 et Rapport M/m = 1.10

Ces caractéristiques nous indiquent une teneur en acides nucléique maximale de 5 %.

Le rendement des purifications de potyvirus se situe toujours entre 10 et 50 mg/kg de feuilles malades, ce qui rend leur étude très difficile.

COMPARAISON DES LONGUEURS DES POTYVIRUS DE COTE D'IVOIRE

Nous avons effectué des histogrammes de longueurs de potyvirus soit à partir de jus brut de plante malade, soit à partir de suspensions de virus purifié. Après adsorption sur film de carbone, le virus est coloré par de l'acétate d'uranyl pendant 2 minutes.

Tous les potyvirus sont des virus filamenteux et flexueux. Le plus long est le GGMV dont les trois souches ont 820 nm de longueur. Le plus court est le CuMV avec 700 nm de long. Entre ces deux extrêmes, qui ne représentent que 17 % de variation, nous avons tous les intermédiaires.

De nombreux auteurs ont montré que la longueur des potyvirus était fonction du degré de purification ou de la plante hôte. Les valeurs que nous donnons ici, ont été reproductibles à 15 nm près.

La largeur des potyvirus est comprise entre 12 et 15 nm suivant les préparations.

Les potyvirus de Côte d'Ivoire sont donc représentatifs de l'ensemble des potyvirus (680-900 nm).

SEROLOGIE DES POTYVIRUS DE COTE D'IVOIRE

Pour chaque potyvirus, nous avons fabriqué un antiserum avec en général deux lapins. Le test sérologique utilisé est celui de la microprécipitation (10 µl d'antiserum + 10 µl de virus) sous huile de paraffine de Van SLOGTEREN (17).

Nous vérifions tout d'abord dans chaque cas, qu'il n'y a pas de précipitation aspécifique contre des protéines de plante, après quoi nous déterminons le titre homologue de chaque antiserum.

Ensuite, nous faisons les réactions croisées hétérologues et nous notons les différences par rapport au titre suivant la méthode du SDI de Van REGENMORTEL (16).

Dans un deuxième temps, chaque potyvirus purifié est testé contre un grand nombre d'antisera de potyvirus isolés dans le monde entier. Mais dans ces cas, nous n'avons pu réaliser la réaction réserve.

Les conclusions de ce travail sont :

- 1°) Tous les potyvirus isolés en Côte d'Ivoire sont reliés sérologiquement entre eux par au moins une liaison. Nous pouvons distinguer 3 types de liaisons :
 - A : les relations très étroites avec un SDI de 0 ou 1, comme entre le PVMV et les GESV, ou bien comme entre les trois souches de GGMV.
 - B : les relations moyennes, SDI = 3, 4 ou 5 : comme GGMV-PVMV, PVMV-YMV, CuMV-YMV, CaMV-PVMV...
 - C : les relations distantes, SDI supérieur à 6 comme le PRSV avec YMV, CuMV, PVMV et GESV.
- 2°) Il y a quelques réactions distantes avec des antisera de potyvirus connus, comme le GGMV-B avec MDMV-B, le CuMV avec le BYMV et le WMV-II, le PVMV est un potyvirus isolé du tabac au Kenya ou bien encore le PRSV avec le PWV.
- 3°) Pas de réactions sérologiques avec des potyvirus isolés et identifiés en Afrique, tel que le CABMV au Kenya (BOCK, 1971 (1)) ou le PnMV également au Kenya (BOCK, 1973 (2)).
- 4°) Pas de relations avec de nombreux antisera de potyvirus décrits dans le monde entier (c'est-à-dire pas de réaction supérieure au titre de 1/10).

Il apparaît donc que les potyvirus isolés en Côte d'Ivoire constituent un noyau de virus, indépendants de la majorité des autres potyvirus, avec cependant quelques relations avec certains membres du groupe.

Ils constitueraient un "phyllum" ayant la même origine ou du moins ayant subi la même évolution, alors que le CABMV et le PnMV seraient des souches issues de virus plus récemment introduits.

COMPARAISON DES POIDS MOLECULAIRES DES PROTEINES CAPSIDAIRES DES POTYVIRUS DE COTE D'IVOIRE

Nous avons déterminé le poids moléculaire des protéines capsidaires des potyvirus sur gels de polyacrylamide suivant la méthode de WEBER et OSBORN (20). Ils sont tous compris entre 32.500 et 36.000d, donc assez voisins les uns des autres. Par ailleurs ils ont tous des bandes de dégradation caractéristiques des potyvirus, le nombre de ces bandes varie de 2 à 7. Lorsque les virus sont stockés à 4°C leur protéine a en général un poids moléculaire aux alentours de 25 à 27.000 d. La sensibilité de ces protéines est différente suivant les virus considérés : le PRSV, le CaMV et le PVMV sont relativement stables, alors que le GGMV-B et le GESV sont extrêmement fragiles et presque toujours lysés.

Ces poids moléculaires des protéines capsidaires des potyvirus de Côte d'Ivoire sont tout à fait comparables à ceux des autres potyvirus puisqu'ils sont en général aux environs de 33.000 d.

COMPARAISON DES COMPOSITIONS EN ACIDES AMINES DES PROTEINES CAPSIDAIRES DES POTYVIRUS DE COTE D'IVOIRE

La composition en acides aminés des protéines capsidaires de virus a été proposée comme méthode de classification des virus (GIBBS A. (9), 1969). C'est pourquoi nous avons déterminé la composition en acides aminés des protéines capsidaires des potyvirus de Côte d'Ivoire après les avoir extraites et purifiées par la méthode au guanidine-LiCl de HILL et SHEPHERD (10), à partir de virus purifié.

Nous avons ensuite comparé ces compositions avec celles des autres virus des plantes, et ensuite avec celles des autres potyvirus (MOGHAL et FRANCKI (15)). Pour cela nous avons utilisé une méthode de comparaison statistique et descriptive, celle des analyses en composantes principales.

Lorsque l'on compare les potyvirus avec l'ensemble des virus de plante on voit que les potyvirus de Côte d'Ivoire se situent dans le même nuage que les autres potyvirus et donc que ce sont bien des potyvirus.

Par contre, lorsqu'on les compare uniquement avec les autres potyvirus, on s'aperçoit qu'ils forment un nuage distinct mais très proche.

Evidemment le nombre de virus concernés est faible puisque nous avons 9 virus de Côte d'Ivoire et 11 autres potyvirus, cependant on ne les trouve pas mélangés. On peut pratiquement retrouver l'arrangement spatial que l'on a obtenu par la sérologie, du moins dans les grandes lignes : GESV proche de PVMV, GGMV A, B et D ensemble, PRSV plus proche de PVMV et de CuMV que de GGMV...

Par contre, on ne retrouve pas les relations que l'on avait trouvées par sérologie avec les autres potyvirus : PRSV relié à PWV ... ce qui laisse penser que ce type de comparaison est plus complexe que les relations sérologiques.

CONCLUSION

Nous avons donc vu que les potyvirus sont très répandus dans l'Afrique de l'Ouest et qu'ils infectent de nombreuses plantes. Par conséquent, ils ont un impact certain sur les productions des plantes vivrières et ils constituent donc un frein au développement.

Les potyvirus que nous avons isolés en Côte d'Ivoire sont des potyvirus tout à fait classiques dans ce sens où ils sont transmis par pucerons, où leur longueur est entre 700 et 820 nm, et où le poids moléculaire de leur protéine capsidaire est identique à ceux déjà déterminés.

Cependant, si l'on tient compte de la sérologie et de la composition en acides aminés de leur protéine, il semble qu'ils constituent, à l'intérieur du groupe des potyvirus, un sous-groupe typiquement africain.

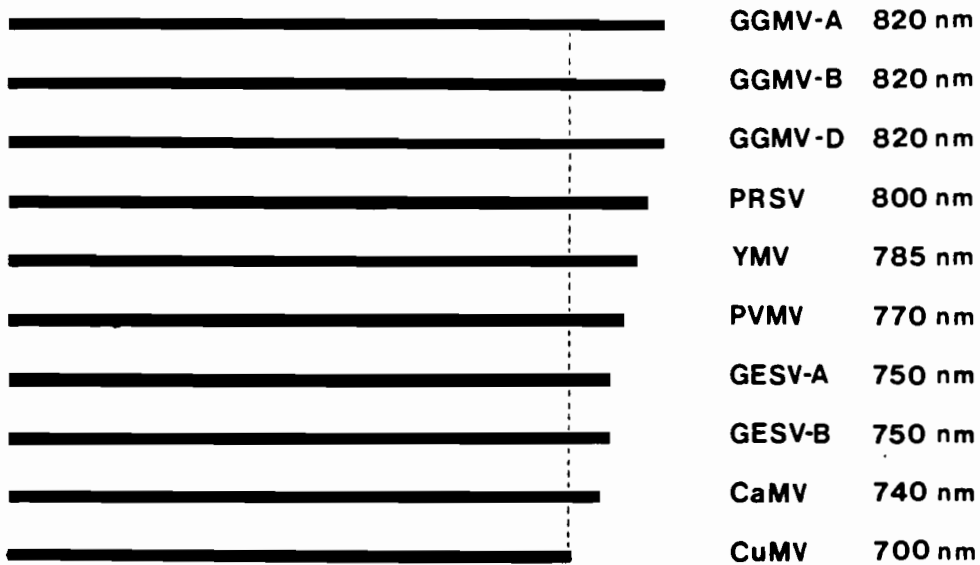
La découverte d'autres virus ainsi que la poursuite de nos études devraient nous permettre de confirmer cette hypothèse.

FAMILLE	GGMVA	GGMVB	GGMVD	GESV	CaMV	PVMV	CuMV	YMV	PRSV
GRAMINEAE	⊕	⊕	⊕	-	-	-	-	-	-
LEGUMINOSEAE	-	-	-	⊕	⊕	-	-	-	+
SOLANACEAE	-	-	-	+	+	⊕	-	-	+
CUCURBITACEAE	-	-	-	-	-	-	⊕	-	-
DIOSCOREACEAE	-	-	-	-	-	-	-	⊕	-
PASSIFLORACEAE	-	-	-	-	-	-	-	-	⊕
N.benthamiana	-	-	-	-	+	+	+	+	+
C.amaranticolor	-	-	-	-	+	+	+	-	+

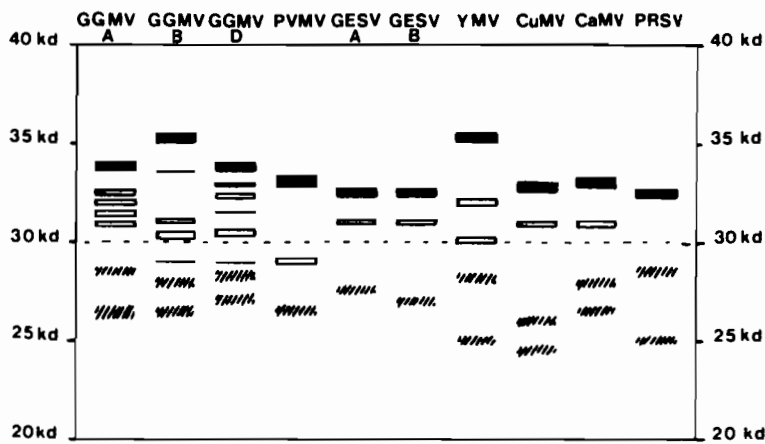
GAMME D'HOTES DES POTYVIRUS AFRICAINS
HOST RANGE OF AFRICAN POTYVIRUSES

VIRUS	TRANS. GRAINE	TRANS. APHIDE	ESPECES
GGMV-A	-	-	
GGMV-B	-	+	Rhopalosiphum maidis
GGMV-D	-	+	Histeroneura setariae
YMV	-	+	A. spiræcola A. craccivora R. maidis Toxoptera citricidus
CuMV	-	+	" A. gossypii
CaMV	-	+	" " "
GESV	-	+	"
PVMV	-	+	" " "
PRSV	-	+	" "

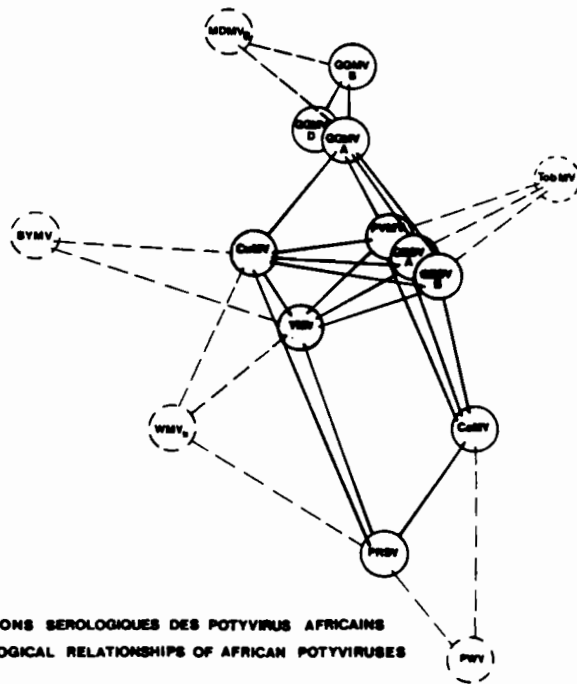
TRANSMISSION DES POTYVIRUS AFRICAINS
TRANSMISSION OF AFRICAN POTYVIRUSES



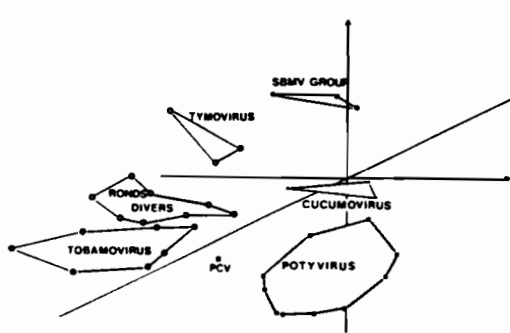
**COMPARAISON DES LONGUEURS DES POTYVIRUS AFRICAINS
COMPARISON OF AFRICAN POTYVIRUSES LENGTH**



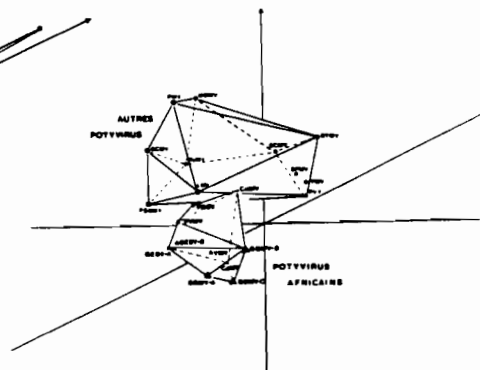
**COMPARAISON DES POIDS MOLECULAIRES DES PROTEINES
CAPSIDAIRES DES POTYVIRUS AFRICAINS
COMPARISON OF CAPSID PROTEIN MOLECULAR WEIGHT
OF AFRICAN POTYVIRUSES**



RELATIONS SEROLOGIQUES DES POTYVIRUS AFRICAINS
 SEROLOGICAL RELATIONSHIPS OF AFRICAN POTYVIRUSES



CLASSIFICATION TRIDIMENSIONNELLE DES VIRUS DE PLANTES SUIVANT LA
 COMPOSITION EN ACIDES AMINES DE LEUR PROTEINE CAPSIDAIRE
 TRIDIMENSIONAL CLASSIFICATION OF PLANT VIRUSES ACCORDING TO
 THE AMINO ACID COMPOSITION OF THEIR COAT PROTEIN



CLASSIFICATION TRIDIMENSIONNELLE DES POTYVIRUS SUIVANT LA COMPOSITION
 EN ACIDES AMINES DE LEUR PROTEINE CAPSIDAIRE
 TRIDIMENSIONAL CLASSIFICATION OF POTYVIRUSES ACCORDING TO THE
 AMINO ACID COMPOSITION OF THEIR COAT PROTEIN

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BOCK, K.R., 1973.- East African strains of Cowpea aphid-borne mosaic virus.
Ann. Appl. Biol., 74, 75-83.
- (2) BOCK, K.R., 1973.- Peanut mottle virus in East Africa.
Ann. Appl. Biol., 74, 171-179.
- (3) BRUNT, A.A. & R.H. KENTEN, 1971.- Pepper Veinal Mottle Virus, a new member of the Potyvirus group from peppers (*Capsicum annuum* L. and *C. frutescens* L.) in Ghana.
Ann. Appl. Biol., 69 : 235-243
- (4) BRUNT, A.A., R.H. KENTEN & S. PHILLIPS, 1978.- Symptomatically distinct strains of pepper veinal mottle virus from four West African solanaceous crops.
Ann. Appl. Biol., 88 : 115-119.
- (5) DUBERN, J. et M. DOLLET, 1975.- Observation d'une nouvelle maladie à virus en Côte d'Ivoire : la maladie des taches oscelées de l'arachide.
Diéagineux, Vol. 33, n° 4 : 175-177.
- (6) EDWARDSON, J.R., 1975.- Host-Ranges of Viruses in the PVY-group.
Florida Agricultural Experiment Stations Monograph. n° 5.
- (7) FAUQUET, C. et THOUVENEL, J.C., 1981.- Identification d'un nouveau potyvirus sur courgette (*Cucurbita pepo medullosa*) en Côte d'Ivoire.
C.R. Acad. Sc. Paris, t. 284, Série D (en préparation).
- (8) FAUQUET, C., THOUVENEL, J.C. et A. MONSARRAT, 1981.- Identification d'une maladie virale du *Canavalia ensiformis* en Côte d'Ivoire, dûe à un virus filamenteux de type potyvirus.
C.R. Acad. Sc. Paris, t. 284, Série D (en préparation).
- (9) GIBBS, A., 1969.- Plant Virus classification.
Advances in Virus Research n° 14 : 263-328.
- (10) HILL, J.H. & SEPHERD, R.J., 1972.- Biochemical properties of Turnip Mosaic Virus.
Virology, 47 : 807-816.
- (11) KUKLA, B., THOUVENEL, J.C., FAUQUET, C., 1981.- A new strain of Guinea Grass Mosaic Virus infecting pearl-millet in Ivory Coast.
Ann. Appl. Biol., (in preparation).
- (12) LANA, A.D., GILMER, R.M., WILSON, G.F. & SHOYINKA, S.A., 1975.- An unusual new virus, possibly of the potyvirus group from pepper in Nigeria.
Phytopathology, 65 : 1329-1332.
- (13) LAMY, D., THOUVENEL, J.C., FAUQUET, C., 1979.- A strain of Guinea Grass Mosaic Virus naturally occurring on maize in the Ivory Coast.
Ann. Appl. Biol., 93, n° 1 : 37-40.
- (14) MATTHEWS, R.E.F., 1979.- Classification and Nomenclature of Viruses.
Intervirology, Vol. 12, n° 3-5 : 1-296.
- (15) MOGHAL, S.M. & R.I.B. FRANCKI, 1976.- Towards a system for the identification and classification of Potyviruses.
Virology, 73 : 350-362.
- (16) Van REGENMORTEL, 1978.- Applications of Plant virus serology.
Ann. Rev. Phytopathology, 16 : 89-104.
- (17) Van SLOGTEREN, D.H.M., 1954.- Serological microprecipitations with plant viruses under paraffin oil.
Proc. 2nd Conf. on Potato Virus Diseases Lisse Wageningen. The Netherlands 25-29 June 1954, pp. 51-54.
- (18) THOUVENEL, J.C. & C. FAUQUET, 1980.- Yam Mosaic, a new potyvirus infecting *Dioscorea cayensis* in the Ivory Coast.
Ann. Appl. Biol., 93, n° 3, 279-283.
- (19) THOUVENEL, J.C., L. GIVORD & P. PFEIFFER, 1976.- Guinea Grass Mosaic Virus a New Member of the Potato Virus y Group.
Phytopathology, 66, n° 8, : 954-956.
- (20) WEBER, K. & OSBORN, M., 1969.- The reliability of molecular weight determination by SDS polyacrylamide gel electrophoresis.
Journal of Biological Chemistry 244 : 4406-4417.
- (21) De WIJS, J.J., 1973.- Pepper Veinal Mottle Virus in Ivory Coast.
Netherlands Journal of Plant Pathology 79 : 33-40.
- (22) De WIJS, J.J., 1974.- A virus causing ringspot of *Passiflora edulis* in the Ivory Coast.
Ann. Appl. Biol. 77 : 33-40.

1.2.6. LES VIROSES DE L'ARACHIDE EN AFRIQUE DE L'OUEST

DOLLET , M., DUBERN, J., FAUQUET, C., THOUVENEL, J-C. & BOCKELEE-MORVAN, A. (1986).
Groundnut viral diseases in West Africa. Proc. International Symposium on Virus Diseases
of Rice and Leguminous Crops in the Tropics, 1-5 October 1985, Tsukuba, Japan.

GROUNDNUT VIRAL DISEASES IN WEST AFRICA

DOLLET Michel*, DUBERN Jean**, FAUQUET Claude***, THOUVENEL Jean-Claude*** and
BOCKELEE-MORVAN André****

Respectively : *IRHO/CIRAD, **ORSTOM/CIRAD, BP 5035, 34032 Montpellier, France.
*** ORSTOM, BP V 51, Abidjan, Côte d'Ivoire ; all members of the LPRC (CIRAD/
INRA/ORSTOM), Laboratoire de Phytovirologie des Régions Chaudes. **** Division
Oléagineux Annuels, IRHO/CIRAD, 11 Square Pétrarque, 75116 Paris, France.

Abstract

This paper describes groundnut viral diseases observed in West Africa. Six viruses are identified and the most important of their properties are reported here : Peanut clump, Groundnut rosette, Groundnut eyespot, Groundnut crinkle, Tomato spotted wilt and Groundnut chlorotic spotting viruses. Four other diseases are described in parts : Groundnut streak, Groundnut mosaic, Groundnut flecking and Groundnut golden mosaic diseases. Some of them are economically very important as the two strains of rosette, Peanut clump and Tomato spotted wilt diseases. Others are apparently of minor importance though they are relatively frequent over space and time, as Groundnut eyespot, Groundnut crinkle, Groundnut streak and Groundnut golden mosaic diseases. The others appear very occasionally but are nevertheless taken in consideration ; some are very infectious, as Groundnut chlorotic spotting disease and they could become a danger within a few years.

GROUNDNUT VIRAL DISEASES IN WEST AFRICA

DOLLET Michel*, DUBERN Jean**, FAUQUET Claude***, THOUVENEL Jean-Claude*** and BOCKELEEE-MORVAN André****

Respectively : *IRHO/CIRAD, **ORSTOM/CIRAD, BP 5035, 34032 Montpellier, France. *** ORSTOM, BP V 51, Abidjan, Côte d'Ivoire ; all members of the LPRC (CIRAD/INRA/ORSTOM), Laboratoire de Phytovirologie des Régions Chaudes. **** Division Oléagineux Annuels, IRHO/CIRAD, 11 Square Pétrarque, 75116 Paris, France.

Introduction

The groundnut which is one of the most popular legume grown in West Africa, is naturally infected by a large number of virus or virus-like diseases. It is one of the most severely-infected tropical plants in number of viral diseases. Some of them were studied and viruses identified : Peanut clump virus (Thouvenel et al., 1976), Groundnut eye spot virus (Dubern and Dollet, 1980), Groundnut crinkle virus (Dubern and Dollet, 1981), Groundnut rosette virus (Dubern, 1980), Tomato spotted wilt virus (Dubern and Fauquet, 1985) and Groundnut chlorotic spotting virus (Fauquet et al., 1985). The most important properties according to different aspects are reported. Some other diseases are only described in parts : Groundnut streak (Fauquet and Thouvenel, 1985), Groundnut mosaic, Groundnut flecking and Groundnut golden diseases (Dubern, 1979). There are also different symptoms which could be attributed to viral diseases as rugose leaf, Groundnut leaf-curl, Groundnut bushy stunt ; their etiology is at present unknown.

Peanut clump virus

Peanut Clump Virus (PCV), R/1: 2.1/4: E/E: S/Fu. Intermediate between hordeivirus and tobamovirus groups (Furovirus ?).

Main disease and geographical distribution

The disease reappears in the same place in succeeding crops. Infected peanut plants are stunted, with small dark green leaves (Fig. A1). Number and size of pods are greatly reduced ; in the case of early infections the crop loss is very important, up to 60 %. PCV is also identified in great millet (Sorghum arundinaceum) which is taking a prominent part in the epidemiology of the disease (Dollet et al., 1976).

PCV was first described in Senegal. It occurs in several West African countries : Burkina Faso, Gambia, Ivory Coast and Senegal (Thouvenel et al., 1976).

Host range and symptomatology

The virus is mechanically transmitted to a wide host range in the families of Aizoaceae, Amaranthaceae, Chenopodiaceae, Cucurbitaceae, Gramineae, Leguminoseae, Scrophulariaceae and Solanaceae. Symptoms on Chenopodium amaranticolor (concentric ringspots and line-pattern extending along the veins) are characteristic and could be useful for an identification (Thouvenel and Fauquet, 1981).

Serology

An antiserum with a titre of 1/2048 was produced. There is no serological relationship with any rod-shaped virus, including the strain isolated in India (Reddy et al., 1983).

Transmission by vectors

A fungus, Polymyxa graminis is thought to be the natural vector of PCV

(Fig. 1B). PCV is seed borne in groundnut, but not in great millet.

Causal agent

PCV is a virus with rod-shaped particles of 2 predominant lengths, 190 and 245 nm (Fig. 1C). They are about 21 nm wide. The single stranded RNA is about 4 % of the particle weight, with 2 components of about 1.7 and 2.1 10^6 d. The molecular weight of the coat protein is 24 Kd (Fauquet and Thouvenel, 1985). Virus particles in systemic hosts arranged in angled-layer aggregates (Dollet and Thouvenel, unpublished) (Fig. 1C).

Field control

Clump disease is easily prevented, using selected seeds and by soil treatment with fungicides preliminary to the set up of the crop.

Strain

Only in Burkina Faso a yellow mosaic disease was observed. Groundnut, with a slight reduction in size, showed bright yellow symptoms, with eyespots, discoloration along the veins and sometimes yellowing (Fig. 1D). There is no cross-protection between the green strain and the yellow strain and vice versa, consequently it is possible to find double infected plants with the mixed symptoms. The presence and the effective transmission by Polymyxa graminis was also confirmed for this strain (Fauquet and Thouvenel, 1985).

Groundnut rosette virus

Groundnut Rosette Virus (GRV), */*: */*: S/S: S/Ap. Unclassified. Groundnut rosette disease consists of a symptom-inducing virus (GRV) and a symptomless assistor luteovirus (GRAV) which is needed for aphid transmission (Dubern, 1980 ; Casper et al., 1983).

Main disease and geographical distribution

Typical symptoms are stunting of the leaves, severe internal shortening making plant almost acaulous (Fig. 2A), the limb of the leaves is chlorotic with green spots and the veins are green and conspicuous (Groundnut chlorotic rosette virus strain -GCRV-). These symptoms differ in some strains, but always with stunting and rosette appearance. The number of seeds in a pod and the number of pods is severely decreased (20-80 %).

The groundnut rosette appears in the whole of West Africa.

Host range and symptomatology

For GCRV diagnostic species are Arachis hypogea (chlorotic rosette), Centrosema plumieri, Crotalaria juncea, Phaseolus mungo, Stylosanthes gracilis and Physalis floridana. Chenopodium amaranticolor, C. murale and C. quinoa, specially are useful local lesion hosts. Stylosanthes sp. is a natural host (Dubern, 1980);

Transmission by vectors

The virus is aphid-transmitted in groundnut, some leguminous plants and Physalis floridana (Dubern, 1980). An assistor virus not mechanically transmitted is needed for transmission (Hull and Adams, 1968). Larvae and adults of Aphis craccivora, A. gossypii and A. spiraecola transmit the virus in the persistent manner. No seed or dodder transmission has been observed.

Causal agent

Isometric viruses of 30 nm in diameter (Fig. 2B), observed with electron microscope, are members of the luteovirus group and seem related with the assistor component (GRAV) (Dubern, unpublished ; Casper et al., 1983). A double stranded RNA is associated with the GRV (Breyel et al., 1985).

Strain

A Groundnut green rosette virus strain (GGRV) was studied (Fauquet and

Thouvenel, 1985). For short cycle varieties whole infected plant is chlorotic without green patches on the leaflets. For long cycle varieties, in case of an early infection, the rosette shape is extremely clumped (Fig. 2C), the leaves are dark green and very reduced in surface, there are proliferations on the stems and necrosis on the veins of the young leaves (Fig. 2D). GGRV is certainly a strain of GRV, because of a cross protection of the one by the other.

Groundnut varieties resistant to rosette disease

Methods of chemical control against the aphid vector are efficient but onerous and it is impossible to take precautions against the transfer of aphids by the wind, though high density sowing favours the establishment of a microclimate which prevents the aphid from growing wings and limits transmission. The only efficient and radical means of control is to plant resistant varieties.

Surveys in South Burkina and North Ivory Coast have enabled resistant plants to be discovered, all of the Virginia type, with a long cycle and low production. A first breeding phase in Bambey (Senegal) and in Niangoloko (Burkina) from populations enabled long cycled resistant varieties to be made available ; they were distributed during the sixties (Bambey variety 48-37, Niangoloko series 1030-1045).

In a second phase, very productive resistant hybrids were created and adapted to different climatic zones :

- KH series (149 A, 241 C, etc...), Spanish type with a cycle of 90 days ;
- 69-101, Virginia type with a cycle of 120 days ;
- RMP series (12, 91, etc...), Virginia type with a cycle of 140 days.

(Dhery and Gillier, 1971 ; Gillier and Bockelee-Morvan, 1975).

The goal of breeding programmes in progress is to create varieties resistant both to groundnut rosette disease and to the most damaging cryptogamic diseases: Rust and Cercospora leaf spot.

Groundnut eyespot virus

Groundnut Eyespot Virus (GEV), R/1 : 3.1/6 : E/E : S/Ap. Potyvirus group.

Main disease and geographical distribution

Typical symptoms are dark green spots surrounded by a chlorotic halo (Fig. 3A). Sometimes many leaflets show green line patterns. No stunting was observed. Crop yield could be reduced and infected plants can reach 100 %.

Physalis floridana is a natural host.

The disease was observed only in the Centre and the North of the Ivory Coast, in Burkina Faso and Mali.

Host range and symptomatology

Diagnostic species are Arachis hypogea (eyespot), Physalis alkekengi, P. floridana, Petunia hybrida, Nicotiana clevelandii, Tetragona expansa, Anthirrhinum majus. Arachis hypogea and Physalis alkekengi are suitable for testing infectivity.

Transmission by vectors

Transmission by Aphis craccivora and A. citricola was realized in the non-persistent manner. No seed transmission was observed.

Serology

GEV is closely related to several african potyviruses (Fauquet and Thouvenel, 1980) as Pepper veinal mottle, Guinea grass mosaic, Passion fruit ringspot, Canavalia mosaic and Cucurbita mosaic virus but failed to react with antisera to many other potyviruses including Peanut mottle virus.

Causal agent

The virus particles are flexuous filaments about 12.5 nm wide and 750-780 nm long (Dubern and Dollet, 1980). The nucleic acid comprises 5.5 to 6.5 % of the weight of the particles. The molecular weight of the coat protein is 32 Kd. Cylindrical inclusions and scrolls have been observed (Fig. 3B).

Groundnut crinkle virus

Groundnut Crinkle Virus (GCV), R/1: */6: E/E: S/AI. Carlavirus group.

Main disease and geographical distribution

Leaf crinkling and stippling symptoms are observed on leaves (Fig. 3C). Crinkling is very slight, as if the primary vein was too short. The frequency of diseased plants is often more than 50 %, and the production is slightly reduced. Centrosema pubescens is a natural host. The disease was observed in the Southern part of the Ivory Coast.

Host range and symptomatology

Diagnostic species are Arachis hypogea, Canavalia ensiformis, Centrosema pubescens, Dolichos jacquinii, Phaseolus vulgaris, P. latheroides, Psophocarpus tetragonolobus, Soja max, Vigna unguiculata. Only leguminous plants are infected.

Transmission by vectors

Bemisia tabaci (Aleyrodidae) transmits the disease in the non-persistent manner (Fauquet and Thouvenel, 1985). No seed transmission was observed.

Serology

GCV is related to Cowpea mild mottle virus (SDI = 2) and to Voandzeia mosaic virus (SDI = 4).

Causal agent

The virus particles are flexuous filaments about 13.5 nm wide and 650 ± 25 nm long. Polymeric forms are observed with lengths of 1300, 2000, 2600 and 3200 nm (Fig. 3D) (Dubern and Dollet, 1981). The nucleic acid comprises 6 % of the weight of the particles. The molecular weight of the coat protein is 34 Kd.

Groundnut chlorotic spotting virus

Groundnut Chlorotic Spotting Virus (GCSV), R/1: */7.5: E/E: 1/Ap. Potexvirus.

Main disease and geographical distribution

Small chlorotic spots are appearing (Fig. 4A) first on the young leaves, then chlorosis, mottle, ringspots, vein-banding and line patterns are developing. The virus has been isolated in Ivory Coast only.

Host range and symptomatology

The virus is easily mechanically transmitted to a rather wide host range in the Solanaceae (Physalis floridana, Nicotiana megalosiphon, Nicotiana benthamiana and Chenopodiaceae.

Transmission by vector

The virus is 100 % transmitted by the aphids : Aphis craccivora and Aphis spiraecola, in the non-persistent manner. The seed transmission was not tested.

Serology

An antiserum with a titre of 1/512 has been produced. No serological relationship with Potex and Carlaviruses has been obtained.

Causal agent

The virus particles are filamentous particles of 534 ± 20 nm in length and 13 ± 2 nm in width (Fig. 4B) (Fauquet et al., 1985).

Tomato spotted wilt virus

Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) : R/1: 7.4/*: Se/*: (I),S,/Ve/th.

Tomato spotted wilt virus group.

Main disease and geographical distribution

On groundnut TSWV induces a faint but distinct ringspot and line pattern symptom. Sometimes, they are necrotic spots or streaks, with or without stunting. In some circumstances, groundnut develops chlorotic spots, like strokes of a brush (Fig. 4C). Yield of diseased plants is low, about 10 % of healthy plants. The percentage of diseased plants in Senegal is about 5 %.

In West Africa, the presence of TSWV was newly recognized (Dubern and Fauquet, 1985). It is widespread in Senegal and Gambia.

Host range and symptomatology

Diagnostic species are Petunia hybrida (local necrotic lesions), Arachis hypogea, Nicotiana tabacum cv. Samsun NN, N. clevelandii, Vinca rosea, Tropaelum majus.

Transmission by vectors

Authors realized the transmission with the thrips : Thrips tabaci, Frankliniella schultzei, F. occidentalis and F. fusca (Best, 1968). The larvae but not the adults acquire the virus ; whereas only the adults transmit. They do not transmit through their progeny. Seed transmission is reported in tomato but not in groundnut (Helms, 1960; Best, 1968).

Causal agent

Virus particles are isometric with 80-90 nm in diameter, apparently bounded by a membrane. TSWV is the only one plant virus particle known to have this structure (Fig. 4D).

Groundnut virus-like diseases

These diseases were partly identified and observed in the Ivory Coast (Dubern, 1979 ; Fauquet and Thouvenel, 1985). Graft and mechanical transmissions, and sometimes electron microscopy were studied.

Symptomatology

Groundnut Streak Disease : The leaflets of the infected plants present necrotic or chlorotic streaks from the main vein to the minor veins. Symptoms are very intense on young seedlings but disappear on old plants (Fig. 5A).

Groundnut Mosaic Disease : A typical mosaic is observed on the leaves, delimiting irregular dark green spots on the limb, malformation and elongation of the leaflets (Fig. 5B). **Groundnut Golden Disease :** On diseased plants, leaflets seem not completely spread out ; apical part of the leaflets are yellow while the basal part is green (Fig. 5C). **Groundnut Flecking Disease :** A very faint flecking is observed on the basal parts of the leaflets, similar to a thrips damage. Moreover the basal parts of the leaflets are narrow and the leaves are smaller than the healthy one (Fig. 5D).

Transmission by vectors

Only groundnut mosaic and groundnut streak diseases are transmitted by Aphis craccivora, and the second one in the non-persistent manner.

Particle structure

Filamentous viruses were observed for groundnut streak disease without length determination (Fauquet and Thouvenel, 1985).

References

- 1) Best, R.J. (1968) : Tomato spotted wilt virus. *Adv. Virus Res.*, 13, 66-146.
- 2) Breyel, E., Gross, G., Casper, R., Meyer, S., Kuhn, C.W., Demski, J.W., Ansa, O.A. and Misari, S.M. (1985) : Molecular cloning of a ds RNA associated with groundnut rosette disease. A.A.B. Virology meeting "New developments in techniques for virus detection". Univ. Cambridge, 10-12 April (Abstract).
- 3) Casper, R., Meyer, S., Lesemann, D.E., Reddy, D.V.R., Rajeshwari, R., Misari, S.M. and Subbarayudu, S.S. (1983) : Detection of a luteovirus in groundnut rosette diseased groundnuts (Arachis hypogea) by ELISA and IEM. *Phytopath. Z.*, 108, 12-17.
- 4) Dhéry, M. and Gillier, P. (1971) : Un nouveau pas dans la lutte contre la rosette de l'arachide. *Oléagineux*, 26 n° 4, 243-251.
- 5) Dollet, M., Fauquet, C. and Thouvenel, J.C. (1976) : Sorghum arundinaceum, a natural host of peanut clump virus in Upper-Volta. *Plant. Dis. Rptr.* 60, 1076-1080;
- 6) Dubern, J. (1979) : Quelques maladies de l'arachide observées en Côte d'Ivoire; *Phytopath. Z.*, 96, 193-207.
- 7) Dubern, J. (1980) : Mechanical and aphid transmission of an Ivorian strain of groundnut rosette virus. *Phytopath. Z.*, 99, 318-326.

- 8) Dubern, J. and Dollet, M. (1980) : Groundnut eyespot virus, a new member of the potyvirus group. *Ann. Appl. Biol.*, 96, 193-200.
- 9) Dubern, J. and Dollet, M. (1981) : Groundnut crinkle virus, a new member of the carlavirus group. *Phytopath. Z.*, 99, 337-347.
- 10) Dubern, J. and Fauquet, C. (1985) : La maladie bronzée de la tomate au Sénégal. 4th International Conference on the Impact of Viral Diseases on the Development of African and Middle East Countries. Rabat, Morocco, April 14-19.
- 11) Fauquet, C. and Thouvenel, J.C. (1980) : Influence des potyvirus sur le développement des plantes en Côte d'Ivoire. Second International Conference on the Impact of Viral Diseases on the Development of African and the Middle East Countries. Nairobi, Kenya, December 1-10.
- 12) Fauquet, C. and Thouvenel, J.C. (1985) : Viral Plant Diseases in the Ivory Coast. Ed. ORSTOM. Initiation Documentation Technique (in press).
- 13) Fauquet, C., Thouvenel, J.C. and Fargette, D. (1985) : Une nouvelle maladie virale de l'arachide en Côte d'Ivoire, la maladie des taches chlorotiques de l'arachide. *C. R. Acad. Sc. Paris* (in press).
- 14) Gillier, P. and Bockelee-Morvan, A. (1975) : Sélection de l'arachide en vue de la résistance à la rosette et à l'Aspergillus flavus. Séminaire d'étude Agriculture et Hygiène des Plantes. Centre de Recherches Agronomiques, B 5800 Gembloux (Belgique), 47-52.

- 15) Helms, K., Grylls, N.E. and Purss, G.S. (1961) : Peanut plants in Queensland infected with tomato spotted wilt virus. Australian J. Agr. Res., 12, 238-248.
- 16) Hull, R. and Adams, A.N. (1968) : Groundnut rosette and its assistor virus. Ann. Appl. Biol., 62, 139-145.
- 17) Reddy, D.V.R., Rajeshwari, R., Iizuha, N., Lesemann, D.E., Nolt, B.L. and Goto, T. (1983) : The occurrence of Indian peanut clump, a soil-borne virus disease of groundnuts (Arachis hypogea) in India. Ann. Appl. Biol., 102, 305-310.
- 18) Thouvenel, J.C., Dollet, M. and Fauquet, C. (1976) : Some properties of peanut clump, a newly discovered virus. Ann. Appl. Biol., 84, 311-320.
- 19) Thouvenel, J.C. and Fauquet, C. (1981) : Further properties of peanut clump virus and studies on its natural transmission. Ann. Appl. Biol., 97, 99-107.
- 20) Thouvenel, J.C. and Fauquet, C. (1981) : Peanut clump virus, CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses, n° 235.

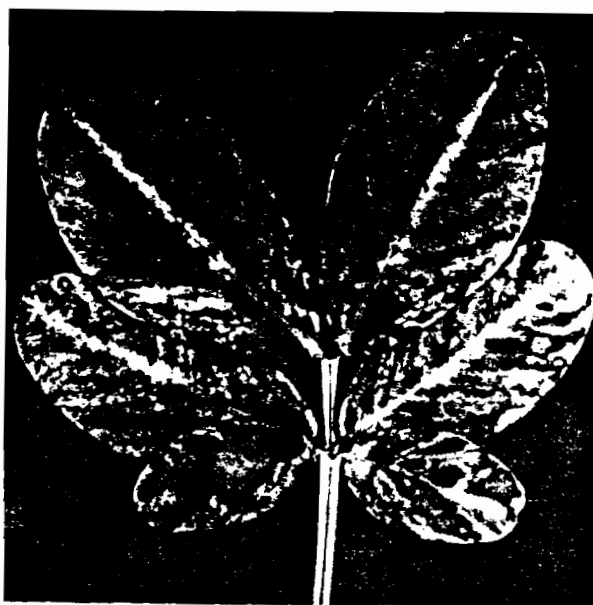


Fig. 1 : (A) Typical symptoms of Peanut clump virus, green strain (left), healthy plant on the right.

(B) Cystosori of Polymyxagraminis in Sorghum arundinaceum root cells.

(C) Rod-shaped particles of Peanut clump virus. Inset : angle layered particles in a Chenopodium amaranticolor parenchyma cell.

(D) Yellow symptoms on a groundnut leaf induced by PCV-AY.

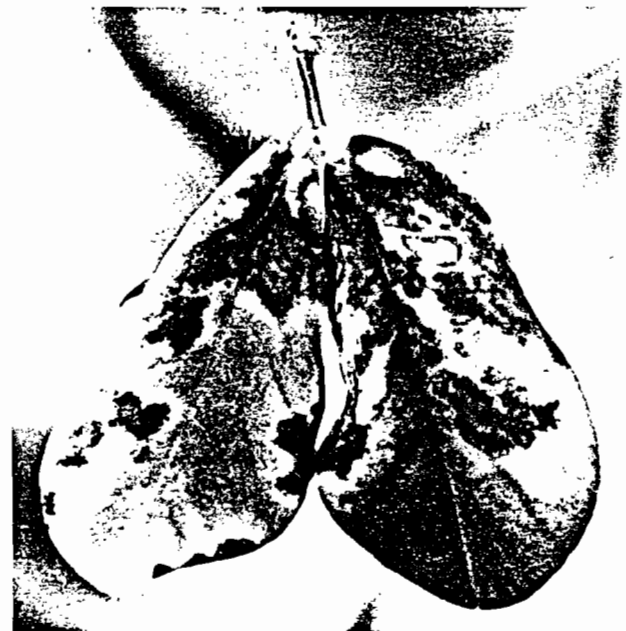
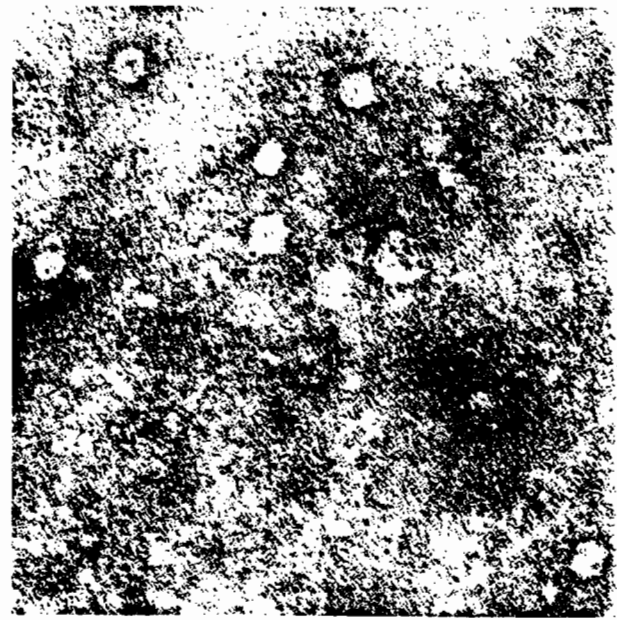


Fig. 2 : (A) Groundnut chlorotic rosette virus : young stems with typical rosette and chlorotic leaflets with mottle.
(B) Groundnut rosette virus : isometric particles with 28-30 nm in diameter.
(C) Typical symptoms of Groundnut green rosette virus on a long cycle cv. groundnut.
(D) Necrosis symptoms appearing on the first leaves, infected with Groundnut green rosette virus.

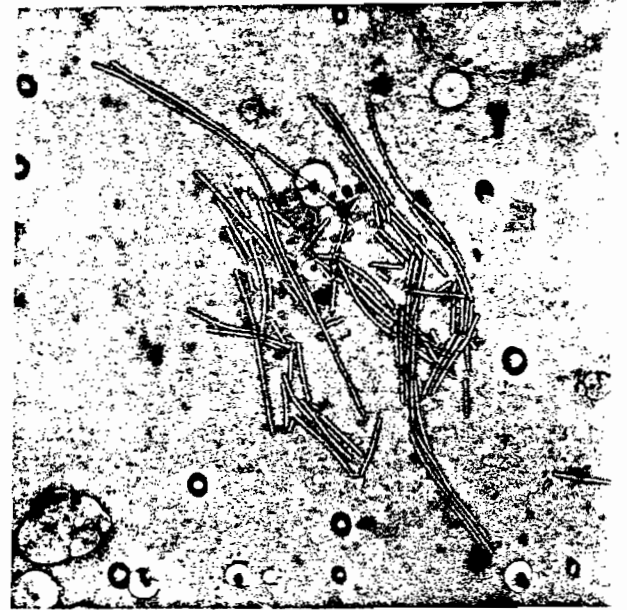
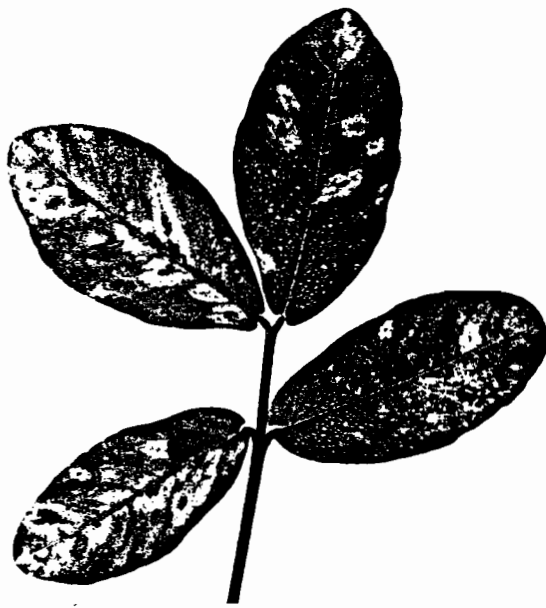


Fig. 3 : (A) Groundnut eyespot virus : typical symptoms of dark-green space into chlorotic halos.
(B) Groundnut eyespot virus : pinwheels inclusions, typical of potyviruses.
(C) Groundnut crinkle virus : symptoms of crinkling and stippling on groundnut leaves.
(D) Groundnut crinkle virus : particles of 650 nm long and polymeric forms.

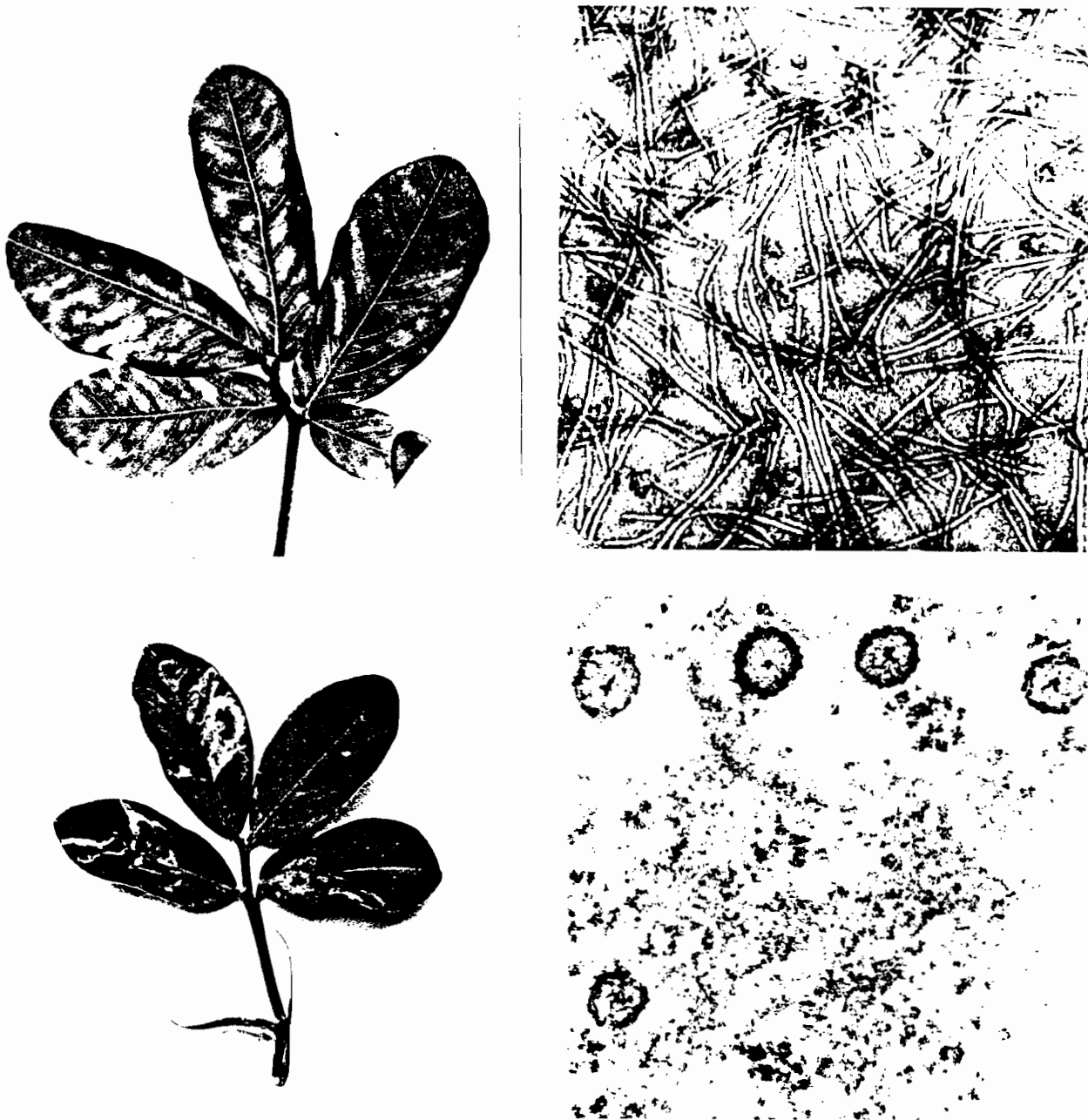


Fig. 4 : (A) Symptoms of groundnut chlorotic spotting virus on groundnut leaf.
(B) Groundnut chlorotic spotting virus particles of 453 nm in length.
(C) Groundnut infected with tomato spotted wilt virus showing strokes of a brush.
(D) Tomato spotted wilt virus particles with a diameter of 80-95 nm, observed in groundnut cytoplasm.

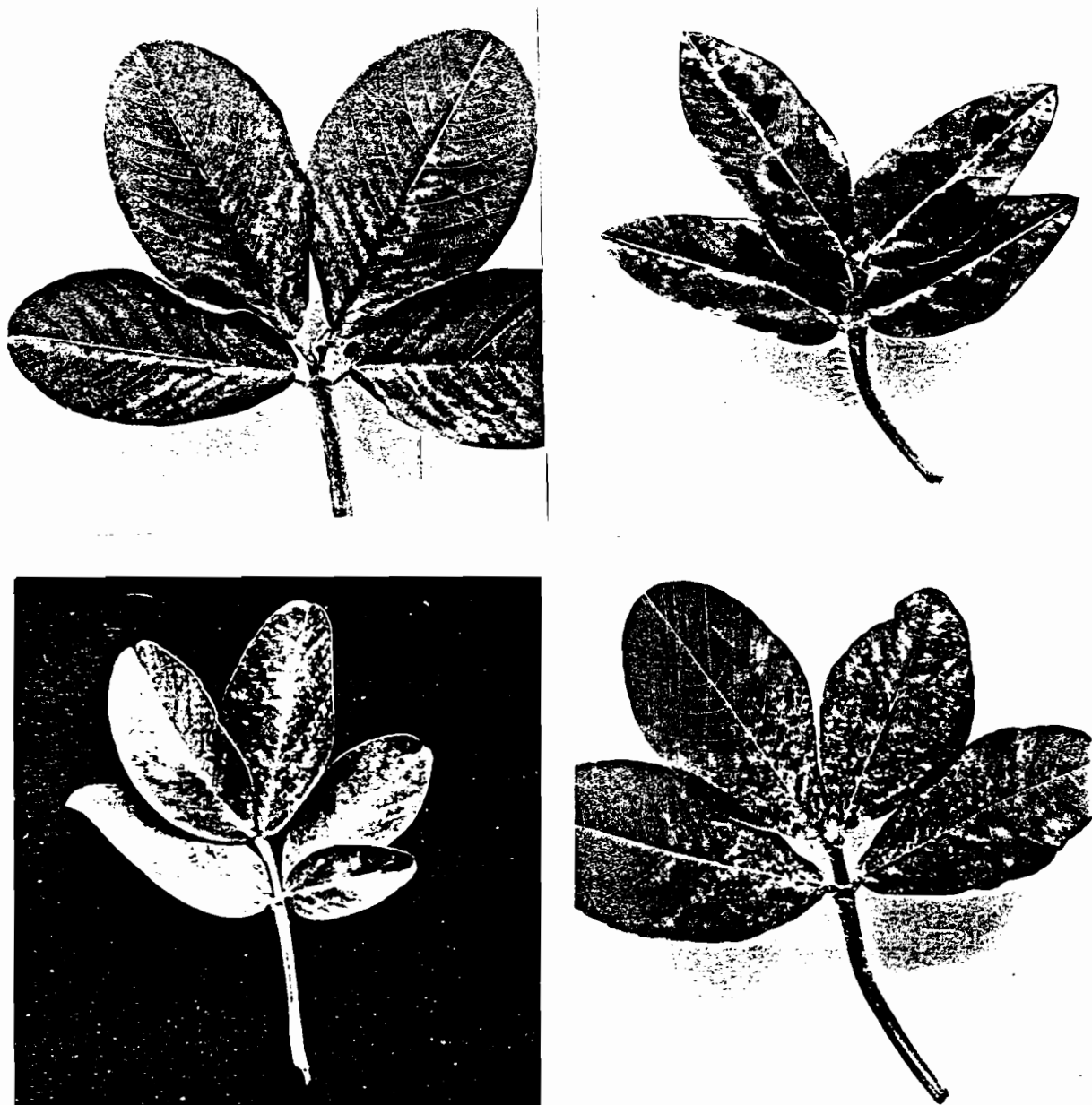


Fig. 5 : (A) Groundnut streak disease with chlorotic and necrotic streaks between the secondary veins.

(B) Groundnut mosaic disease with malformation, dark green and irregular spots without chlorosis.

(C) Groundnut golden mosaic disease with yellowing of the apical part of the leaflets which are not completely unfolded.

(D) Groundnut flecking disease, with faint flecking on the leaves and light narrowing of the basal parts of the leaflets.

1.2.7. LES VIROSES DE L'IGNAME EN COTE D'IVOIRE

17 Les viroses de l'igname en Côte d'Ivoire

J.-C. THOUVENEL et C. FAUQUET

Résumé

Les tournées conduites à travers la Côte d'Ivoire ont permis de reconnaître la présence d'au moins trois maladies d'origine virale. Parmi celles-ci, la plus répandue est causée par un virus filamenteux encore non décrit, et appartenant au groupe des potyvirus. Cette maladie, caractérisée par une mosaïque, est transmissible mécaniquement; cependant, le type naturel de transmission se fait par l'intermédiaire d'aphides, de manière non persistante, ou surtout par la voie végétative. Des essais de thermothérapie sur les tubercules de pieds malades n'ont pas abouti. Par contre, le virus ne se transmet pas par la graine. Une méthode de purification du virus à partir des feuilles d'igname a été mise au point, et un antiserum spécifique de titre 1/2 048 est disponible.

Summary

At least three virus diseases have been found during different field surveys in the Ivory Coast. The most widespread of them is caused by a filamentous virus which has not yet been described and which belongs to the potyvirus group. This is a mosaic disease which is mechanically transmissible; however, the usual way of transmission is either by aphids, or more commonly through vegetative reproduction. Thermotherapy tests with tubers from diseased plants have not been successful. On the other hand, the virus cannot be transmitted through the seed. A method of purifying the virus from yam leaves has been worked out and a specific antiserum (1/2 048) is available.

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

En 1957, Miège avait signalé la présence d'une maladie causée par un virus en Côte d'Ivoire, mais déjà en 1938 West au Nigéria, en 1956 Deighton en Sierra Leone, ainsi que Girardot au Liberia avaient rapporté l'existence de viroses sur igname. Après quelques années où les recherches ont peu avancé, probablement en raison des difficultés rencontrées avec ce matériel végétal, l'étude de ces maladies a été reprise et plusieurs virus ont été identifiés en Afrique et dans d'autres parties du monde (Harrison and

Roberts 1973; Waterworth, Lawson, and Kahn 1974; Migliori et Cadilhac 1976; Thouvenel et Fauquet 1977).

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

Enroulement de l'igname (leaf-curl)

Cette virose trouvée dans la région de N'Douci sur *Dioscorea cayenensis* est en cours d'étude, l'agent causal est encore non identifié. Les pieds malades présentent un enroulement des feuilles qui par ailleurs s'épaissent et prennent une teinte plus claire. Les bords se gaufrent donnant à la feuille une certaine ressemblance avec un coquillage (Fig. 17.1). Cette maladie se transmet mécaniquement à *D. cayenensis*, les symptômes sur les plantules inoculées apparaissent en cinq à sept jours, d'abord une chlorose internervaire, puis la feuille prend une forme de cuillère ainsi qu'une teinte vert-jaunâtre



Fig. 17.1. Feuille d'igname avec un symptôme d'enroulement.

uniforme. La croissance de la plante est très ralentie. Les essais de transmission par différents insectes ont montré que les aphides étaient vecteurs sur le mode non-persistant.

Feuilles en lacets de l'igname (shoe-string)

Observée en Côte d'Ivoire uniquement dans la région de Bouaké avec des symptômes très caractéristiques, cette maladie encore non identifiée est probablement identique à celle décrite au Nigéria (Terry 1976). Cette appellation lui a été donnée en raison de l'aspect très particulier que prennent les feuilles, le limbe disparaît presque entièrement, la feuille se vrille sur elle-même (Fig. 17.2). On assiste à une prolifération des bourgeons axillaires donnant un aspect buissonnant à la plante. Cette maladie se transmet par le tubercule, mais nous n'avons pas encore réussi à la transmettre mécaniquement. De plus, des tubercules malades plantés en région côtière (sud de la Côte d'Ivoire) ont donné naissance à des plantes présentant des symptômes très atténués, proches de ceux dus à la mosaïque de l'igname; il n'est donc pas à exclure que les symptômes violents observés en certaines occasions soient les conséquences d'une localisation dans une zone climatique plus sèche. Cette maladie ne doit pas être confondue avec les 'balais de sorcière' parfois observables sur les ignames de Côte d'Ivoire dans des



Fig. 17.2. Symptômes en lacets sur rameau d'igname.

conditions de forte pluviosité, ceux-ci sont causés par un champignon: *Bagnisiopsis dioscoreae*.

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

Ces symptômes particulièrement spectaculaires sur les plants de *D. esculenta* (Fig. 17.3) semblent causés par une virose transmise par le tubercule; toutefois les essais de transmission mécanique ont échoué. L'agent causal semble être différent de celui responsable de la mosaïque. En raison de la fréquence avec laquelle on trouve ces symptômes au champ, les recherches se poursuivent activement. Le vecteur de cette maladie est inconnu.

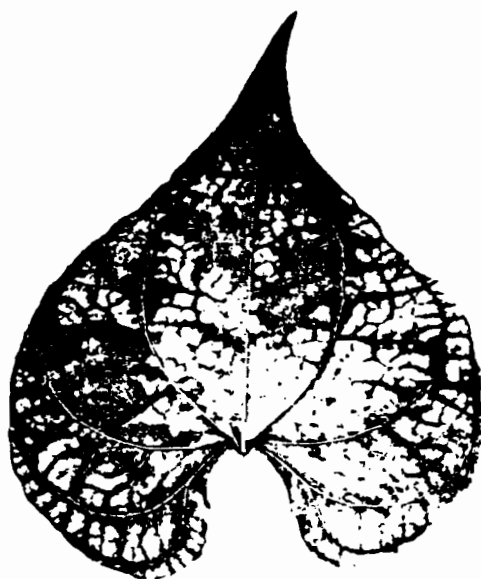


Fig. 17.3. Chlorose sur feuille de *D. esculenta*.

Mosaïque de l'igname

Alors que les maladies citées auparavant n'atteignent qu'un nombre limité de plantes, la mosaïque constitue un problème majeur justifiant l'étude approfondie qui en a été faite. Assez rare dans le nord du pays (où les maladies sont en général plus rares du fait du climat), elle peut atteindre certains champs à 100 pour cent dans la région forestière.

Les symptômes sont très variables en fonction des cultivars et suivant l'état physiologique de la plante. Ils sont parfois presque imperceptibles, se réduisant à de légères chloroses sur certaines feuilles; à d'autres moments ils

sont très violents, déformant la feuille par des cloques et des boursouflures; il est parfois possible d'observer une moucheture ou des ponctuations régulières, ou encore un liseré des nervures qui ressemble beaucoup au 'vein-banding' signalé par Terry au Nigéria (1976). Sur un même plant les symptômes peuvent varier considérablement d'une feuille à l'autre. Les plants obtenus à partir de graines et inoculés très jeunes présentent en général les symptômes les plus forts (Fig. 17.4).

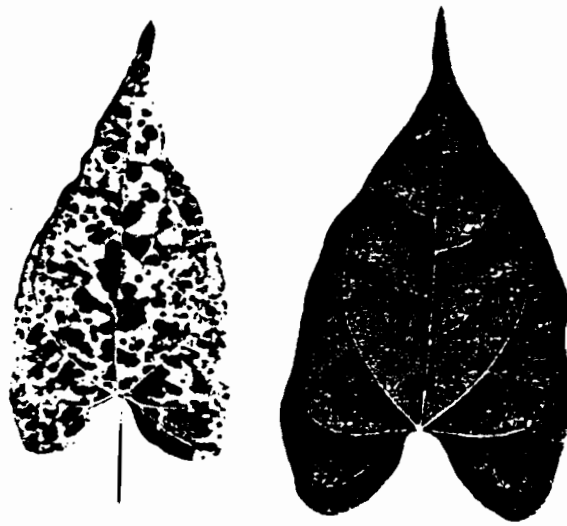


Fig. 17.4. Mosaïque de l'igname sur feuille de *D. cayenensis*: à droite feuille de plant sain.

Cette maladie se transmet mécaniquement à *D. cayenensis*, *D. preussii*, et *D. liebrechtsiana*; elle a été observée sur *D. alata* et *D. trifida*. Par contre, elle n'atteint pas *D. bulbifera*, *D. composita*, et *D. floribunda*.

Dans les autres familles, seule une Solanacée: *Nicotiana benthamiana* s'est montrée hôte pour le virus.

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

Des essais de transmission ont été effectués avec plusieurs espèces d'insectes, en particulier avec ceux trouvés le plus fréquemment sur igname. Ils ont été négatifs à l'exception des essais effectués par pucerons. Le Tableau 17.1 résume les résultats.

Tableau 17.1. Résultats des tests de transmission du virus de la mosaïque de l'igname par aphides, toutes les expériences sont effectuées avec 10 pucerons par plante

Espèce du puceron	Temps du repas d'acquisition	Temps du repas d'inoculation	Nombre de plantes inoculées	Nombre de plantes malades
<i>Aphis gossypii</i>	5 mn	—	30	10
<i>Aphis gossypii</i>	5 mn	15 mn	20	7
<i>Aphis gossypii</i>	15 mn	—	10	6
<i>Aphis gossypii</i>	1 h	—	20	11
<i>Aphis gossypii</i>	24 h	—	12	4
<i>Toxoptera citricidus</i>	15 mn	—	30	21
<i>Rhopalosiphum maidis</i>	15 mn	—	20	1
<i>Aphis craccivora</i>	5 mn	—	24	13

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

La purification du virus à partir des feuilles d'igname est rendue difficile par la présence de substances mucilagineuses; elle a pu cependant être menée à bien, dernièrement, par une série de centrifugations différentielles après une clarification au chloroforme, suivie d'un passage sur gradient de saccharose. Les observations en microscopie électronique ont révélé que l'agent causal est un virus filamenteux de 750 à 800 nm de longueur (Fig. 17.5).

Un antisérum a été préparé en injectant le virus purifié à des lapins, le titre homologue est de 1/2 048. Comparé aux virus trouvés en Côte d'Ivoire, le virus de la mosaïque de l'igname s'est révélé apparenté au virus de la mosaïque de *Panicum* (Thouvenel, Givord, et Pfeiffer 1976) et au virus des taches ocellées de l'arachide (Dubern et Dollet 1978) qui appartiennent tous deux aux potyvirus. Ce virus qui ne ressemble par ailleurs à aucun autre virus décrit sur igname est donc un nouveau virus appartenant au groupe des potyvirus.

L'étude des propriétés biologiques ayant montré que le point de thermo-inactivation du virus dans le jus brut d'igname est situé entre 55 et 60 °C, des essais de thermothérapie ont été entrepris sur des tubercules provenant de pieds malades, les résultats sont consignés dans le Tableau 17.2

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

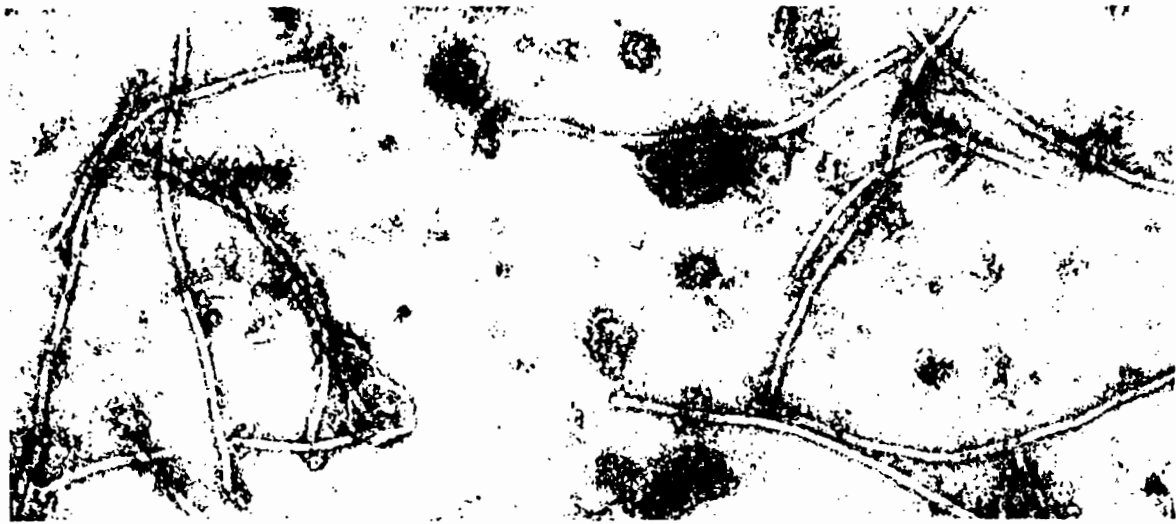


Fig. 17.5. Particules virales responsables de la mosaïque de l'iguane, observées en microscopie électronique (photo P. Pfeiffer).

252 Les viroses de l'igname en Côte d'Ivoire

Tableau 17.2. Résultats des essais de traitement par la chaleur de tubercules provenant de pieds malades ou supposés malades

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

Pour résumer, nous pouvons dire que le principal problème est dû au virus de la mosaïque de l'igname ; ce virus est peut-être également à l'origine de la maladie observée au Nigéria et dans d'autres pays de l'Afrique de l'Ouest. L'antisérum produit en Côte d'Ivoire permettra dans un avenir proche de répondre à cette question.

Références bibliographiques

- Deighton, F. C. (1956). *Diseases of cultivated and other economic plants in Sierra Leone*. 52. 3. Government Printer, Sierra Leone.
- Dubern, J. et Dollet, M. (1978). Observation d'une nouvelle maladie à virus en Côte d'Ivoire: la maladie des taches ocellées de l'arachide. *Oléagineux* **33**, 175-7.
- Girardot, L. V. (1956). *Planting and fertilization experiments with yams*. Note 9. Cent. agric. exp. Sta. Sualaoko, Liberia.
- Harrison, B. D. and Roberts, I. M. (1973). Association of virus-like particles with internal brown spot of yam (*Dioscorea alata*). *Trop. Agric., Trin.* **50**, 335-40.
- Miège, J. (1957). Influence de quelques caractères des tubercules semences sur la levée et le rendement des ignames cultivées. *J. Agric. trop. Bot. appl.* **4**, 315-42.
- Migliori, A. et Cadilhac, B. (1976). Contribution à l'étude de la maladie à virus de l'igname *Dioscorea trifida* en Guadeloupe. *Annls Phytopathol.* **8**, 73-8.
- Terry, E. R. (1976). Incidence, symptomatology, and transmission of a yam virus in Nigeria. *Proc. 4th Int. Symp. Trop. Root Crops, Cali, Columbia* 170-3.
- Thouvenel, J. C. et Fauquet, C. (1977). Une mosaïque de l'igname (*Dioscorea cayenensis*) causée par un virus filamenteux en Côte d'Ivoire. *C.r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris sér D* **284**, 1947-9.
- Givord, L., and Pfeiffer, P. (1976). Guinea-grass mosaic virus, a new member of the potato virus Y group. *Phytopathology* **66**, 954-7.
- Waterworth, H. E., Lawson, R. M. and Kahn, R. P. (1974). Purification, electron microscopy and serology of *Dioscorea* latent virus. *J. Agric. Univ. P. Rico* **58**, 351-7.
- West, J. (1938). A preliminary list of plant diseases in Nigeria. *Kew Bull.* 17-23.

1.2.8. LES VIROSES DU MAIS EN COTE D'IVOIRE

QUELQUES VIROSES DU MAÏS EN CÔTE D'IVOIRE

D. LAMY, C. FAUQUET, J.C. THOUVENEL *

RESUME. — Des échantillons de maïs malade prélevés dans les champs en Côte d'Ivoire présentent trois types de symptômes : Le plus fréquent est constitué par une striure fine des feuilles. Il est causé par le Maize Streak Virus qui provoque déjà des dégâts importants dans les pays voisins. Deux autres symptômes : une mosaïque verte causée par une souche du Guinea Grass Mosaic Virus et une striure large des feuilles probablement causée par le Maize Mosaic Virus paraissent avoir une incidence faible.

Mots-clé : Maïs, Virus, Côte d'Ivoire, Maize Streak Virus, Guinea Grass Mosaic Virus, Maize Mosaic Virus.

INTRODUCTION

La production de maïs en Côte d'Ivoire était de 271 000 tonnes en 1975. Le plan quinquennal de développement 1975-1980 a prévu un doublement de la production pendant cette période.

Cette expansion n'a pu s'envisager sans un contrôle efficace des agents pathogènes du maïs dont les effets pourraient se révéler considérables si la densité de culture de leur hôte augmentait dans les conditions prévues.

L'évaluation de cette menace a donc du être entreprise. C'est dans ce but que le laboratoire de Virologie de l'ORSTOM en Côte d'Ivoire a effectué des investigations dans les champs de maïs du pays et qu'il a recherché l'origine des symptômes de maladie virale qu'il y a rencontrée.

Trois types de symptômes ont pu être associés à des particules virales, dont cet article rapporte la description.

MATERIEL ET METHODES

Inoculations mécaniques

Les essais d'inoculation mécanique des maladies étudiées se font de la façon suivante : l'échantillon est broyé en présence de tampon phosphate de potassium 0,1 M pH 7,1 contenant 0,02 M de chlorure de cystéine à raison de 5 ml par gramme de plante. Le jus brut ainsi obtenu est appliqué manuellement en présence de carborundum sur les feuilles à inoculer.

Purification des particules virales

La méthode décrite par BOCK et al (1974) a été utilisée pour purifier le Maize Streak Virus. Le Guinea Grass Mosaic Virus a été purifié à l'aide de la méthode mise au point par THOUVENEL et al (1976).

Tests sérologiques d'identification

Les essais d'identification de virus sphériques ont été effectués par immunoprécipitation en gel d'agar composé ainsi : NaCl 0,9 %, agar Noble Difco 0,9 %, azide de sodium 0,25 %. L'incubation a duré 6 jours à 24° C.

L'identification des virus filamenteux a eu lieu par immunoprécipitation sous huile de paraffine (Slogteren, 1954).

Observations en microscopie électronique

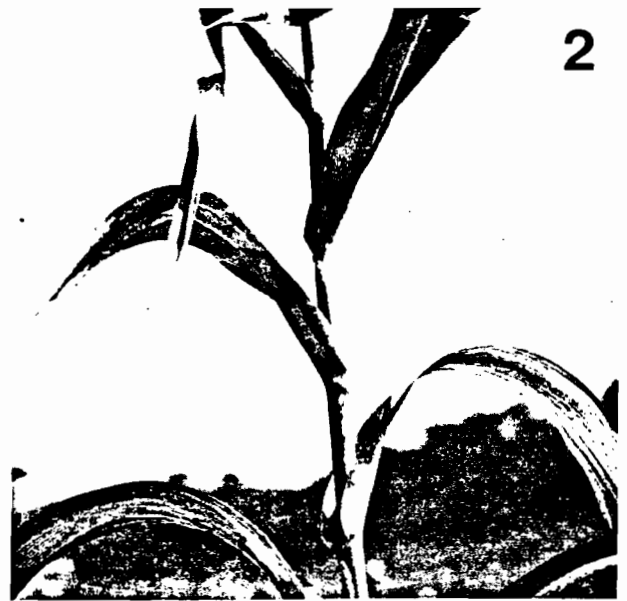
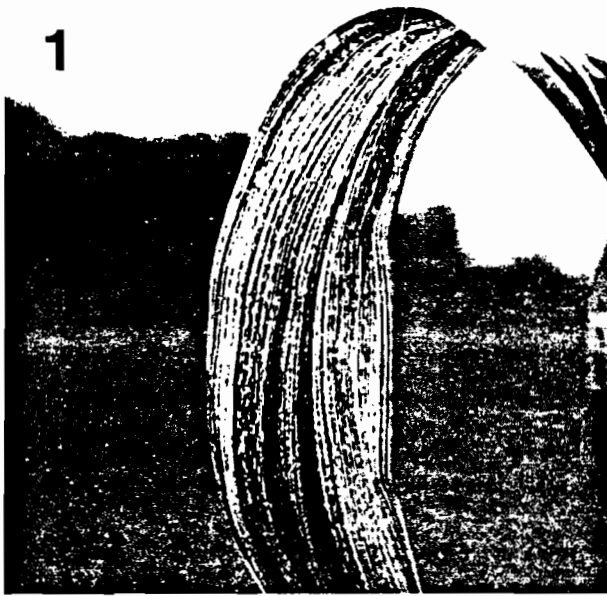
Le matériel à observer a été déposé sur des grilles carbonnées et coloré à l'acétate d'uranyle à 3 %. L'observation a été effectuée à l'aide d'un microscope électronique Siemens Elmiskop 1-A.

RESULTATS

CARACTERISATION DU MAIZE STREAK VIRUS

Le symptôme de virose le plus fréquemment rencontré sur les plants de maïs en Côte d'Ivoire est constitué par une striure fine des feuilles. Tout porte à croire qu'il est présent partout où le maïs est planté.

LAMY (D.), FAUQUET (C.), THOUVENEL (J.C.) — Laboratoire de Virologie des plantes, Centre O R S T O M d'Adiopodoumé, B.P. V 51 Abidjan, Côte d'Ivoire



Détail des symptômes de striure fine des feuilles présentés par un pied de maïs naturellement infecté par le Maize Streak Virus.

Pied de maïs sévèrement atteint par le Maize Streak Virus dans des conditions naturelles.

La maladie se manifeste par l'apparition de tirets blancs centrés sur les nervures des feuilles qui peuvent fusionner pour donner des lignes blanches. (figure 1).

Les plantes sévèrement atteintes (figure 2) apparaissent plus pâles que les plantes saines. Elles sont de taille inférieure et ne produisent pas d'épi si l'infection est suffisamment précoce.

A partir de feuilles malades, il a été possible de purifier des particules de haut poids moléculaire possédant un spectre d'absorption en lumière ultraviolette de type nucléoprotéine. Ces particules observées au microscope électronique étaient de deux types : des sphères de 20 nm de diamètre et des dimères de 30 x 20 nm apparemment formés par l'accolement de deux sphères de 20 nm de diamètre.

Du jus brut de maïs malade a été testé avec l'antisérum préparé par BOCK (1974) avec du Maize Streak Virus. Ce sérum a réagi contre le virus de Côte d'Ivoire jusqu'à une dilution de 1/64. Le titre du sérum contre le virus homologue était inconnu. Aucune réaction n'a été observée avec du jus brut de maïs sain.

L'ensemble de ces caractéristiques correspondent aux propriétés du Maize Streak Virus telles qu'elles ont été décrites par BOCK et al (1974). La caractérisation sera complète lorsqu'il aura été possible de tester la transmission avec des cicadelles vectrices. Quoiqu'il en soit, il est permis d'admettre que le Maize Streak Virus qui a été décrit au Kenya (STOREY, 1952), au Nigeria (PLAVSIC-BANJAC et al, 1972), en Ouganda (SYLVESTER et al, 1973), en Rhodésie (ROSE, 1973) et au Dahomey (LE CONTE, 1974) est également présent en Côte d'Ivoire.

CARACTERISATION D'UNE SOUCHE DU GUINEA GRASS MOSAIC VIRUS

On peut observer une mosaïque verte dans les plantations de maïs voisines de Divo. Ce symptôme n'a été repéré qu'à cet endroit, mais sa discrétion rend sa découverte difficile et il n'est pas exclu qu'il soit présent ailleurs.

La maladie se manifeste aussitôt après l'infection par de petites taches chlorotiques qui fusionnent rapidement pour donner une mosaïque en plages peu contrastées (figure 3) de coloration variant du vert au jaune. Seules les jeunes feuilles présentent ces symptômes, ceux-ci disparaissent lorsque la feuille vieillit. Les pieds atteints sont de taille réduite, mais peuvent donner des épis si l'infection a lieu seulement 10 jours après la germination.

La maladie est transmissible par un insecte de la feuille des Aphides et mécaniquement.

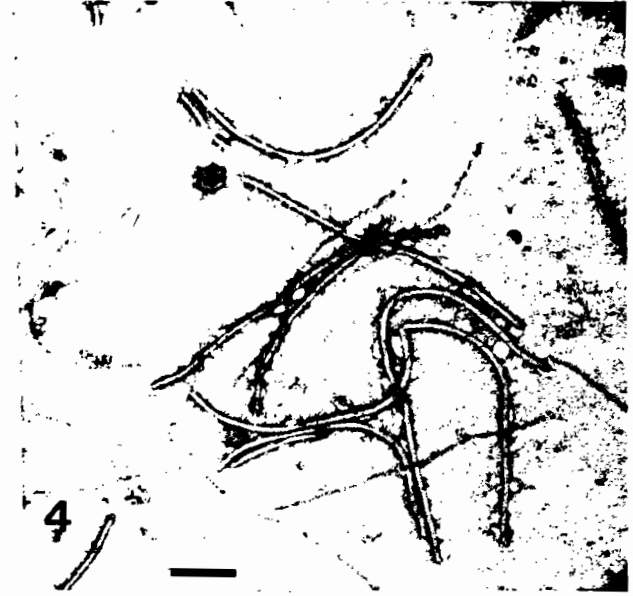
Des particules de haut poids moléculaire, possédant un spectre d'absorption en lumière ultraviolette de type nucléoprotéine, peuvent être extraites des plantes malades. Elles ont une forme filamenteuse, leur longueur (figure 4) n'excède pas 900 nm et leur largeur est approximativement 15 nm. Des plantes saines, inoculées avec ces particules, ont présenté les symptômes caractéristiques de la maladie.

Du jus brut de plante malade clarifié avec du chloroforme à 20 % réagit avec l'antisérum préparé par THOUVENEL et al (1976) avec le Guinea Grass Mosaic Virus jusqu'au titre homologue de 1/512. Aucune réaction n'a eu lieu avec du jus brut de plante saine clarifié dans les mêmes conditions.



Symptômes de mosaïque verte présentés par un pied de maïs naturellement infecté par une souche du Guinea Grass Mosaic Virus.

Le virus de la mosaïque verte ressemble par son aspect au microscope électronique et par ses propriétés sérologiques au Guinea Grass Mosaic Virus tel qu'il a été décrit par THOUVENEL et al (1976) à partir de plants de *Panicum maximum* naturellement infectés. C'est la première fois que l'on observe la présence de ce virus dans les champs de maïs. Toutefois, le fait que la maladie soit transmissible par aphide suggère qu'elle peut être due à une souche de virus différente de celle qui a déjà été décrite sur *P. maximum*.



Particules virales d'une souche de Guinea Grass Mosaic Virus purifiées à partir de maïs présentant les symptômes de mosaïque verte. Photo Michel Dollet. La barre représente 200 nm.

MISE EN EVIDENCE D'UN RHABDOVIRUS

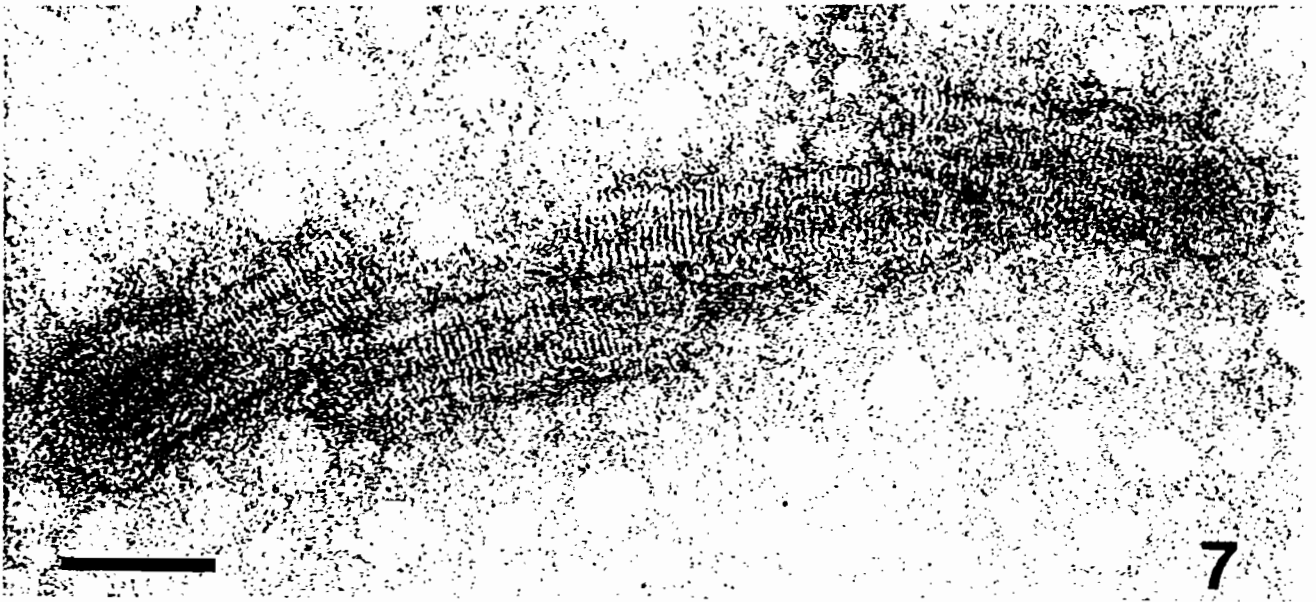
Dans la région d'Abidjan, certains pieds de maïs présentent sur leurs feuilles une striure chlorotique large. Elle est constituée par des taches claires allongées centrées sur les nervures, pouvant fusionner et donner de larges bandes claires réparties de façon hétérogène sur les feuilles (figure 5). Les pieds atteints précocement sont de taille réduite (figure 6) et ne donnent pas d'épis si l'infection est sévère.



Symptômes de striure chlorotique large présentés par un pied de maïs naturellement infecté par une particule de type Rhabdovirus.



Pied de maïs sévèrement atteint par la striure chlorotique large.



Particules de type Rhabdovirus présentés dans le jus brut d'un pied de maïs présentant les symptômes de striure chlorotique large La barre représente 100 nm.

Du jus brut de plante malade a été observé au microscope électronique. Il présente des particules de type Rhabdovirus dont la taille est de 250 × 50 nm (figure 7).

La maladie peut être transmise par un insecte de la famille des Delphacides.

Les symptômes, le mode de transmission et la forme des particules virales ressemblent aux caractéristiques homologues de la maladie causée par le Maize Mosaic Virus décrit au Brésil par HEROLD (1960). Une caractérisation sérologique est encore nécessaire pour achever le diagnostic.

CONCLUSION

Le Maize Streak Virus apparaît comme la principale menace d'origine virale susceptible d'atteindre les cultures de maïs du pays. En 1977, la station IRAT de Bouaké (MARCHAND, communication personnelle) a pour la première fois signalé des incidences de 20 % de pieds atteint dans certains des champs d'expérimentation. Le risque est donc réel d'observer des pertes en production de 50 % dans les champs

les plus touchés, comme FAJEMISIN et al (1976) l'ont signalé au Nigeria. Dès à présent, les méthodes de lutte qui ont donné des résultats dans les pays voisins FAJEMISIN et al, 1976, LANA, 1977) doivent être utilisées et notamment la plus rentable d'entre elles à long terme : la sélection de variétés de maïs résistantes au virus.

La distribution et l'impact sur les récoltes de la mosaïque verte sont encore peu connus car la faiblesse des symptômes en rend possible la confusion avec une carence. Seule une prospection systématique du pays suivie d'une caractérisation au laboratoire des échantillons suspects permet de les évaluer.

Enfin il faut surveiller le développement de l'incidence de la striure chlorotique large. Elle est encore faible, mais si la suite des travaux que nous avons entrepris montrent que nous avons affaire au Maize Mosaic Virus décrit par HEROLD et al (1960), il faudra admettre que cette maladie peut causer des dégâts importants aux cultures (LASTRA 1976).

Remerciements

Nous remercions Monsieur le Professeur HIRTH pour avoir dirigé ce travail et corrigé le manuscrit.

Bibliographie

- BOCK (K.R.), GUTHRIE (E.J.), 1974 — Purification of Maize Streak Virus and its relationships to viruses associated with streak disease of sugarcane and *Panicum maximum*. *Annals of appl. biol.* 77, 289-296.
- FAJEMISIN (J.M.), SHOYINKA (S.A.), 1976 — Maize Streak and other maize virus disease in west Africa dans : Proceedings of the International Maize Virus Disease Colloquium and Workshop. Ed : Ohio Agricultural Research and Development center, Wooster, Ohio 44691 USA. 52-61.
- HEROLD (F.), BERGOLD (G.H.), WEIBEL (J.), 1960 — Isolation and electron microscopic demonstration of a virus infecting corn. *Virology*, 12, 335-347.
- LANA (A.F.), ADEGBOLA (M.O.K.), 1977 — Important virus diseases in west African crops. *Review of Plant Pathology*, 56, n° 10, 849-868.
- LASTRA (R.J.), 1976 — Maize Mosaic and other Maize virus and virus-like diseases in Venezuela dans : Proceedings of the International Maize Virus Disease Colloquium and Workshop. Ed Ohio Agricultural Research and Development Center, Wooster, Ohio 44691 USA. 30-38.
- LE CONTE (J.), 1974 — La virose du maïs au Dahomey. A virus disease in Dahomey *Agron Trop.*, 29, 831-832.
- PLAVSIC-BANJAC (B.), MARAMOROSCH (K.), 1972 — Electro-microscopy of African Maize Streak. *Phytopathology*, 62 (6), 671.
- ROSE (D.J.M.), 1973 — Field studies in Rhodesia on *Cicadulina* sp. vector of Streak disease. *Bull. Entomol. Res.* 62, (3), 477-495.
- SLOGTEREN (D.H.M.) VAN, 1954 — Serological microreactions with plant viruses under paraffin oil. p 51-54 in *Proc. 2nd Conf. on potato virus diseases*. Lisse-Wageningen, The Netherlands 25-29 June 1954.
- STOREY (H.H.), 1952 — Basic research in agriculture : a brief history of research at Amani 1923-1947. *East Afr. Agr. Forest Res. Org. Kenya* 1952.
- SYLVESTER (E.S.), RICHARDSON (J.), NICKEL (J.K.), 1973 — An additional note on viruslike particle associated with Maize Streak Disease. *Plant dis. rep.* 57, (5), 414-416.
- THOUVENEL (J.C.), GIVORD (L.), PFEIFFER (P.), 1976 — Guinea Grass Mosaic Virus, a new member of the Potato Virus Y group. *Phytopathology*, 66 (6), 954-957.

1.2.9. LES VIROSES DES PLANTES MARAICHERES EN COTE D'IVOIRE

LES VIROSES DES PLANTES MARAÎCHÈRES EN CÔTE D'IVOIRE

C. FAUQUET et J.-C. THOUVENEL

Phytovirologie

ORSTOM, BP V 51, Abidjan, Côte d'Ivoire

Membres non résidents du

Laboratoire de Phytovirologie des Régions Chaudes (LPRC)

BP 5035, Montpellier Cedex

Le premier objectif de ce séminaire étant de faire connaître les hommes, les programmes de recherche et les résultats obtenus, dans diverses parties du monde et dans le domaine des plantes maraîchères, je ferai un survol de la situation phytovirologique des cultures maraîchères en Côte d'Ivoire. Cette situation est pour une très large part généralisable à l'ensemble de l'Afrique de l'Ouest avec cependant quelques variantes quant à l'intensité et au développement de chacune de ces maladies.

En ce qui concerne la phytovirologie proprement dite et afin de mieux faire comprendre la situation je décrirai ces maladies sous divers aspects:

- un inventaire succinct par plante,
- un inventaire par ordre d'importance,
- un inventaire selon l'origine des maladies,
- un inventaire selon le mode de vection,
- enfin un bref rappel des principales viroses.

Cultures maraîchères de Côte d'Ivoire

Il y a plusieurs types de cultures maraîchères en Côte d'Ivoire et suivant les plantes cultivées et les techniques employées, les maladies virales rencontrées et donc les solutions de lutte, y seront différentes.

Il y a tout d'abord les jardins de case, autour des villages où l'on trouve essentiellement des variétés locales d'espèces largement consommées par les villageois comme; les tomates cerises, les piments, les aubergines locales, les gombos et les cucurbitacées pour la sauce. On y trouve également des plantes qui ne sont pas toujours considérées comme des plantes maraîchères comme la patate douce et le niébé.

Ensuite il y a de grands périmètres de production (installés et gérés par la SODEFEL), mécanisés, irrigués et avec un degré de technicité assez élevé. Leur objectif à court terme est d'approvisionner les grandes villes pour limiter les importations et accroître la consommation de légumes frais et à long terme d'exporter des produits maraîchers, à contre saison, vers les

pays occidentaux. On y trouve tous les produits habituels comme; tomate (sélectionnée), aubergine violette, choux, oignon, poivron, concombre, melon, courgette... et quelques produits locaux comme l'aubergine N'Drowa et le gombo. Il faut noter que la tomate est aussi cultivée avec succès à des fins industrielles pour le concentré et que la pomme de terre n'a été cultivée que pendant quelques années, sans succès, à titre expérimental.

Enfin le dernier type de culture maraîchère en Côte d'Ivoire est le petit maraîchage intensif autour des agglomérations avec les mêmes plantes cultivées que dans les grands périmètres mais sans mécanisation ni technologie.

Selon le type de culture, il est évident que les objectifs seront différents et que la mise en œuvre de méthodes de lutte sera plus ou moins facile. Dans le premier cas la seule possibilité serait de fournir des variétés locales résistantes, dans le second on peut envisager des méthodes de lutte chimiques, variétales et dans une moindre mesure l'utilisation des pratiques culturales. Par contre dans le troisième type la lutte chimique sera à exclure totalement alors que l'on pourra privilégier les méthodes culturales.

INVENTAIRE DES VIROSES DES PLANTES MARAICHERES PAR PLANTE

Afin de voir l'influence des viroses sur chacune des plantes je citerai brièvement les maladies identifiées sur chacune d'elles sans préjuger de l'incidence de la maladie en question. Les plantes seront citées par ordre d'importance de culture et les maladies par ordre de fréquence.

- Tomate: le Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV),
le Tobacco mosaic virus (TMV),
mycoplasmoses non identifiées,
le Cucumber mosaic virus (CMV),
le Pepper vein mottle virus (PVMV),
et le Potato spindle tuber viroid (PSTV).
- Aubergine locale: le CMV, le PVMV et un enroulement non identifié.
- Gombo: l'Okra mosaic virus (OMV),
l'Okra leaf curl virus (OkLCV).
- Piment-poivron: le PVMV, le CMV et le TMV.
- Cucurbitacées: le Watermelon mosaic virus (WMV),
le Cucurbita mosaic virus (CuMV), et le CMV.
- Légumineuses: le CMV et le Cowpea mild mottle virus (CMMV).

Il faut signaler que sur les plantes suivantes, nous n'avons jamais isolé de maladies virales: aubergine violette, choux, oignon, salade et carotte. Quant à la pomme de terre toutes les maladies observées (PVY, PVX, PVS et PLCV) provenaient de la semence et comme celle-ci ne fut jamais produite en Côte d'Ivoire il faut espérer que ces virus exogènes n'ont pas eu le temps de s'installer dans ce pays.

IMPORTANCE DE CES MALADIES VIRALES

Toutes les maladies citées ci-dessus n'ont pas la même importance et nous pouvons, après 5 années de surveillance, les classer comme suit:

- Viroses à caractère catastrophique:
 - x TYLCV et mycoplasmoses sur tomate,
 - x OkLCV sur gombo,
 - x PVMV sur poivron et piment.

- Viroses à caractère préoccupant:
 - x TMV sur tomate,
 - x CMV sur légumineuses et sur tomate,
 - x PVMV sur aubergine,
 - x OkMV sur gombo,
 - x CMMV sur niébé et haricot.

- Viroses à caractère occasionnel:
 - x CMV, WMV et CuMV sur cucurbitacées,
 - x PVMV sur tomate,
 - x TMV sur poivron...

LES VECTEURS DES VIRUS DES PLANTES MARAÎCHÈRES

Une des seules façon de lutter contre les virus est de lutter contre leurs vecteurs, c'est pourquoi j'ai regroupé les viroses par leur mode de vexion:

- Transmission par mouches blanches: TYLCV, OkLCV, CMMV.
- Transmission par pucerons: PVMV, CMV, CuMV, WMV.
- Transmission par delphacides: mycoplasmes.
- Transmission mécanique: TMV, PSTV.
- Transmission par les graines: CMMV, CMV (légumineuses).

ORIGINE DES VIROSES DES PLANTES MARAÎCHÈRES

Il faut remarquer que nombre des viroses citées ci-dessus sont d'origine Africaine ou du moins qu'elles n'ont pas été décrites ailleurs qu'en Afrique (avec peut être une exception pour les Indes). C'est le cas du TYLCV, du OkLCV, du PVMV, du CuMV et du CMMV. Pour les chercheurs qui s'occupent de plantes maraîchères la majorité de ces viroses sont inconnues et par conséquent il est peu probable que les sélectionneurs de plantes maraîchères prennent en compte ces parasites. D'autres viroses sont universelles et nous les retrouvons donc en Afrique, c'est le cas du ToMV, du CMV et du WMV. Enfin il faut relever l'absence de certains virus que l'on rencontre fréquemment sur les légumes comme le Potato virus Y, le Tobacco etch virus ou le Bean common mosaic virus. Il semble que cette partie du continent ait été, jusqu'à maintenant, épargnée par certains virus qui sont mondialement répandus. Mais il est évident que les virus indigènes occupent leur niche écologique et que la pression virale sur les plantes maraîchères doit être aussi forte qu'ailleurs.

PRINCIPAUX PATHOGENES

Maintenant que nous avons vu les viroses des plantes maraichères en Côte d'Ivoire, sous 3 angles différents; la plante, l'importance de la maladie et le mode de vection, il est plus facile de voir quels sont les principaux pathogènes viraux attaquant ces plantes. Pour compléter la description de ces viroses je vais maintenant donner quelques détails sur 3 d'entre elles:

Le Tomato yellow leaf curl virus:

Cette maladie a été décrite dans de nombreux pays d'Afrique sub-saharienne (Soudan, Sénégal, Haute-Volta, Mali) dans plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest (Côte d'Ivoire, Nigéria) en Afrique de l'Est (Kenya, Ethiopie) en Afrique du Nord (Tunisie, Lybie), au Proche Orient (Israël, Liban) et même aux Indes. La seule plante hôte cultivée est la tomate mais quelques adventices pourraient héberger le virus (Soudan). Le virus est probablement un geminivirus transmis par mouche blanche (*Bemisia tabaci*) sur le mode persistant. Les symptômes décrits sont assez variables mais il y a toujours un enroulement des feuilles, une décoloration jaune des apex et souvent des nécroses le long des nervures. Le nombre de plantes infectées est très souvent proche de 100% et l'impact sur le rendement est très important (60 à 80% en Côte d'Ivoire). Des expériences sur les techniques culturales au Soudan et en Israël et sur les dates de plantation en Côte d'Ivoire ont pu mettre en évidence des effets positifs. Des gènes de résistances ont été détectés dans des espèces proches de *Lycopersicon esculentum* et un programme de sélection est en cours à l'INRA de Montfavet pour utiliser cette résistance dans l'espèce cultivée.

L'Okra leaf curl virus:

Cette maladie a été décrite dans plusieurs pays de l'Afrique de l'Ouest (Côte d'Ivoire, Nigéria) et au Soudan. Les symptômes sont; enroulement très fort des feuilles avec épaissement des nervures, diminution de la surface foliaire et chute importante de la production. Cette maladie est facilement transmissible par aleurodes sur le mode persistant et par greffage. Il n'a pas été possible de transmettre cette maladie à d'autres plantes et les autres maladies également transmissible par mouche blanche n'infectent pas le gombo. Des particules virales de type geminivirus ont été purifiées à partir de gombos infectés et un antisérum est en cours de préparation. Des variétés sont connues pour être tolérantes et des expérimentations sur le déterminisme génétique de cette tolérance seront entreprises en 1986 en Côte d'Ivoire.

Le Pepper veinal mottle virus:

Ce virus est un potyvirus, c'est à dire un virus filamenteux de 750 nm de longueur qui est transmis par pucerons sur le mode non persistant. Les espèces de pucerons qui peuvent le véhiculer sont assez nombreuses et il suffit d'un repas de quelques secondes pour que la transmission soit effective. Il y a seulement une plante adventice connue comme plante hôte mais par contre il y a plusieurs solanacées cultivées qui peuvent l'héberger: poivron, piment, aubergine, tomate et tabac. Les symptômes sur *Capsicum spp.* sont assez forts avec cloquage, gaufrage et marbrure des feuilles, diminution de la taille et de la production et malformation des fruits. Des essais infructueux utilisant les méthodes culturales ont été réalisés et des essais de comportement variétaux sont en cours en Côte d'Ivoire.

Les viroses des plantes maraîchères de Côte d'Ivoire sont donc très nombreuses et certaines d'entre elles sont très importantes, aussi bien du point de vue de leur fréquence que de leur impact sur la production. Considérant les types de cultures existant en Afrique il semble que les méthodes de lutte de l'avenir soient essentiellement l'utilisation de variétés résistantes. Cette solution demandant beaucoup de temps il est impératif d'entreprendre des études sur l'épidémiologie de ces maladies afin d'utiliser au mieux les méthodes de lutte par les techniques culturales.

Ann. Phytopathol., 1980, 12 (3), 259-275.

Les viroses de la Tomate en Côte-d'Ivoire

B. WALTER, J. C. THOUVENEL, C. FAUQUET

Laboratoire de Virologie des Plantes,
Centre ORSTOM d'Adiopodoumé
B.P. V-51 Abidjan, République de Côte-d'Ivoire

Résumé

Dans le cadre de l'inventaire des maladies virales des plantes maraîchères cultivées en Côte-d'Ivoire, plusieurs viroses ont été rencontrées sur la Tomate lors des différentes prospections. Trois virus ont pu être identifiés avec certitude par leur gamme d'hôtes, leurs propriétés biologiques, l'observation microscopique et par la sérologie ; il s'agit du Virus de la Mosaïque de la Tomate (VMTom), du Virus de la Mosaïque du Concombre (VMC), et du Virus de la Panachure du Piment (Pepper Veinal Mottle Virus = PVMV). Par ailleurs, nous avons rencontré des symptômes de Rabougrissement apical, de Maladie jaune et de virescence, comparables respectivement au « Potato Spindle Tuber », au « Totato Yellow Leaf Curl » et au « Big Bud » ou « Stolbur ». Les agents responsables de ces symptômes sont en cours d'identification.

I. — Introduction

La culture de la Tomate en Côte-d'Ivoire, initialement limitée aux petites plantations villageoises, se développe très rapidement depuis la mise en place de grands périmètres maraîchers par une société d'Etat, la SODEFEL. Sur ces périmètres, des variétés de Tomate importées sont cultivées sur de très grandes surfaces, alors que dans les plantations villageoises des variétés locales sont cultivées en association avec d'autres plantes.

De nombreuses maladies d'origine virale affectant la Tomate ont été décrites à travers le monde (Smith, 1957), mais en Afrique plus particulièrement, le virus de la Mosaïque de la Tomate (VMTom) a été identifié au Sénégal (Thouvenel et Fauquet, 1976) et au Nigeria (Lana et Adegbola, 1977). De même, selon ces derniers auteurs, dans les champs au Nigeria quelques plants isolés présentent des symptômes typiques du Virus de la Mosaïque du Concombre (VMC). Le Virus de la Panachure du Piment (Pepper Veinal Mottle Virus) PVMV provoque une maladie grave au Nigeria (Ladipo et Roberts, 1977 ; Brunt *et al.*, 1978).

D'autres maladies supposées virales et transmises par des mouches blanches (*Bemisia* sp., Aleurodidae) ont été décrites sur les cultures de Tomate en Afrique subtropicale :

— la maladie des Taches Jaunes, très grave au Nigeria (Lana et Adegbola, 1977) ;

- la maladie du Jaunissement avec anroulement des feuilles, qui n'est pas transmise mécaniquement (Lana et Wilson, 1976) ;
- le « Tomato Leaf Curl » et le « Tomato Vein Thickening » qui provoquent d'importants dégâts au Soudan (Yassin et Nour, 1965) ;
- le « Tomato Yellow Leaf Curl », au Sénégal (Thouvenel et Fauquet, 1976) ;
- la Maladie jaune en Côte-d'Ivoire (Fauquet *et al.*, 1978).

Enfin, des maladies mal connues ont été également signalées en Afrique subtropicale :

- la maladie du « bunchy top », très répandue au Nigeria, qui se manifeste par un fort buissonnement, un rabougrissement sévère et une diminution du nombre et de la taille des fruits (Ladipo, 1976),
- la maladie des Nervures jaunes, également au Nigeria, qui se transmet difficilement par inoculation mécanique (Ladipo, 1977),
- la maladie bronzée de la Tomate (Tomato Spotted Wilt Virus) qui n'a pas été décrite sur Tomate, mais sur Tabac à Madagascar (Baudin, 1968).

Lors de tournées effectuées dans les différentes régions de la Côte-d'Ivoire (région côtière, zone de forêt, zone de savane), divers types de symptômes ont pu être observés sur les tomates. La distinction des symptômes s'est avérée très délicate ; plusieurs types de symptômes se superposent souvent sur une même plante, plusieurs virus pouvant y être associés. Nous avons essayé d'identifier les agents responsables de certaines de ces maladies par l'étude de leur transmission, des propriétés biologiques, par l'observation en microscopie électronique après purification et par détermination sérologique.

II. — Matériels et méthodes

Les plants de tomate malades sont prélevés en entier et conservés en récipients dans leur terre d'origine, à l'abri des insectes.

1. — Essais de transmission

Les expériences de greffe sont faites en implantant un greffon de plante malade en tête sur un plant sain, ou encore en procédant par approche, en greffe latérale.

Pour la transmission mécanique, les feuilles malades sont broyées dans un milieu dont la composition sera précisée à raison de 5 ml pour 1 g de feuilles et l'extrait obtenu est frotté sur les feuilles des plants-test préalablement saupoudrées de carborundum. La réussite de l'infection est contrôlée par inoculation retour sur des tomates.

2. — Propriétés biologiques

Des feuilles malades de *Nicotiana tabacum* « Samsun » (pour le VM Tom), de *N. glutinosa* (VMC), de *Physalis floridana* (PVMV), et de *Lycopersicon esculentum* (Rabougrissement apical) sont broyées dans de l'eau bidistillée, ou dans un tampon phosphate 0,5 M à pH 7,6 dans le cas du Rabougrissement apical.

— Le point d'inactivation thermique est déterminé en chauffant 2 ml d'extrait pendant 10 min dans un bain-marie à différentes températures.

— Le point de dilution limite est déterminé en effectuant des dilutions successives dans de l'eau bidistillée ou dans un tampon phosphate 0,5 M à pH 7,6 ou 0,005 M à pH 7,1 pour la maladie du Rabougrissement apical.

— La durée de conservation est mesurée soit sur un extrait brut, soit sur une préparation de virus purifié, dans différentes conditions de température.

La détermination du pouvoir infectieux des extraits traités de ces différentes manières se fait par inoculation mécanique aux plantes-test suivantes :

— *N. tabacum* « *Xanthi necroticum* » et *Chenopodium amaranticolor*, hôtes à lésions locales pour le VMTom ;

— *Phaseolus mungo* var. *aureus*, dans le cas du VMC ;

— *Physalis floridana*, dans le cas du PVMV ;

— *L. esculentum* cv. « Heinz 1350 » et *N. glutinosa*, pour la maladie du Rabougrissement apical.

3. — Purifications

Le VMTom est purifié à partir de *N. tabacum* « Samsun » d'après la méthode de Gooding et Hebert (1967) par une précipitation au polyéthylène glycol (PEG) suivie de deux cycles de centrifugation ; puis le virus est remis en suspension dans du tampon phosphate 0,01 M pH 7,0 ou dans de l'eau bidistillée.

Le VMC est purifié à partir de *N. glutinosa* par modification de la méthode de Scott (1963) : après broyage dans un tampon citrate 0,5 M, 0,5 p. 100 acide thioglycolique, pH 6,5 et clarification au chloroforme, le virus est précipité au PEG et soumis à deux cycles de centrifugations.

Le PVMV est purifié à partir de *N. benthamiana* selon la méthode décrite par Thouvenel et al. (1976) pour le virus de la Mosaïque du *Panicum*, ou à partir de *L. esculentum* selon une méthode voisine : les feuilles sont broyées dans trois volumes d'un milieu KH_2PO_4 0,5 M, urée 1 M, 2-mercaptoéthanol 1 p. 100, pH 8,25. Après clarification au chloroforme, la suspension est centrifugée pendant 2 h 30 à 78 000 g. Le culot est remis en suspension dans un tampon phosphate 0,1 M pH 8,45 puis centrifugé à travers 5 ml de saccharose à 20 p. 100, dans un rotor SW 25.1, à 22 000 rpm pendant 3 h. Le culot est remis en suspension dans le tampon phosphate 0,1 M pH 8,45.

L'agent responsable de la maladie du Rabougrissement apical est purifié par précipitation d'un extrait de feuilles de *L. esculentum* au PEG à 5 p. 100, suivie de trois extractions successives au phénol en présence de dodécyl-sulfate de sodium (Randles, 1975). Les acides nucléiques sont précipités par l'éthanol et fractionnés par ultracentrifugation en gradient de saccharose et par électrophorèse en gel de polyacrylamide.

4. — Centrifugations en gradients de saccharose

La suspension de PVMV est analysée par ultracentrifugation pendant 2 h 30 à 89 000 g en gradient de saccharose 10 à 40 p. 100 dans un tampon citrate 0,1 M pH 6,6 si la purification est faite à partir de *N. benthamiana* et dans le tampon KH_2PO_4 0,1 M pH 8,45 si elle est faite à partir de *L. esculentum*.

La préparation d'acides nucléiques extraits des tomates atteintes de la maladie du Rabougrissement apical est fractionnée par ultracentrifugation dans un rotor SW 27.1 pendant 24 h à 82 000 g. Le gradient est constitué de six couches de saccharose 0,228 M ; 0,29 M ; 0,37 M ; 0,47 M ; 0,60 M ; 0,78 M dans le milieu 0,3 M NaCl, 0,03 M Na citrate, pH 7,2, après diffusion pendant une nuit.

5. — Centrifugation du VMTom en gradients de chlorure de césium

A 4 ml d'une solution aqueuse à 50 p. 100 de chlorure de césium on ajoute 1 ml de la suspension de VMTom. Après centrifugation pendant 18 h à 130 000 g, des fractions de deux et quatre gouttes sont récoltées servant alternativement à la détermination de l'indice de réfraction au moyen d'un réfractomètre d'Abbe, et à celle de la densité optique.

6. — Electrophorèse en gels de polyacrylamide

Les acides nucléiques sont analysés par électrophorèse dans des gels de polyacrylamide 2,5 p. 100, agarose 0,5 p. 100, de 10 cm de longueur selon la méthode de Peacock et Dingman (1968). L'électrophorèse est arrêtée quand le colorant a migré aux 2/3 du gel ; les acides nucléiques sont extraits des gels par le phénol, puis précipités à l'alcool.

7. — Sérologie

— Préparation des antisérums.

Les antisérums sont obtenus par injection intramusculaire une fois par semaine, 6 semaines de suite, de 1 ml d'une suspension contenant de 1 à 2 mg de virus, mélangé à 1 ml d'adjuvant incomplet de Freund.

— Tests sérologiques.

Les tests sont effectués d'après la méthode de microprécipitation sous huile de paraffine (Van Slogteren, 1954), dans le cas du VMTom et du PVMV et d'après la technique de double diffusion en agarose 0,8 p. 100 (Ouchterlony, 1962) pour le VMC et parfois pour le VMTom.

8. — Microscopie électronique

Les virus sont observés selon la méthode du « dipping » ou dans des suspensions purifiées, après coloration à l'acétate d'uranyle 2 p. 100, à l'aide d'un microscope Siemens Elmiskop 102 au Groupe d'Etudes et de Recherches en Microscopie Electronique (GERME) à Adiopodoumé.

III. — Résultats

1. — Description des maladies

a) La Mosaïque de la Tomate.

Elle a pu être décelée dans de nombreuses régions de la Côte-d'Ivoire. Dans celle de Dabakala (fig. 1), 5 à 30 p. 100 des cv. « Eilon » et « Marglobe » ont une croissance ralentie pouvant aller jusqu'à l'arrêt total, et présentent des symptômes de

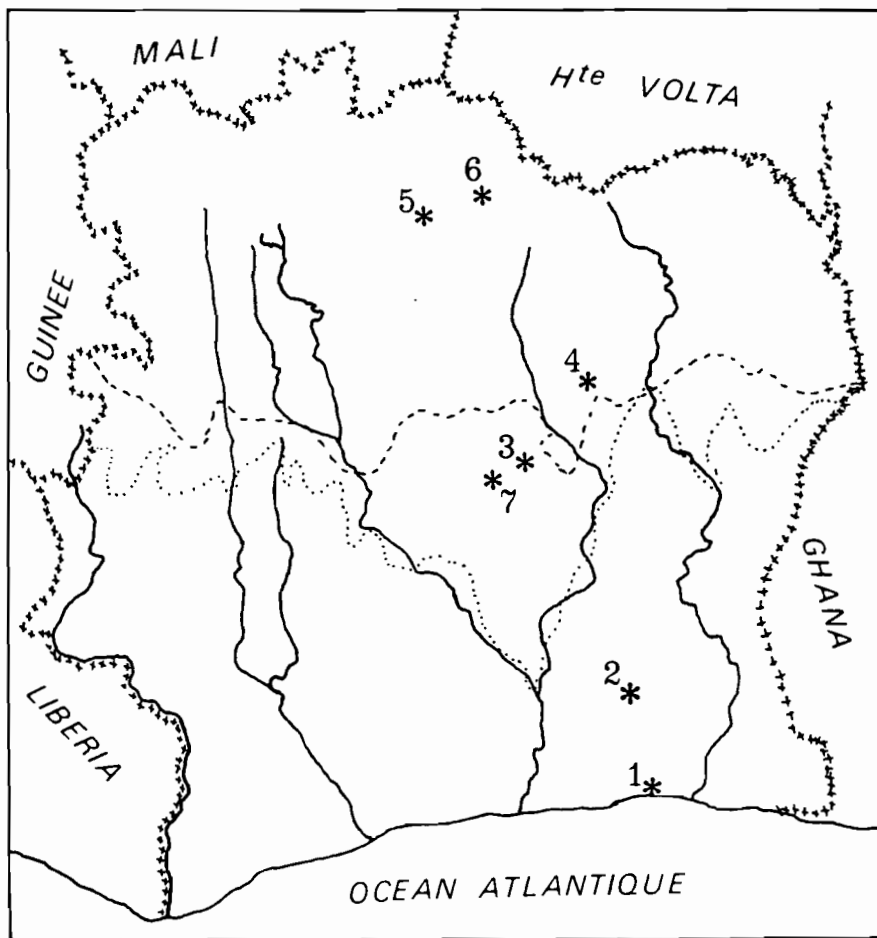


FIG. 1. — Carte de la République de Côte-d'Ivoire.

1. — Abidjan. 2. — Rubino. 3. — N'Dakro. 4. — Dabakala. 5. — Korhogo. 6. — Ferkessedougou.
 7 — Niambrun. — — — Limite des Domaines guinéen et soudanais. . . . Limite septentrionale de la forêt dense humide. La zone littorale n'excède pas 7 à 8 km.

mosaïque vert clair ; la production des plants malades est fortement diminuée. Ces symptômes typiques se retrouvent dans toute la zone côtière alors que dans le Nord on remarque surtout une réduction de la surface foliaire des jeunes feuilles avec un jaunissement très prononcé.

b) *La Mosaïque du Concombre.*

Dans les plantations de la région de Rubino (fig. 1), des plants cv. « Heinz 1370 » de taille normale, présentent des déformations et une mosaïque jaune des feuilles ; les jeunes feuilles sont légèrement effilées. Cette maladie rencontrée dans toute la zone mésophile du pays affecte toujours des zones limitées.

c) *La Panachure du Piment.*

Les symptômes du PVMV observés au champ sont variables : plantes chétives et de coloration vert foncé (Dabakala), rabougrissement et légère chlorose avec, parfois, une forte diminution de la taille des feuilles qui sont légèrement enroulées (Abidjan), ou mosaïque sur des plantes à développement normal (N'Dakro).

La distinction des symptômes de ces maladies au champ est souvent impossible du fait de la présence simultanée de deux ou trois virus. Nous avons pu identifier à plusieurs reprises la présence simultanée de VMTom, de VMC et de PVMV sur « Heinz 1350 ». Un tel plant présente une forte mosaïque et une légère diminution de taille.

d) *Le Rabougrissement apical.*

Cette maladie n'a été rencontrée qu'occasionnellement dans la région de Korhogo sur un plant de Tomate très déformé.

e) *La Maladie jaune.*

Une maladie de type jaunisse a été observée dans le Centre et le Nord de la Côte-d'Ivoire. Les premières feuilles des jeunes plantes ont un aspect normal ; plus tard, elles deviennent plus petites avec des nervures vertes et une coloration internervaire jaune (Pl. 1, fig. 2). La réduction de la croissance apicale et de la croissance des bourgeons secondaires donnent un aspect buissonnant à la Tomate (Pl. 1, fig. 3). Les jeunes feuilles s'enroulent vers le bas. A la récolte, la décoloration du sommet et l'enroulement des feuilles s'accroissent, les vieilles feuilles prennent une coloration bleue

PLANCHE 1

FIG. 2 et 3. — Symptômes de la Maladie jaune sur des tomates infectées naturellement, en champ ; les feuilles sont décolorées avec des nervures très vertes (2), la plante a un aspect buissonnant (3).

FIG. 4. — Symptômes du Virus de la Mosaïque de la Tomate sur feuilles de tomate à droite ; témoin sain à gauche.

5. — Symptômes du Virus de la Mosaïque du Concombre sur feuille de tomate ; les folioles sont filiformes et présentent une mosaïque.



4



5

et les tiges s'épaississent légèrement. Beaucoup de fleurs avortent, les fruits formés sont petits mais normalement constitués. La gravité des symptômes est liée à l'âge des plantes au moment de la contamination : plus la contamination est précoce, plus son impact sur la récolte est grand. L'importance de la maladie varie aussi selon les années : sur les périmètres maraîchers de Ferkéssédougou (fig. 1), il n'y avait aucune plante malade en 1977, 100 p. 100 en 1978, et à nouveau 0 p. 100 en 1979. Par contre, sur les périmètres de Niambroun (fig. 1) l'infestation a lieu chaque année avec les premières pluies. Une forte population de mouches blanches est présente lors des épidémies importantes.

f) *Le Stolbur.*

Cette maladie ne sévit que dans la région Centre. Les feuilles sont réduites au minimum, le limbe ne se développant plus. Les nervures et les tiges s'épaississent fortement et prennent une orientation verticale. La croissance est arrêtée, les fleurs sont rares et déformées, les vieilles feuilles sont enroulées et se colorent en jaune et en violet.

g) *La Maladie en baobab.*

La Tomate a l'aspect d'un baobab miniaturisé. Les tiges sont courtes, gonflées et tortueuses ; les feuilles sont rares et l'ensemble de la plante reste vert foncé. Il n'y a aucune fleur et pas de récolte. Cette maladie est rare et ne touche que quelques plants.

2. — Transmission et gammes d'hôtes

a) La souche de VMTom étudiée a été clonée par passages successifs sur *N. tabacum* « *Xanthi necroticum* ». Les symptômes typiques de mosaïque et de ralentissement de la croissance ont été reproduits en serre par inoculation du cv. « Marglobe » (Pl. 1, fig. 4). La gamme des hôtes sensibles à ce virus est rapportée dans le tableau 1.

b) Par inoculation mécanique des cv. « Heinz 1350 » et « Heinz 1370 », avec le VMC, les symptômes suivants ont été obtenus : liséré des nervures, puis mosaïque, gaufrage et léger enroulement des feuilles qui prennent un aspect filiforme (Pl. 1, fig. 5). Parmi les hôtes sensibles (tabl. 1) *Cucumis sativus* (Pl. 2, fig. 6) et *N. glutinosa* (Pl. 2, fig. 7) montrent des symptômes typiques et ont servi à cloner la souche de VMC.

PLANCHE 2

FIG. 6 et 7. — Symptômes obtenus par inoculation mécanique de *Cucumis sativus* (6) et de *Nicotiana glutinosa* (7) avec un extrait de tomates atteintes du Virus de la Mosaïque du Concombre ; témoins sains en haut.

FIG. 8. — Déformations et Mosaïque provoquées par le Virus de la Panachure du Piment sur Tomate.

FIG. 9. — Taches annulaires nécrotiques obtenues par inoculation mécanique de *Nicotiana tabacum* « White Burley » avec un extrait de tomates atteintes du Virus de la Panachure du Piment.

FIG. 10 et 11. — Symptômes de la Maladie du Rabougrissement apical sur Tomate : gaufrage et enroulement des jeunes folioles (10) ; nécroses des nervures (11).

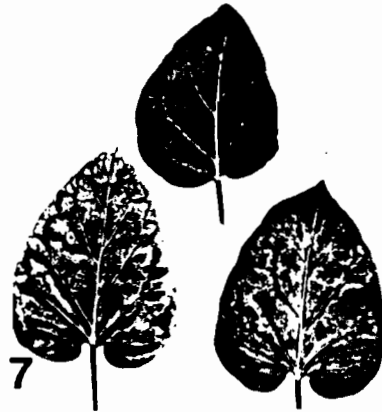


TABLEAU 1

Gammes d'hôtes du VMTom, du VMC, du PVMV et du viroïde

	VMTom phosphate M/100 pH 7,0	VMC borate 0,05 M pH 8,0	PVMV phosphate 0,1 M Na-bisulfite 1 p. 100 pH 7,8	Viroïde phosphate 0,1 M Na-bisulfite 1 p. 100 pH 7,8
<i>Beta vulgaris</i> « Detroit »	—	ma	—	—
<i>Capsicum frutescens</i> « California Wonder »	né	S	S	ma, gaufrage
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	II chloro-nécrot	!! nécrot	II chloro (20 °C)	0
<i>Chenopodium quinoa</i>	II nécrot	II chloro	—	0
<i>Cucumis melo</i> « Cantaloup Charentais »	—	mos, déf	—	—
<i>Cucumis sativus</i> « London », « Poinsett » « Straight Eight »	—	mos, déf	—	0
<i>Cucurbita maxima</i> « Early White Bush » « Golden Zucchini »	—	ma mos,	—	—
<i>Cucurbita pepo</i> « Cinderella »	—	mos	—	—
<i>Datura innoxia</i>	II nécrot-né	ma	S	ma
<i>Datura metel</i>	—	—	—	ma
<i>Nicotiana benthamiana</i>	mort	mos, enroulement des jeunes feuilles	enroulement des feuilles gaufrage, mos	0
<i>N. bigelovii</i>	—	—	—	gaufrage, mos
<i>N. clevelandii</i>	mort	—	S	0
hybride <i>N. clevelandii</i> × <i>N. glutinosa</i>	mort	mos	—	—
<i>N. debneyi</i>	mos	—	—	0
<i>N. forgetiana</i>	—	—	—	rabougrissement, ma
<i>N. glutinosa</i>	II nécrot-né	mos	S	II nécrot
<i>N. goodspeedii</i>	—	—	—	ma
<i>N. longiflora</i>	—	—	—	frisolée
<i>N. megalosiphon</i>	II nécrot-né	mos	S	jaunissement des nervures
<i>N. nudicaulis</i>	—	—	—	déf. sommet
<i>N. occidentalis</i>	—	—	—	mos
<i>N. repanda</i>	—	—	—	gaufrage, mos
<i>N. rustica</i>	II nécrot	mos	—	ma
<i>N. tabacum</i> Samsun	mos	S	—	0
<i>N. tabacum</i> Samsun NN	—	—	—	déf. sommet, ma
<i>N. tabacum</i> Xanthi nc	II nécrot	mos	II chloro	déf. sommet, mos
<i>N. tabacum</i> White Burley	mos	—	ringspot concentriques	0
<i>Petunia hybrida</i>	—	mos	S	ma
<i>Phaseolus mungo</i> « aureus »	—	II nécrot	—	—
<i>Phaseolus vulgaris</i> « Contender »	0	—	—	—
<i>Physalis alkekengi</i>	0	mos	S	0
<i>Ph. curassavica</i>	—	—	—	mos
<i>Ph. floridana</i>	mos	—	S	II chlorot-mos
<i>Ph. philadelphica</i>	—	—	—	mos
<i>Ph. pubescens</i>	—	—	—	mos
<i>Solanum melongena</i> « Burpees Black Beauty »	mos	mos	0	—
<i>Tetragona expansa</i>	II nécrot	spotting S	—	—
<i>Vigna sinensis</i> « Black »	0	II nécrot	—	—
« Black syste »	0	mos	—	—
<i>Zea mays</i> CJB	0	mos	0	—
<i>Zinnia elegans</i>	—	mos	—	—

déf = formation ; II = lésions locales ; ma = marbrure ; mos = mosaïque ; né = nécrose ; S = systémique ; — = — ; 0 = non transmis.

c) Après inoculation mécanique avec un extrait de tomates atteintes de PVMV, le cv. « Heinz 1350 » présente une mosaïque internervaire jaune et une déformation des jeunes feuilles qui s'enroulent vers le haut (Pl. 2, fig. 8). Chez le cv. « Heinz 1370 », les feuilles restent très petites et chlorotiques. Les symptômes obtenus par inoculation mécanique de *Capsicum* (tabl. 1) sont typiques et semblables à ceux que l'on observe sur les piments infectés naturellement par le PVMV en champ. *N. tabacum* « White Burley » est un autre hôte caractéristique sur lequel on note la formation de taches annulaires nécrotiques (Pl. 2, fig. 9).

d) Les cv. « Heinz 1350 », de « Marmande Claudia » et « Moneymaker » inoculés avec un extrait de tomate atteinte de la maladie du Rabougrissement apical, montrent les symptômes suivants : après 10 à 12 jours, les folioles se gaufrent et s'enroulent vers le bas (Pl. 2, fig. 10) ; les feuilles sont en épinastie ; des nécroses apparaissent le long des nervures principales et secondaires (Pl. 2, fig. 11) ; plus tard, la plante prend un aspect rabougri, buissonneux et ramassé ; les folioles du sommet restent très petits, jaunissent et se recourbent parfois vers le haut en forme de cuillère en prenant une coloration violette. Cette maladie, dont les symptômes sont très comparables à ceux du « bunchy top » (Smith, 1957), a été transmise à une large gamme d'hôtes essentiellement de la famille des Solanacées (tabl. 1).

e) La Maladie jaune n'a pu être transmise que par greffe de Tomate à Tomate. Tous les essais de transmission mécanique, par le sol ou par la graine sont restés sans succès.

3. — Propriétés biologiques

Les propriétés biologiques du VMTom, du VMC, du PVMV et de l'agent de la maladie du Rabougrissement apical sont rassemblées dans le tableau 2. (A, B et C).

4. — Purifications

a) VMTom, VMC, PVMV.

Les rendements de purification et les caractéristiques du spectre d'absorption en U.V. des virus purifiés sont donnés dans le tableau 2 (D et E).

b) Rabougrissement apical.

Des fractions de gradients de saccharose et de gels de polyacrylamide se sont révélées infectieuses par inoculation mécanique de *L. esculentum* et *N. glutinosa*. Après centrifugation pendant 24 h à 82 000 g à travers le gradient de saccharose, ces fractions se trouvent dans la moitié supérieure du gradient. Sur les gels de polyacrylamide, elles se situent au même niveau que le colorant (Bleu de Bromophénol).

5. — Sérologie

Des antisérums de titres 1/2048 pour le VMTom, 1/1024 pour le VMC, 1/2048 pour le PVMV ont été obtenus.

Le VMTom réagit avec des dilutions plus faibles d'un antisérum préparé contre une souche « tomate » (souche IV de Mc Ritchie et Alexander, 1963) qu'avec un antisérum préparé contre la souche commune verte du VMT (Augier de Montgrémier).

TABLEAU 2

Propriétés biologiques (A, B, C), rendement de la purification (D)
et caractéristiques du spectre d'absorption (E) du VMTom, du VMC, du PVMV et du viroïde

	VMTom	VMC	PVMV	Viroïde
A) Dilution limite	10 ⁻⁶	10 ⁻² -10 ⁻³	10 ⁻⁵ -10 ⁻⁶	tampon 0,005 M 1/5 tampon 0,5 M 10 ⁻⁴
B) Température d'inactivation	90-95 °C	48-49 °C	60-62 °C	tampon 0,5 M > 99 °C
C) Conservation	virus purifié (-20°) > 4 ans	extrait brut (-20°) 35 j (+ 4°) 8-10 j (+ 25°) 48 h	extrait brut (+ 25°) > 4 jours	
D) Rendement de la purification	700 mg/kg	200 mg/kg	10 mg/kg Tomate 20-40 mg/kg Tabac	
E) A_{max}/A_{min} A_{260}/A_{280}	1,10 1,20	1,37 1,64	1,02 1,22	

Les préparations de VMC réagissent avec un antisérum préparé contre la souche commune D (Devergne) mais ne réagissent pas avec un antisérum préparé contre le Virus de l'Aspermie de la Tomate (Devergne).

Le PVMV a été identifié par réaction avec l'antisérum préparé contre le PVMV-CI de *Capsicum frutescens* (de Wijs, 1973).

6. — Microscopie électronique

Les observations effectuées en microscopie électronique tant sur des extraits bruts de plantes malades (« dipping ») que sur les suspensions de virus purifiés montrent la présence de particules en forme de bâtonnets de 300 nm de longueur pour le VMTom, et de particules filamenteuses de 750 nm pour le PVMV.

L'observation des fractions de VMC purifié révèle la présence de particules sphériques d'environ 30 nm de diamètre.

Aucune particule n'a pu être observée tant dans les extraits bruts que dans les suspensions purifiées de l'agent responsable de la maladie du Rabougrissement apical.

IV. — Discussion

L'étude des symptômes, de la gamme d'hôtes et des propriétés biologiques, ainsi que la purification, l'observation en microscopie électronique et les réactions sérologiques nous ont permis d'identifier avec certitude trois virus infectant les tomates en Côte-d'Ivoire :

— un tobamovirus qui est relié sérologiquement au Virus de la Mosaïque de la Tomate.

De nombreux isolats obtenus à partir de tomates ont été considérés d'abord comme des souches du VMT (Hennig et Wittmann, 1972). L'étude détaillée des gammes d'hôtes, des propriétés biophysiques et sérologiques, et de la séquence de la protéine et de l'acide nucléique permet de les distinguer de la souche type du VMT. Ils ont été regroupés sous le nom de Virus de la Mosaïque de la Tomate (VMTom) et se rencontrent dans le monde entier (Hollings et Huttinga, 1976). La recherche d'autres plantes hôtes et la détermination de la composition en acides aminés de la protéine seront nécessaires pour préciser l'identité de notre souche ;

— un cucumovirus, le Virus de la Mosaïque du Concombre qui réagit avec les antisérums préparés contre la souche D. Les symptômes provoqués par le VMC sur la Tomate sont parfois semblables à ceux que provoquent certaines souches du VMT (Marrou et Duteil, 1974). Le VMC et le VMT peuvent aussi infecter simultanément la même culture (Nitzany et Sela, 1962). En Côte-d'Ivoire, le VMC infecte également Melon, Concombre, Courgette et Aubergine locale cv. « N'Drowa » dont 100 p. 100 des plants peuvent être virosés (Fauquet *et al.*, 1976), alors qu'il n'a jamais été trouvé sur l'Aubergine « violette » ;

— un potyvirus, le Pepper Veinal Mottle Virus, qui a été trouvé d'abord sur *Capsicum annuum* et *C. frutescens* au Ghana (Brunt et Kenten, 1971 et 1972), puis sur *L. esculentum* et *C. annuum* au Nigeria (Brunt, 1974 ; Lana *et al.* 1975), sur *C. annuum* et *C. frutescens* ainsi que *Datura metel* en Côte-d'Ivoire (de Wijs, 1973), sur *N. tabacum* et *Solanum nigrum* au Kenya, *Datura stramonium* en Afrique du Sud, *Solanum melongena* et *S. integrifolium* au Ghana (Brunt *et al.*, 1978). Ce virus transmis de manière non persistante par des pucerons (Brunt et Kenten, 1971 ; de Wijs, 1973 ; Lana *et al.*, 1975) semble plus répandu et plus important qu'il n'a été suggéré initialement (Brunt et Kenten, 1971). Les propriétés de notre isolat Tomate montrent qu'il est identique à la souche PVMV-Côte-d'Ivoire qui ne se distingue du PVMV-Ghana que par de très faibles différences dans la symptomatologie et la gamme d'hôtes (de Wijs, 1973).

La maladie caractérisée par le Rabougrissement apical et les nécroses des nervures est due probablement à un viroïde comme l'indique l'obtention de fractions infectieuses de gradient de saccharose et de gel de polyacrylamide correspondant à des acides nucléiques de faible poids moléculaire. Plusieurs viroïdes ont été décrits jusque-là sur la Tomate : le Potato Spindle Tuber Viroïd provoque la maladie du « bunchy top » de la Tomate (Diener et Raymer, 1971 ; Semancik et Weathers, 1972). Un acide nucléique infectieux de faible poids moléculaire a été purifié à partir de tomates malades (Singh et Clark, 1971 ; Semancik et Weathers, 1972) dont les propriétés sont très semblables à celles de l'agent du « citrus exocortis » qui provoque les mêmes symptômes sur la Tomate (Singh et Clark, 1973 ; Semancik et Weathers, 1972). Des études plus détaillées devraient nous permettre de préciser l'identité du viroïde présent en Côte-d'Ivoire, où il a pu être introduit par les graines (Singh, 1970).

Les symptômes de la Maladie jaune avec Enroulement des feuilles, l'absence de sa transmission par inoculation mécanique, et la présence de nombreuses mouches blanches (*Bemisia* sp.) sur les plants malades laissent à penser qu'il s'agit d'une maladie de type jaunisse transmise par Aleurodes (Marchoux *et al.*, 1970 ; Costa, 1976). Plusieurs maladies de ce type ont été décrites sur la Tomate dans diverses parties du monde. Elles provoquent des chutes de rendement pouvant atteindre 60 à 80 p. 100

en Israël (Cohen et Harpaz, 1964), au Soudan (Yassin et Nour, 1965), en Inde (Verma *et al.*, 1975), et au Liban (Makkouk *et al.*, 1979).

D'après la littérature, des symptômes d'Enroulement des feuilles et de Mosaïque jaune peuvent être provoqués par trois virus différents sur la Tomate :

1) Le Virus du « Tobacco Leaf Curl » (Storey, 1935 ; Pal et Tandon, 1937). Des souches de ce virus sont responsables de la maladie du « Leaf Curl » de la Tomate en Inde (Vasudeva et Samraj, 1948 ; Varma, 1963 ; Nariani, 1968) et du « Tomato Top Leaf Curl » à Ceylan (Newton et Peiris, 1953 ; Fernando et Peiris, 1957). Au Soudan, deux virus différents qui provoquent le « Leaf Curl », l'un avec épaissement, l'autre sans épaissement des nervures, font partie du complexe des virus du « Tobacco Leaf Curl » (Yassin et Nour, 1965).

2) Le Virus du « Tomato Yellow Leaf Curl » ravage les cultures de tomates en Israël (Cohen et Harpaz, 1964 ; Nitzany, 1975), en Jordanie (Makkouk, 1978), au Liban (Makkouk *et al.*, 1979), et peut-être en Inde (Verma *et al.*, 1975). Comme la plupart des virus transmis par mouches blanches, ce virus n'a pas pu être transmis par inoculation mécanique (Cohen et Nitzany, 1966 ; Nitzany, 1975 ; Makkouk, 1978) ou n'a été transmis que difficilement (Makkouk *et al.*, 1979).

Des maladies comparables existent en Amérique du Sud : l'une des six maladies de la Tomate transmise par *Bemisia tabaci* au Brésil (Costa *et al.*, 1977) — appelée « Golden Mosaic » — est semblable au « Tomato Yellow Leaf Curl » d'Israël (Costa, 1976) ; elle est due à un virus gemini (Matyis *et al.*, 1975) transmissible par inoculation mécanique (Costa *et al.*, 1977). L'agent responsable d'une Mosaïque jaune de la Tomate au Venezuela (Debrot *et al.*, 1963) est aussi transmissible par inoculation mécanique (Uzategui et Lastra, 1978). Enfin, une maladie voisine a été décrite sous le nom de « Yellow Top » en Australie (Braithwaite et Blake, 1961) et en Amérique du Sud (Costa et Carvalho, 1961).

3) Le Virus du « Beet Curly Top », geminivirus transmis par cicadelles (Thomas et Mink, 1979), se manifeste sur la Tomate par des déformations, un enroulement et un jaunissement des feuilles appelés « Tomato Curly Top » (Costa, 1952), « Western Yellow Blight », « Tomato Yellows » (Smith, 1957), ou « Tomato Leaf Crinkle » (Sukhov et Vovk, 1947).

Les éléments dont nous disposons actuellement ne nous permettent pas de déterminer si l'agent provoquant la Maladie jaune en Côte-d'Ivoire est une souche du Virus du « Tobacco Leaf Curl », une souche du « Beet Curly Top » ou s'il s'agit du virus du « Tomato Yellow Leaf Curl ».

Les symptômes de la dernière maladie évoquée dans cette note — fort épaissement des tiges, enroulement des feuilles et déformation des extrémités — rappellent ceux de la maladie du « Big Bud » (Samuel *et al.*, 1933). Ce type de symptôme a été décrit dans le monde entier sous des noms très divers : « tomato fruit-woodiness » (Ryzhkov et Koratschevsky, 1933), « tomato virescence » (Hill, 1943), « tomato super-budding » (Costa, 1949), « tomato stolbur » (Michailowa, 1935), « mal azul » (Borges, 1969), « cranberry false blossom » (Smith, 1957), *Lycopersicon virus 5* (classification de Smith). Ces maladies sont toutes provoquées par un mycoplasme (Cousin *et al.*, 1968 ; Kitajima et Costa, 1968 ; Borges, 1969 ; Bowyer *et al.*, 1969 ; Marchoux *et al.*, 1969 ; Fedotina, 1973). Par les observations de microscopie, nous essayons de détecter la présence éventuelle de mycoplasmes dans les tomates atteintes.

Parmi les maladies d'origine virale ou supposée virale que nous venons de décrire, quatre provoquent des dégâts importants dans les cultures de tomates en Côte-d'Ivoire : les agents de trois d'entre elles sont des virus connus, le Virus de la Mosaïque de la Tomate, le Virus de la Mosaïque du Concombre et le « Pepper Veinal Mottle Virus » ; la quatrième est due à un virus probablement transmis par aleurodes. Les maladies du Rabougrissement apical et du Stolbur sont moins importantes d'un point de vue économique ; les agents responsables sont un viroïde d'une part, et probablement un mycoplasme, d'autre part.

Reçu pour publication le 23 mai 1980.

Accepté pour publication le 21 juillet 1980.

Remerciements

Nous remercions les Docteurs Augier de Montgrémier, Devergne, Maat, et de Wijs pour les dons d'antisérums et la SODEFEL (Société de Développement des Fruits et Légumes en Côte-d'Ivoire), pour sa collaboration technique.

Summary

A study on tomato viruses in the Ivory Coast

Some virus — or viruslike diseases occurring on tomatoes in the Ivory Coast are described. Four diseases have a real economic importance ; three are due to viruses identified by host range, biological properties, microscopic observations and serological reactions : tomato mosaic virus, cucumber mosaic virus, and pepper veinal mottle virus. Symptoms and transmission properties of the fourth disease lead to conclude that it is probably caused by a whitefly-transmitted virus related to the tobacco leaf curl —, or the tomato yellow leaf curl — ; or to the beet curly top virus. Two other diseases, one caused by a viroid, and the other probably by a mycoplasma are also described.

Références bibliographiques

- BAUDIN P., 1968. Présence du virus de la maladie bronzée de la Tomate (TSWV) à Madagascar. *Ann. Epiphyt.*, **19** (1), 63-73.
- BORGES M. de Lourdes, 1969. « Mal Azul », a tomato disease related with the presence of « Mycoplasma » sp. *Ann. Phytopathol.*, **1**, H.-S., 443.
- BOWYER J. W., ATHERTON J. G., TEAKLE D. S., AHERN G. A., 1969. Mycoplasma-like bodies in plants affected by legume little leaf, tomato big bud and lucerne witches' broom diseases. *Aust. J. biol. Sci.*, **22** (1), 271-274.
- BRAITHWAITE B. M., BLAKE C. D., 1961. Tomato Yellow-top Virus : its distribution, characteristics and transmission by the aphid *Macrosiphum euphorbiae* (Thom.). *Aust. J. agric. Res.*, **12**, 1110-1117.
- BRUNT A. A., 1974. Tropical crops. *Glasshouse Crops Res. Inst. annu. Rep.* for 1973, 120-121.
- BRUNT A. A., KENTEN R. H., 1971. Pepper Veinal Mottle Virus — a new member of the Potato Virus Y group from peppers (*Capsicum annum* L. and *Capsicum frutescens* L.) in Ghana. *Ann. appl. Biol.*, **69**, 235-243.
- BRUNT A. A., KENTEN R. H., 1972. Pepper Veinal Mottle Virus. *C.M.I./Descr. Plant Viruses*, N° 104.
- BRUNT A. A., KENTEN R. H., PHILLIPS S., 1978. Symptomatically distinct strains of pepper veinal mottle virus from four West African solanaceous crops. *Ann. appl. Biol.*, **88** (1), 115-119.
- COHEN S., HARPAZ I., 1964. Periodic, rather than continual acquisition of a new tomato virus by its vector, the tobacco whitefly (*Bemisia tabaci* Gennadius). *Entomol. exp. appl.*, **7**, 155-166.
- COHEN S., NITZANY F. E., 1966. Transmission and host range of the tomato yellow leaf curl virus. *Phytopathology*, **56**, 1127-1131.
- COSTA A. S., 1949. Duas novas moléstias de virus do tomateiro em São Paulo. *Biologico*, **15** (4), 79-81.
- COSTA A. S., 1952. Further studies on tomato curly to in Brazil. *Phytopathology*, **42** (7), 396-403.

- COSTA A. S., 1976. Whitefly-transmitted plant diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **14**, 429-449.
- COSTA A. S., CARVALHO A. M. B., 1961. Studies on Tomato Yellow top. *Arq. Inst. biol.*, S. Paulo, **38**, 71-83.
- COSTA A. S., OLIVEIRA A. R., SILVA D. M., 1977. Transmissão mecânica do agente causal do mosaico dourado do tomateiro. *Summa phytopathol.*, **3**, 194-200.
- COUSIN M. T., MAILLET P. L., GOURRET J. P., GRISON C., STARON T., 1968. Présence de particules de type « Mycoplasme » dans le phloème de plantes infectées par trois maladies de type « jaunisse européenne », le Stolbur de la Tomate, l'Aster yellow du Glaïeul, la Phyllodie du Trèfle. Etudes cytologique et structurale. Premiers essais de lutte chimique. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, **11**, 887-895.
- DEBROT C. E., HEROLD F., DAO F., 1963. Nota preliminar sobre un « mosaico amarillento » del tomate en Venezuela. *Agron. trop. Maracay*, **XIII** (1), 33-41.
- DIENER T. O., RAYMER W. B., 1971. Potato spindle tuber « virus ». *C.M.I./Descr. Plant Viruses* N° 66.
- FAUQUET C., de WIJS J. J., DUBERN J., GIVORD L., THOUVENEL J. C., 1976. Maladies d'origine virale des plantes cultivées en zone tropicale étudiées à l'ORSTOM. *Initiations Doc. tech.*, ORSTOM, N° 31, 26 p., Paris.
- FAUQUET C., THOUVENEL J. C. et LAMY D., 1978. Cartographie des viroses des plantes maraichères en Côte-d'Ivoire. *Cam. Tech. thémat. Fruits et Légumes*, 2 févr. **78**, 76-81.
- FEDOTINA V. L., 1973. Mycoplasma-like organisms on stolbur-infected tomatoes. *Arch. Phytopathol. Pflanzensch.*, **9** (5), 273-279.
- FERNANDO H. E., PEIRIS J. W. L., 1957. Investigations on the Chili leaf curl complex and its control. *Trop. Agric.*, **113**, 905-923.
- GOODING G. V. Jr., HEBERT T. T., 1967. A simple method for purification of tobacco mosaic virus in large quantities. *Phytopathology*, **57**, 1285.
- HENNIG B., WITTMANN H. G., 1972. Tobacco Mosaic Virus : mutants and strains, In: KADO C. J., AGRAVAL H. O. *Principles and techniques in Plant Virology*, chap. 20, 546-594, Van Nostrand Reinhold Co, New York, Cincinnati, Toronto, London, Melbourne.
- HILL A. V., 1943. Insect transmission and host plants of virescence (big bud of tomato). *J. CSIRO*, **16** (2), 85-90.
- HOLLINGS M., HUTTINGA H., 1976. Tomato Mosaic Virus. *C.M.I./Descr. Plant Viruses*, N° 156.
- KITAJIMA E. W., COSTA A. S., 1968. Mycoplasma like structures in the phloem of tomato plants affected with brazilian big bud. *Bragantia*, **27** (2), 47-49.
- LADIPO J. L., 1976. Effect of bunchy-top on the performance of two greenhouse grown tomatoes. *Niger. J. Plant. Prot.*, **2**, 19-22.
- LADIPO J. L., 1977. A yellow-vein viruslike disease of tomato in Nigeria. *Plant Dis. Rep.*, **61** (11), 958-960.
- LADIPO J. L., ROBERTS I. M., 1977. Pepper Veinal Mottle Virus associated with a streak disease of tomato in Nigeria. *Ann. appl. Biol.*, **87**, 133-138.
- LANA A. F., ADEGBOLA M. O. K., 1977. Important virus diseases in Western African crops. *Rev. Plant Pathol.*, **56** (10), 849-868.
- LANA A. F., GILMER R. M., WILSON G. F., SHOYINKA S. A., 1975. An unusual new virus, possibly of the Polyvirus group, from pepper in Nigeria. *Phytopathology*, **65**, 1329-1332.
- LANA A. F., WILSON G. F., 1976. A new viruslike disease of tomato in Nigeria. *Plant Dis. Rep.*, **60** (4), 296-298.
- MAKKOUK K. M., 1978. A study on tomato viruses in the Jordan Valley with special emphasis on tomato yellow leaf curl. *Plant Dis. Rep.*, **62** (3), 259-262.
- MAKKOUK K. M., SHEHAB S., MAJDALANI S. E., 1979. Tomato Yellow Leaf Curl : incidence, yield losses and transmission in Lebanon. *Phytopathol. Z.*, **96**, 263-267.
- MARCHOUX G., GIANNOTTI J., LATERROT H., 1969. Le Stolbur P., une nouvelle maladie de type jaunisse chez la Tomate. Symptômes et examen cytologique des tissus au microscope électronique. *Ann. Phytopathol.*, **1** (4), 633-640.
- MARCHOUX G., LECLANT F., MATHAI P. J., 1970. Maladies de type jaunisse et maladies voisines affectant principalement les Solanacées et transmises par des insectes. *Ann. Phytopathol.*, **2** (4), 735-773.
- MARROU J., DUTEIL M., 1974. Tomato necrosis. I. — Reproduction of the typical symptoms through mechanical inoculation of several strains of cucumber mosaic virus (CMV). *Ann. Phytopathol.*, **6** (2), 155-172.
- MATYIS J. C., SILVA D. M., OLIVEIRA A. R., COSTA A. S., 1975. Purificação e morfologia do virus do mosaico dourado do tomateiro. *Summa Phytopathol.*, **1**, 267-274.
- MICHAJLOWA P. V., 1935. Pathologico-anatomical changes in the tomato incident to development of woodiness of the fruit. *Phytopathology*, **25**, 539-558.
- NARIANI T. K., 1968. Enation leaf curl of tomato. *Plant Dis. Rep.*, **52** (8), 595-596.
- NEWTON W., PEIRIS J. W. L., 1953. Virus diseases of plants in Ceylan. *FAO. Prod. veg. Prot. Plant.*, **2**, 17-21.

- NITZANY F. E., 1975. Tomato Yellow Leaf Curl Virus. *Phytopathol. mediterr.*, **XIV** (2-3), 127-129.
- NITZANY F. E., SELA I., 1962. Interference between cucumber mosaic virus and tobacco mosaic virus on different hosts. *Virology*, **17**, 549-553.
- OUCHTERLONY Ö., 1962. Diffusion in gel methods for immunological analysis. II. — *Progr. Allergy*, **6**, 30-154.
- PAL B. F., TANDON R. N., 1937. Types of tobacco leaf curl in northern India. *India J. agric. Sci.*, **7**, 363-393.
- PEACOCK A. C., DINGMAN C. W., 1968. Molecular weight estimation and separation of ribonucleic acid by electrophoresis in agarose-acrylamide composite gels. *Biochemistry*, **7** (2), 668-674.
- RANDES J. W., 1975. Association of two ribonucleic acid species with cadang-cadang disease of coconut palm. *Phytopathology*, **65**, 163-167.
- RITCHIE J. J. Mc, ALEXANDER L. J., 1963. Host specific *Lycopersicon* strains of Tobacco Mosaic Virus. *Phytopathology*, **53**, 394-398.
- RYZHOV V. L., KORATSHEVSKY M. P., 1933. Über die Fruchtverholzung bei Tomaten. *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz*, **43**, 496-498.
- SAMUEL G., BALD J. G., EARDLEY C. M., 1933. Big bud, a virus disease of tomato. *Phytopathology*, **23**, 641-653.
- SCOTT H., 1963. Purification of cucumber mosaic virus. *Virology*, **20**, 103-106.
- SEMANCIK J. S., WEATHERS L. G., 1972. Pathogenic 10 S RNA from Exocortis disease recovered from tomato bunchy-top plants similar to potato spindle tuber virus infection. *Virology*, **49**, 622-625.
- SINGH R. P., 1970. Seed transmission of potato spindle tuber virus in tomato and potato. *Am. Potato J.*, **47** (6), 225-227.
- SINGH R. P., CLARK M. C., 1971. Infectious low-molecular weight ribonucleic acid from tomato. *Biochem. biophys. Res. Commun*, **44** (5), 1077-1083.
- SINGH R. P., CLARK M. C., 1973. Similarity of host response to both potato spindle tuber and citrus exocortis viruses. *FAO. Prod. veg. Prot. Plant.*, **21** (6), 121-125.
- SLOGTEREN D. H. M. Van, 1954. Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. *Proc. 2nd Conf. on Potato Virus Dis.*, Lisse-Wageningen, 25-29 June 1954.
- SMITH K. M., 1957. A textbook of plant virus diseases. 652 p., 2nd ed., Churchill, London.
- SUKHOV K. S., VOVK A. M., 1947. New virus diseases of the tomato crinkles and its leafhopper vector *Agallia venosa* Fall. *Akad. Nauk Azerbajdzhanskoy SSR, Tr. Sekt. Erozi*, **56** (4), 433-435.
- STOREY H. H., 1935. Virus diseases of east african plants. II. — Leaf curl disease of tobacco. *East afr. agric. J.*, **8**, 148-153.
- THOMAS P. E., MINK G. I., 1979. Beet curly top virus. *C.M.I. Descr. Plant Viruses*, N° 210.
- THOUVENEL J. C., FAUQUET C., 1976. Les viroses des plantes maraichères au Sénégal. *Rapp. multigr.*, ORSTOM, 12 p.
- THOUVENEL J. C., GIVORD L., PFEIFFER P., 1976. Guinea Grass Mosaic Virus, a new member of the Potato Virus Y group. *Phytopathology*, **65**, 163-167.
- UZCATEGUI R. C. de, LASTRA R., 1978. Transmission and physical properties of the causal agent of Mosaico Amarillo del Tomato (Tomato Yellow Mosaic). *Phytopathology*, **68**, 985-988.
- VARMA P. M., 1963. Transmission of plant viruses by whiteflies. *Bull. natl Inst. Sci. India*, **24**, 11-33.
- VASUDEVA R. S., SAMRAJ J., 1948. A leaf curl disease of tomato. *Phytopathology*, **38**, 364-369.
- VERMA H. N., SRIVASTAVA M. K., MATHUR A. K., 1975. A whiteflytransmitted Yellow Mosaic Virus disease of Tomato from India. *Plant Dis. Rep.*, **59** (6), 494-498.
- WIJS J. J. de, 1973. Pepper Veinal Mottle Virus in Ivory Coast. *Neth. J. Plant. Pathol.*, **79**, 189-193.
- YASSIN A. M., NOUR M. A., 1965. Tomato leaf curl diseases in the Sudan and their relation to tobacco leaf curl. *Ann. appl. Biol.*, **56**, 207-217.

1.2.10. LES VIROSES DU POIS AILE EN COTE D'IVOIRE

FORTUNER, R., FAUQUET, C. & LOURD, M. (1979). Diseases of winged-bean in Ivory-Coast. Plant Dis. Repr., 63, 194-199.

DISEASES OF THE WINGED BEAN IN IVORY COAST

Renaud Fortuner, Claude Fauquet, and Maurice Lourd

Nematology, Virology, and Plant Pathology Departments, respectively, Office de la Recherche Scientifique et Technique, Outre-Mer (ORSTOM), BP V - 51, Abidjan, Ivory Coast.

ABSTRACT

Incidence of diseases and pathogens on the winged bean, Psophocarpus tetragonolobus, recently introduced into Ivory Coast was observed. Root-knot nematodes (Meloidogyne spp.) severely damaged roots and tubers of the bean. Three viral diseases were observed, which sometimes produced very heavy damage. A leaf anthracnose caused by Colletotrichum gloeosporioides did not reduce yield.

Plant Dis. Repr. 63: 194-199.

The winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) is a backyard crop grown in Southeast Asia, from Papua to Sri Lanka. In 1975 a panel of the National Academy of Sciences in Washington, D. C., on underexploited tropical plants, recognized the potential of the winged bean as a food crop throughout the humid tropical zone, where it could ease the problem of protein malnutrition. The panel recommended testing this plant in experiment stations in diverse regions of the tropics. The winged bean is rich in protein in seeds (29.8-37.4%), tubers (12.2-15.0%), leaves (5.7-15.0%), and flowers (5.6%). Immature pods are rich in vitamins, and seeds are a source of edible oil (15-20.4% fat) (1).

The Nestle Foundation introduced the culture of winged bean in the Ivory Coast in 1976, for the purpose of improving the protein content of the diet of people living in the forest zone (4). Field tests were initiated in 1976 at Kpouebo. A backyard planting in that village, on soil previously used to grow tomato, eggplant, and okra, was sown with *P. tetragonolobus* in February 1977. In May 1977, a 1-hectare field 2 km from Kpouebo, where the forest had been cleared 2 years previously for upland rice culture, was sown with winged bean. Two cultivars, one from Papua (New Guinea) and one from Ghana (of Chinese origin) were used. Geneticists from Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer (ORSTOM) also established a plot at Adiopodoume, to evaluate various cultivars. Mean annual rainfall is 1500 mm at Kpouebo and 2300 mm at Adiopodoume.

At the request of M. Sylla, an agronomist at the Nestle Foundation, the authors made observations on the incidence of various diseases and pathogens on this new crop.

NEMATODES

In July 1977, beans cultivated in the backyard planting at Kpouebo were heavily infected with root-knot nematodes. Symptoms are illustrated in Figure 1b. Oostenbrink (2) had previously reported an attack by *Meloidogyne javanica* on *P. tetragonolobus* in New Guinea. The species present in Ivory Coast were determined by Dr. D. P. Taylor (ORSTOM, Dakar, Senegal) as belonging to the *Meloidogyne javanica* - *M. incognita* - *M. arenaria* complex, which is very common in Africa. *Pratylenchus brachyurus* was also present in small numbers. At that time, in the field plot in the forest near Kpouebo, roots were apparently free of *Meloidogyne*.

At harvest time, in November, heavily galled roots were found in the field plot. On some roots the attack was severe enough to render the tubers unfit for consumption (Fig. 1b). No assessment of reduction in yield of pods, seeds, or leaves was made.

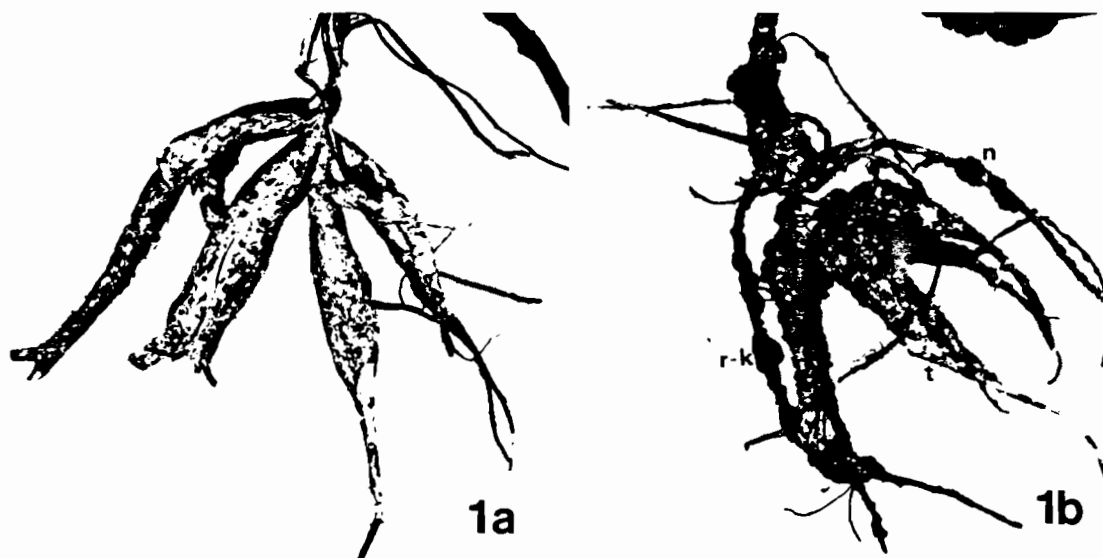


FIGURE 1. Damage caused by nematodes on *Psophocarpus tetragonolobus*. 1a) Healthy roots and tubers. 1b) Roots attacked by root-knot nematodes. t = damaged tubers, r-k = root-knot attack on roots, n = bacterial nodules.

A final survey, in January 1978, showed the field to be very heavily infested. Many plants had been killed and tubers were reduced in number (an estimated 50% of the tubers of the Papua cultivar and 60-70% of the Ghana cultivar failed to develop).

Root-knot nematode damage on tubers was evident, even in a field that had a very low level of infestation at sowing time. Reduction in yield of the other edible parts of the plant (pods, beans, and so forth) probably occurred, and it appeared imperative to control the nematodes either by chemicals, by using resistant cultivars, or by rotation with nonhost plants.

At Adiopodoume, the plot was treated with 5 g of 2,3-dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranyl methylcarbamate (3% carbofuran) per plant at planting. No infestation was observed during the growing season; however, it is not known whether this was due to the nematicide or to a low level of infestation in the soil.

VIRUSES

Three virus diseases were observed on winged bean. Preliminary results obtained in the study of their causal agent are presented.

A. Psophocarpus necrotic mosaic virus: The disease appeared only at Adiopodoume. It affected 9% of the young plants distributed throughout the entire field. Leaves of diseased plants were necrotic and distorted, with an occasional yellow mosaic pattern (Fig. 2a). The leaf surfaces were noticeably reduced, and the plants were underdeveloped. Severity of the disease appeared to be correlated with the time of infection. On older plants, the number of flowers was reduced, and consequently the yield was greatly reduced.

The disease was found to be mechanically transmissible from Psophocarpus to Psophocarpus, as well as to a limited number of other plants belonging to the families Leguminosae and Solanaceae. Apart from Psophocarpus, the only host plant showing symptoms was Canavalia ensiformis; other infected plants remained symptomless.

There was no transmission of the disease by seeds collected from infected Psophocarpus.

Aphis gossypii and Aphis craccivora failed to transmit the disease in either a nonpersistent or a persistent manner.

Purification of the virus was possible from infected leaves of Canavalia ensiformis and from infected leaves of Nicotiana megalosiphon. The grinding buffer used was phosphate 0.2 M pH 7.5, the crude sap was clarified by chloroform and concentrated with ammonium sulfate 20%. The final purification used a sucrose density gradient of 10-40% for 2 hours. The yield was about 10 mg/kg.

The ultraviolet spectra of purified preparations were typical of nucleoprotein with an helical symmetry.

Virus preparations, negatively stained with 2.5 uranyl acetate, were observed under an electron microscope and revealed elongated particles with a width of 14 nm and a length of 614-645 nm (Fig. 2b). A purified suspension inoculated to young seedlings of Psophocarpus induced typical symptoms of necrosis.

No such virus has previously been known to infect winged bean, and the disease is described here for the first time. In a comparison of the host range and symptoms of other filamentous viruses infecting legumes, we were unable to find any similarity with the present virus. No virus has been described with the same length and the same properties; therefore, we believe that Psophocarpus necrosis is caused by a filamentous virus previously undescribed, probably a carlavirus. We propose the name Psophocarpus necrotic mosaic virus.

B. Psophocarpus ringspot mosaic virus: A second disease was observed at Kpoucho. Every plant in both fields of winged bean in this village was infected. Contamination apparently occurred early, because symptoms could be observed on the first leaves. Leaves of diseased plants had light-green ringspots (Fig. 2c). The spots often coalesced to form a yellow mosaic. The exact reduction in yield caused by the disease is not known, but is estimated at about 10-20%. All plants were infected and the total loss was rather severe.

The virus was easily transmitted mechanically from Psophocarpus to Psophocarpus by using a phosphate buffer 0.1 M pH 7.1. Every inoculated seedling became diseased. The host range of this virus was found to be rather wide because it was able to infect plants within the families Leguminosae, Solanaceae, and Chenopodiaceae. Seeds harvested from naturally infected Psophocarpus had a virus transmission rate of about 1%. Aphis craccivora transmitted the disease in a nonpersistent manner, producing the same symptoms. For these experiments, 10 aphids were placed on each plant after a feeding time of 15 minutes on diseased plants. The thermal inactivation point was between 50° and 55°C. The longevity *in vitro* at 20°C was 29 hours; the virus was still infectious after freezing. For purification, the crude sap of infected

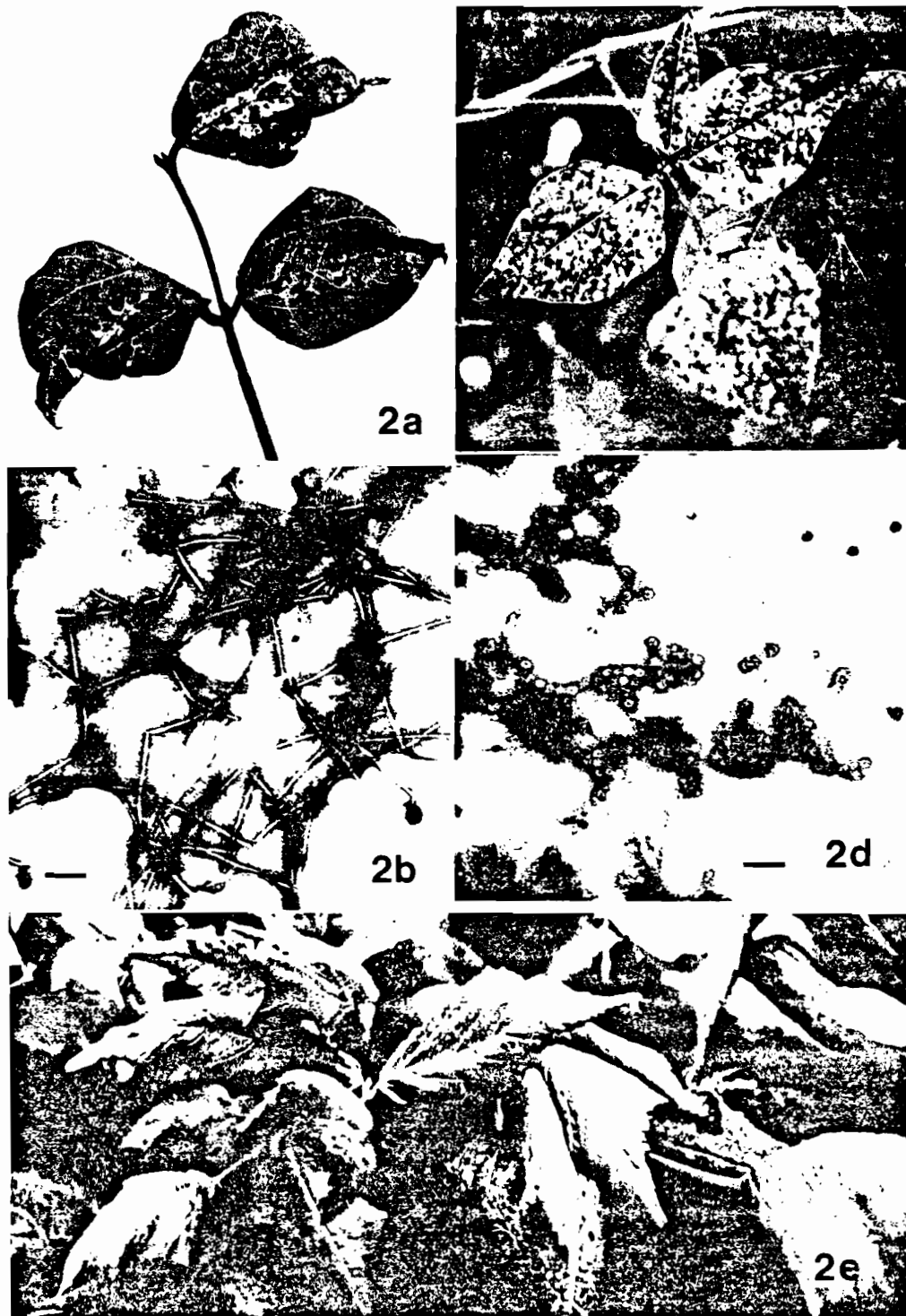


FIGURE 2. a) *Psophocarpus* necrotic mosaic virus: necrosis on a leaf of *Psophocarpus tetragonolobus*. b) *Psophocarpus* necrotic mosaic virus: electron microscope photomicrograph of the virus; the bar represents 200 nm. c) Symptoms of *Psophocarpus* ringspot mosaic virus. d) *Psophocarpus* ringspot mosaic virus: electron microscope photomicrograph of the virus; the bar represents 100 nm. e) Symptoms of *Psophocarpus* leaf-curl disease. (Electron microscope photomicrographs were prepared by Dr. Monsarrat.)

leaves was clarified by chloroform, and the virus was concentrated by alternating high and low centrifugations. The purification buffer was phosphate 0.2 M pH 7.5. The virus was finally purified on a sucrose density gradient 10-40% for 2 hours. The yield of virus was about 25 mg/kg, and the ultraviolet absorption spectra of purified suspension was typical of nucleoprotein and isometric particles. Under the electron microscope, virus preparations negatively stained with 2.5% uranyl acetate appeared to be composed of spherical particles with a diameter of 24 nm (Fig. 2d).

The purified virus inoculated to young seedlings of Psophocarpus induced ringspot symptoms.

This virus was found to be serologically related to cucumber mosaic virus (CMV) strain d.

The disease is described on Psophocarpus for the first time. Many of its properties lead us to believe that the virus is a cucumovirus; however, there are several differences in the host range and symptomatology between the Psophocarpus isolate and the other CMV legume isolates. For this reason, we shall refer to the virus as CMV strain Psophocarpus.

C. Psophocarpus leaf-curl disease: This disease appeared only at Kpouebo. All plants were infected, but not before the beginning of flowering. Leaves became dark green, thickened, and coiled downward (Fig. 2e). The apex stopped growing and many flowers fell off. Greenpod and seed production appeared to be severely affected by the disease. Young leaves of the after-growth, however, were free of symptoms; symptoms reappeared later. This demonstrates that the development of the causal agent was rather slow.

All of the usual methods of mechanical transmission, grafting, and purification failed to prove the presence of a virus. Preliminary transmission by seed or insects was also unsuccessful, and no virus was observed on electron microscope preparations. Consequently, it cannot yet be concluded that there is a viral agent for this disease. Similarities with okra leaf-curl, however, which is white-fly-transmitted, support the virus hypothesis. In addition, it is improbable that this disease is an artificially-induced physiological disorder because no chemical fertilizer or pesticide was used.

Presently, very little is known about virus diseases that affect Psophocarpus. Several authors (1, 3) have described this plant as being rather free of virus diseases. Sinnadurai (1977, The Winged Bean Flyer.) however, mentioned a severe virus disease on Psophocarpus in Ghana, but he did not give further details. In the Ivory Coast, three important diseases have appeared after only 2 years of winged bean culture. Two of them are definitely caused by viral agents: the filamentous Psophocarpus necrotic mosaic virus and the spherical Psophocarpus ringspot mosaic virus strain of CMV. The causal agent of the third disease is still unknown.

The virus diseases described on Psophocarpus are important because they attack the plants severely and great numbers of plants are infected. Control of these diseases should enhance the development of Psophocarpus production in the Ivory Coast.

FUNGUS

Little is known of the sensitivity of Psophocarpus tetragonolobus toward pathogenic fungi. We have observed only one fungal disease, which attacks leaves on older plants.

Brown necrotic polygonal-shaped leaf spots, a few centimeters wide and sometimes coalescing, were scattered irregularly on leaves. Newly formed spots were surrounded by a chlorotic diffuse area. The leaf tissues in the spot itself were first light yellow, and then turned brown and necrotic. On the largest spots, the foliar tissues shriveled, tore off, and fell. Leaves then appeared pitted.

Under the microscope, small glabrous acervuli, roundish or elongate, of the Colletotrichum-type, were visible on the necrotic tissues. The fungus was easily isolated and cultured. In culture, a dark brown thallus appeared which after a few days produced many separate acervuli with a diameter of 1-2 mm, excreting a light pink sporiferous jelly. This jelly enclosed hyaline conidia regularly cylindrical 12.4-16.5 μ m long and 4-5.5 μ m wide.

Also present on the thallus were black-brown glomerulae formed by spherical perithecia closely grouped. In the asci, eight hyaline ascospores were regularly arranged. These ascospores were markedly curved and were slightly larger than the conidia: 18-22 x 6-8 μ m.

The conidial form observed on the diseased leaves was identified as Colletotrichum gloeosporioides Penz., and the sexual form as Glomerella cingulata (Ston.) Spauld. & Schrenk.

Pathogenicity of the Colletotrichum to P. tetragonolobus was ascertained as follows: A concentrated suspension of conidia was sprayed on 1- and 2- month-old plants, which were then kept in a moist chamber for 48 hours. Eight days after inoculation numerous necrotic leaf spots were observed. From the acervuli formed on these spots, the fungus was re-isolated.

After 15 days, the younger leaves and the tip of the stem were parched. Thus, under optimal conditions, the fungus appeared to be able to attack both leaves and stem; this was never observed in the field, however.

At this time, the disease apparently does not reduce yield because only the older leaves are attacked. Further observations should be made, particularly during the rainy season when high humidity may permit the fungus to infect young leaves and stems. If this happens, the severity of the disease will be far greater.

Literature Cited

1. ANONYMOUS. 1975. The winged bean, a high-protein crop for the Tropics. Natl. Acad. Sci. Washington, D.C. 43 pp.
 2. OOSTENBRINK, M. 1961. Enige bijzondere aaltjesaantastingen in 1960. Tijdschr. Plantenziekten 67: 57-58.
 3. POSPÍŠIL, F., S. K. KARIKARI, and E. BOAMAH-MENSAH. 1971. Investigations on winged bean in Ghana. World Crops 43: 260-264.
 4. RAVELLI, G. P., G. K. N'ZI, L. DIABY, K. B. N'DRI, C. G., MAYER, and B. S. SYLLA. The winged bean as a new source of protein for rural populations in the Ivory Coast, West Africa. Comm. Intern. Winged Bean Seminar, Manila, Philippines, January 9-14, 1978. (Symposium proceedings in press).
-

ORGANISATION DES NATIONS UNIES POUR L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE

**LES MALADIES VIRALES DU POIS AILÉ
EN CÔTE - D'IVOIRE**

C. Fauquet, D. Lamy et J.-C. Thouvenel



Tiré à part du
Bulletin phytosanitaire de la FAO
Vol. 27, N° 3, 1979

Les maladies virales du pois ailé en Côte-d'Ivoire

C. FAUQUET, D. LAMY et J.-C. THOUVENEL

Résumé

Trois maladies de type viral ont été observées sur *Psophocarpus tetragonolobus* en Côte-d'Ivoire et la nature virale de deux d'entre elles a été clairement mise en évidence: il s'agit de la mosaïque nécrotique due à un virus filamenteux, et de la mosaïque en anneaux provoquée par un virus sphérique. En ce qui concerne la troisième maladie, toutes les expériences effectuées jusqu'à présent n'ont pas permis de déceler un agent viral, mais sa présence est néanmoins suspectée. Le présent article décrit les symptômes de ces maladies, leur importance respective sur le développement de la plante, et les premiers résultats concernant leur vecton, leur transmission et la nature des virus mis en évidence.

Le *Psophocarpus tetragonolobus* (ou pois carré ou pois ailé) est d'introduction très récente en Côte-d'Ivoire puisque c'est en 1976 que la fondation Nestlé a importé des graines du Ghana et de Papouasie Nouvelle-Guinée en vue d'étudier l'influence de la consommation par les enfants sur leur développement. *Psophocarpus* est en effet très riche en protéines: 30 pour cent dans les graines, 6 à 15 pour cent dans les gousses et 12 pour cent dans les tubercules.

Jusqu'à maintenant, cette plante n'est cultivée que dans deux régions différentes: en basse Côte-d'Ivoire avec une pluviométrie de 2 300 mm, et à la limite de la forêt et de la savane avec 1 500 mm de pluie. *Psophocarpus* n'est cultivé pour l'instant que dans un but expérimental; cependant, il a déjà été distribué à 130 paysans d'une même région et la culture devrait bientôt s'étendre à d'autres régions de la Côte-d'Ivoire.

Dès les premières cultures, des problèmes phytosanitaires se sont posés et, en particulier, l'apparition de maladies virales. Les trois maladies observées ainsi que les premiers résultats obtenus sont décrits ci-après.

Matériel et méthodes

Inoculation mécanique. Les essais d'inoculation mécanique se font de la façon suivante:

Les auteurs travaillent avec Orstom BP V-51, Abidjan, Côte-d'Ivoire. Ils remercient vivement les chercheurs de la fondation Nestlé qui ont mis leurs cultures à leur disposition, ainsi que le docteur Monsarrat pour ses observations au microscope électronique. Ils remercient également le professeur Hirth qui a bien voulu diriger ce travail et rédiger le manuscrit.

l'échantillon est broyé dans un mortier ou dans de la glace pilée, avec un tampon phosphate de potassium 0,1 M pH 7,1 contenant 0,02 M de chlorure de cystéine, à raison de 5 ml de tampon par gramme de plante. Le jus brut obtenu est inoculé manuellement en présence de carborundum (M400) sur les feuilles convenablement choisies.

Purification des virus. La méthode de purification décrite ci-après a été utilisée pour les trois maladies. Les feuilles malades sont broyées dans un homogénéisateur pendant deux minutes avec un tampon phosphate 0,2 M pH 8,2 contenant de l'urée 1 M, de l'EDTA (0,1 pour cent) et du mercapto-éthanol (0,4 pour cent), à raison de 3 ml de tampon par gramme de feuille. Le jus est clarifié par du chloroforme, à proportion de 1 ml par gramme de feuille. Le virus est ensuite purifié par alternance de centrifugations à haute et basse vitesses, le dernier stade de purification étant une centrifugation sur un gradient de saccharose (10-40 pour cent). Le virus est ensuite remis en suspension dans du tampon borate 0,05 M pH 8.

Observation au microscope électronique. Le matériel à observer est déposé sur des grilles de microscopie électronique carbonées, et coloré à l'acétate d'uranyle à 3 pour cent.

Mosaïque nécrotique du pois ailé

Localisation. Cette maladie est apparue uniquement dans la culture effectuée en basse Côte-d'Ivoire. Elle s'est manifestée rapidement,

mais pas systématiquement, sur les jeunes pieds; sur 1364 pieds observés, 118 (9 pour cent) montraient des symptômes. Ces pieds malades étaient répartis uniformément sur toute la surface du champ.

Symptômes. Les plantes malades montrent des nécroses sur les feuilles, qui déforment les folioles. Autour des taches nécrotiques, on peut également remarquer des zones jaunes de mosaïque (figure 1a). La surface foliaire est nettement réduite et la plante dans son ensemble a un aspect chétif et peu développé. La maladie est systémique, toutes les nouvelles feuilles présentant ces symptômes de nécrose. La gravité de la maladie semble proportionnelle à la précocité de l'attaque. En effet, si la plante est infectée très jeune, des nécroses apicales l'empêchent aussitôt de croître. Par contre, si le pois ailé est relativement âgé, les nécroses se produisent uniquement sur les feuilles. Le nombre de fleurs est nettement réduit, et beaucoup d'entre elles avortent.

Transmission mécanique. Les auteurs ont artificiellement transmis cette maladie à des plantules saines de *Psophocarpus* par inoculation mécanique de jus brut de *Psophocarpus* malade. Ils ont obtenu la reproduction exacte des symptômes naturels (figure 1b) et ont pu confirmer les observations faites sur le terrain concernant la gravité des symptômes. L'inoculation réalisée sur de jeunes plantules de 14 jours provoque la nécrose apicale et la mort de la plantule. Plus la plante est âgée, plus elle résiste à cette infection.

L'inoculation mécanique de cette maladie à de nombreuses plantes a été tentée parmi les chénopodiacées, les solanacées et les légumineuses, mais seules quelques plantes hôtes comme *Phaseolus vulgaris*, *Canavalia ensiformis* et *Nicotiana megalosifon* ont été trouvées.

Transmission par la graine. Des graines récoltées sur des plants malades ont été semées dans de la terre stérile et sous abri, afin de tester la transmission par la graine. Sur 1200 graines, aucune plante obtenue n'a montré les symptômes caractéristiques de cette maladie.

Vection. Des expériences de transmission par pucerons ont été effectuées avec *Aphis craccivora*, rencontré fréquemment sur *Psophocarpus*, mais aucune transmission n'a pu être

décelée, que ce soit par le mode non persistant ou par le mode persistant.

Identification. Les résultats obtenus par inoculation mécanique et l'étude des propriétés biologiques du jus brut de plante malade font penser à une maladie virale. Le virus a pu être purifié et des observations au microscope électronique ont révélé des particules filamenteuses de 620 nm de longueur et 14 nm de largeur (figure 1c). Cette suspension de virus purifié, réinoculée à des pois ailés, provoque l'apparition de symptômes nécrotiques caractéristiques.

Conclusion. Il a été démontré que la mosaïque nécrotique du pois ailé est provoquée par un virus de type filamenteux. Aucune maladie de ce genre n'a jamais été décrite sur *Psophocarpus* et aucun virus ayant des caractères morphologiques comparables n'est connu pour provoquer de tels symptômes sur cette plante. Parmi tous les virus filamenteux de légumineuses, aucun ne semble avoir les mêmes propriétés que celui-ci. Cependant, les résultats sont encore imprécis et trop peu nombreux pour affirmer qu'il s'agit d'un nouveau virus. Néanmoins, afin d'éviter toute confusion, celui-ci sera désigné provisoirement sous le nom de *Psophocarpus necrotic mosaic virus*.

Il semble que ce virus ne soit pas transmis par la graine, mais plutôt naturellement par un insecte; cependant, ceci n'a pas encore pu être prouvé.

Mosaïque en anneaux du pois ailé

Localisation. Cette maladie est apparue dans la zone de culture à la limite de la forêt. Tous les pieds étaient atteints et, apparemment, la contamination avait eu lieu précocement, car les symptômes étaient visibles sur les toutes premières feuilles.

Symptômes. Les plantes malades montrent sur leurs feuilles des taches vert clair en forme d'anneaux qui souvent se joignent les unes aux autres (figure 2a). Ce symptôme, qui est le plus caractéristique, peut évoluer vers une mosaïque en taches plus jaunes ou même vers une coloration des nervures très discrète. D'une façon générale, les pieds très atteints ont leurs feuilles cloquées et légèrement déformées (figure 2b).



Figure 1a. Symptômes en champs de mosaïque nécrotique sur *Psophocarpus tetragonolobus*.

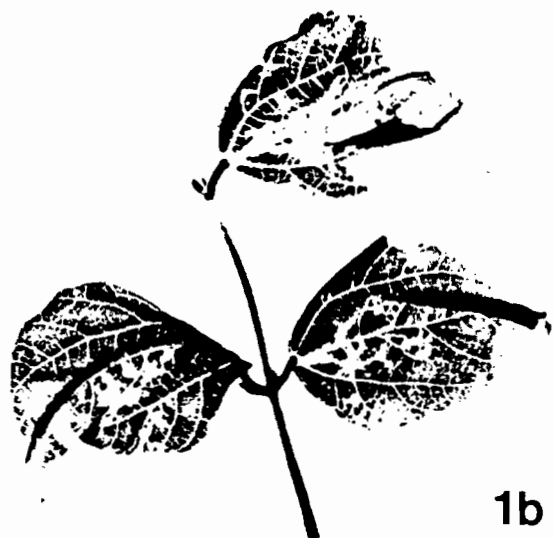


Figure 1b. Symptômes de nécrose obtenus sur feuilles de *P. tetragonolobus* par inoculation mécanique.

Figure 1c. Virus de la mosaïque nécrotique du pois ailé au microscope électronique. Trait = 200 nm.





Figure 2a. Symptômes en champs de mosaïque en anneaux sur *Psophocarpus tetragonolobus*.

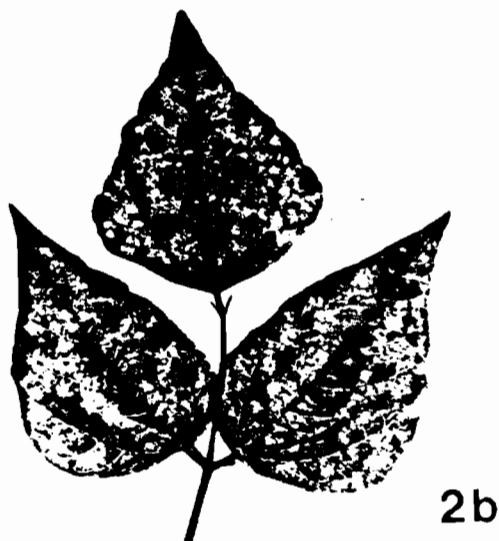


Figure 2b. Symptômes de mosaïque en anneaux sur feuilles de pois ailé obtenus par inoculation mécanique.

Figure 2c. Particules virales de la mosaïque en anneaux de *Psophocarpus tetragonolobus* au microscope électronique. Trait = 100 nm.





Figure 3a. Symptômes en champs de rabougrissement sur *Psophocarpus tetragonolobus*.

Les feuilles malades ont une surface foliaire réduite et le développement général de la plante est également diminué.

L'incidence de cette maladie sur le rendement n'est pas connue, mais on peut penser qu'elle est de l'ordre de 10 à 20 pour cent, ce qui entraîne une perte de récolte non négligeable, car tous les plants de cette zone de culture sont infectés.

Transmission. Cette maladie a pu être transmise par inoculation mécanique de *Psophocarpus* (figure 2b), ainsi qu'à toute une série de plantes hôtes parmi les chénopodiacées, les solanacées et les légumineuses.

La transmission par la graine a également été testée en semant, dans de la terre stérile et sous abri, 800 graines provenant de pieds malades. Une transmission positive, donnant exactement les mêmes symptômes que sur le terrain, a été constatée à un taux relativement faible de 1 pour cent maximum.

Vection. Des expériences de transmission avec *Aphis craccivora* ont été effectuées, soit avec des pucerons trouvés sur des plantes malades,

soit avec des pucerons d'élevage. Une transmission sur le mode non persistant a pu être démontrée.

Des expériences de transmission avec des Chrysomelidae ou des Pentatomidae se sont révélées négatives.

Identification. Tous les résultats obtenus par inoculation, étude des propriétés biologiques du jus brut de plante malade et transmission par aphide démontrent qu'il s'agit bien d'une virose. Le virus a pu être purifié par la méthode utilisée pour le virus précédent, et des grilles de microscopie électronique ont pu être effectuées révélant des particules sphériques de 24 nm de diamètre (figure 2c). Cette suspension purifiée inoculée à des pois ailés provoque l'apparition des symptômes observés sur le terrain.

Conclusion. Il a été démontré que la mosaïque en anneaux du pois ailé est due à un virus sphérique. C'est la première fois que cette maladie est décrite sur *Psophocarpus* et aucun virus de ce type n'est connu pour provoquer de tels symptômes sur cette plante. Les propriétés de ce virus laissent penser qu'il s'agit d'un cucumovirus; cependant, il n'a pas été possible de

En Côte-d'Ivoire, dès les premières cultures de pois ailé, trois maladies importantes sont apparues. Deux d'entre elles sont attribuables de façon certaine à des virus. La mosaïque nécrotique est due à un virus filamenteux, et la mosaïque en anneaux est provoquée par un virus sphérique transmis par aphide. Il est encore trop tôt pour parler de virose dans le cas de la troisième maladie, mais cette hypothèse est très vraisemblable.

L'incidence de ces viroses sur la culture est importante à la fois par l'intensité des symptômes dans le cas de la nécrose, et par le nombre de pieds malades dans le cas de la mosaïque en anneaux. Le rabougrissement est néfaste par son action sur toutes les plantes du champ pendant la floraison. Le contrôle de ces maladies sera un facteur très important pour le développement de cette culture en Côte-d'Ivoire.

Ouvrages cités

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. *The winged-bean: a 1975 high protein crop for the tropics*. Washington, DC, Etats-Unis. 41 p.

NEWTON, W. & PIERIS, J.W.L. Les viroses des plantes 1953 à Ceylan. *Bull. phytosan. FAO*, 2: 17-21.

POSPISIL, F., KARIKARI, S.K. & BOAMAH-MENSA, E.

1971 Investigations of winged bean in Ghana. *World Crops*, 43: 260-264.

RACHIE, K.C. *Potentials of field beans and other 1973 food legumes in Latin America*. Colombia, CIAT.

SINNADURAI. The winged bean fly, 1, 2, p. 6. 1977

FAUQUET, C. & THOUVENEL, J.-C. (1978). Two viral diseases isolated from winged-bean in Ivory-Coast. VIIIth meeting Intern. Working Group on Legume Viruses, 24-28/8/78, Zurich, SUISSE.

TWO VIRAL DISEASES OF *PSOPHOCARPUS TETRAGONOLOBUS*
IDENTIFIED IN IVORY-COAST

FAUQUET C, LAMY D., THOUVENEL J.-C.
Virology department
ORSTOM BP V51
Abidjan, Côte d'Ivoire

INTRODUCTION. The winged-bean is a backyard crop (*Psophocarpus tetragonolobus*) grown in Southeast Asia from Papua to Sri Lanka. It is a leguminous plant that is very rich in proteins either in the seeds (30/37 %), tubers (12/15 %), leaves (6/15 %) or flowers (5/6 %). The immature pods are very rich in vitamins and the seeds are a source of edible oil (15/20 % fat).

In 1975 a panel of the National Academy of Sciences in Washington, concerning underexploited tropical plants recognized its interest as a food crop through the humid tropical zone, where it can help solve the problem of malnutrition. The panel counselled testing the plant in experimental stations in different regions of the tropics. In Ivory-Coast, the *Psophocarpus* was introduced in 1976 in two regions where the annual rainfalls are respectively 1500 mm and 2300 mm. Two cultivars were used : one from Papua (New-Guinea) and one from Ghana (of Chinese origin).

From the beginning, viral diseases appeared on the first cultures. Two of them will be successively described here and the first results of their identification presented.

1° *Psophocarpus* Ringspot Mosaic Virus (Pso RSV)

- a) Symptoms : The disease was only observed in the less rainy region. Every plant of each culture was infected. The contamination seemed to be early as the symptoms could be observed on the very first leaves. The leaves of the diseased plants presented light-green ringspots. The spots can often join together to become a yellow mosaic. The exact reduction of yield caused by the diseased is not known but estimated to be about 20 %. As all the plants are infected, the total loss is rather severe.
- b) Transmission : The virus can easily be transmitted mechanically from *Psophocarpus* to *Psophocarpus*, and also to many other host-plants listed in table I. It must be noticed that the virus induces local lesions on *Chenopodium quinoa*, *Phaseolus mugo* and *Vigna unguiculata*. Many host-plants react symptomless and the virus often produces necrosis (*Nicotiana clevelandii*, *N. glutinosa*, *Vigna sinensis*, *Capsicum annuum*). The virus cannot infect *Cucumber*, *Tomato* or *Chenopodium amaranticolor*, among other negative host-plants (table II). In seeds harvested from naturally infected *Psophocarpus*, the transmission rate of the virus is about 1 %. *Aphis craccivora* transmit the disease in the non-persistent manner, producing the same symptoms.

- c) Biological properties : The biological properties of the virus were determined in the crude sap of infected *Psophocarpus* and *Chenopodium quinoa*. Thermal inactivation was situated between 50° and 55°C. The longevity *in vitro* at, 20°C ended at 29 hours and the virus is still infectious after freezing.
- d) Purification : The crude sap of *Psophocarpus* infected leaves is clarified by chloroform and the virus is concentrated by alternance of high and low centrifugations. The virus is finally purified on a sucrose density gradient 10-40 % during 2 hours. The yield of virus is about 25 mg/kg. Purified preparations of the virus present ultraviolet absorption spectra typical of nucleoprotein and of isometric particles, with a A 260 nm/280 nm ratio of 1.45-1.5. The maximum absorption is at 260 nm and the minimum at 243 nm with a ratio of 1.18-1.25. In the electron microscope, virus preparations negatively stained with 2,5 % uranyl acetate appeared to be composed of spherical particles with a diameter of 24 nm. This purified suspension inoculated to young *Psophocarpus* induces ringspot symptoms.
- e) Serology : The virus is not a good antigen and the serum produced has only a titre of 1/32 in gel double diffusion test. The virus does not react with the following antisera : CMV to, CMV d, TAV, TAV 2, TAV ca, PSV 1 and PSV 2.
- f) Discussion : The disease is described on *Psophocarpus* for the first time. Many of its properties let us think the virus could be a cucumovirus. However, there are several differences in the host range and symptomatology between members of the cucumovirus group and the *Psophocarpus* Ringspot Virus (Table III) (MARROU et al. 1975) either those that are seed-transmitted in cowpea (ANDERSON 1975, BRANTLEY 1965, PHATAK et al. 1976, FISCHER 1976) or in bean (BOS and MAAT 1974, BIRD and al. 1974, MEINERS and al. 1977). None of the strains of CMV have been reported to produce the ringspotting symptoms in the primary leaves of cowpea characteristic of Pso RSV.

There is no serological relationship between Pso RSV and members of the CMV group but the cowpea and bean seed-transmitted strains were not tested, and the lack of serological relationships does not exclude the Pso RSV from the CMV group as for instance Cp RSV.

In order to test the hypothesis, it would be necessary to determine the molecular weight of the protein subunit and the number of nucleic acids.

For the time being, we propose to keep the name *Psophocarpus* Ringspot Virus for the causal agent of the disease.

2° *Psophocarpus* Necrotic Mosaic Virus (Pso NMV)

- a) Symptoms : The disease appeared only in the most rainy region. It affects 10 % of the plants, distributed in the whole field. The diseased leaves present necrotic patches producing distortions and sometimes we can observe a yellow mosaic on the young leaves. The surface of the leaves is very reduced and the plant is underdeveloped in comparison with the healthy plants. The severity of disease depends on the earliness of the attack. On young plants, strong apical necrosis develops and the winged-bean dies. On older plants, the number of flowers and consequently the yield are very reduced.

- b) Transmission : The disease is mechanically transmissible from *Psophocarpus* to *Psophocarpus* and also to a very limited host range, belonging to leguminosae and Solanaceae (see table IV). The only host-plant presenting symptoms out of *Psophocarpus* is *Canavalia ensiformis*, the others are symptomless.

The virus is not transmitted either by seed or aphid.

- c) Biological properties : The biological properties of the virus were determined in the crude sap of infected *Psophocarpus* and tested on seedlings of *Psophocarpus*. The thermal inactivation point is situated between 55° and 60°C, the longevity in vitro at 20°C reaches 26 hours and the virus is still infectious after 14 days congelation.

- d) Purification : The virus can be purified either from *Canavalia ensiformis* infected leaves or from *Nicotiana megalosifon* infected leaves. The crude sap is clarified with chloroform and concentrated with ammonium sulfate. The final purification is a sucrose density gradient 10 - 40 % during 3 hours. The yield of virus is about 10 mg/kg.

The ultraviolet spectra of purified preparations is typical of nucleoprotein with an helical symmetry. The ratio $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}} = 1.09$; the maximum absorption is 260 nm and the minimum is 250 nm with a ratio of 1.03.

Virus preparations, negatively stained with 2,5 % uranyl acetate were observed in an electron microscope and revealed elongated particles with a width of 14 nm. The length of the virus is varying with the host-plant and is 614 nm long in *Nicotiana megalosifon* and 645 nm long in *Canavalia ensiformis*.

A purified suspension inoculated to young seedlings of *Psophocarpus* typical necrosis symptoms.

- e) Discussion : No such virus is known to infect the winged-bean and the disease is described for the first time. Comparing the host-range and symptoms of other filamentous viruses infecting legumes (table V) we can find no similarity with the *Psophocarpus* necrotic mosaic virus.

Besides there is no virus described with the same length and the same properties.

So we think that *Psophocarpus* Necrosis is caused by a filamentous virus previously undescribed, probably a carlavirus. We propose to name it *Psophocarpus* Necrotic Mosaic Virus.

CONCLUSION. Since the first cultures of winged-bean in 1976 in Ivory-Coast, at least two viral diseases appeared. The first one is a mosaic with ringspots and is caused by a spherical virus that is seed and aphid-transmitted. The *Psophocarpus* Ringspots ~~and is caused~~ Mosaic Virus (Pso RSV) is probably a cucumovirus, a particular strain of CMV or a different virus. The second disease affecting *Psophocarpus* is a necrotic mosaic the causal agent of which is a filamentous virus of 620-650 nm. It is certainly a new carlavirus infecting leguminosae and we suggest to name it *Psophocarpus* Necrotic Mosaic Virus (Pso NMV).

TABLE I

Family	Plant host tested	Local	Systemic
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium quinoa</i>	☆	—
Leguminosae	<i>Phaseolus lathyroides</i>		○
	<i>Phaseolus mungo</i>	★	●
	<i>Phaseolus vulgaris</i>		●
	<i>Pisum sativum</i>		○
	<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>		●
	<i>Vicia faba</i>		○
	<i>Vigna sinensis</i>	☆ ★	●
Solanaceae	<i>Capsicum annum</i>		●
	<i>Nicotiana clevelandii</i>		●
	<i>Nicotiana glutinosa</i>		●
	<i>Nicotiana megalosiphon</i>		○
	<i>Nicotiana tabacum samsun</i>		○
	<i>Petunia hybrida</i>		○

Positive host-plants for *Psophocarpus* Ring-Spot Virus

☆ Chlorotic lesion

★ Necrotic lesion

○ Symptomless

● Mosaic

TABLE II

Family	Plant-host tested	Local	Systemic
Chenopodiaceae	<i>Beta vulgaris</i>		-
	<i>Chenopodium amaranticolor</i>		-
Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i>		-
Leguminosae	<i>Arachis hypogea</i>		-
	<i>Canavalia ensiformis</i>		-
	<i>Cassia occidentalis</i>		-
	<i>Cassia oretusifolia</i>		-
	<i>Centrosema pubescens</i>		-
	<i>Clitoria rubiginosa</i>		-
	<i>Clitoria ternatea</i>		-
	<i>Crotalaria anagyroides</i>		-
	<i>Desmodium lasiocarpum</i>		-
	<i>Glycine max</i>		-
	<i>Phaseolus atropurpureus</i>		-
<i>Trifolium repens</i>		-	
Malvaceae	<i>Hibiscus esculentus</i>		-
Solanaceae	<i>Datura stramonium</i>		-
	<i>Datura innoxia</i>		-
	<i>Lycopersicon esculentum</i>		-
	<i>Physalis alkekengi</i>		-
	<i>Physalis floridana</i>		-
	<i>Solanum melongena</i>		-

Negative host-range for *Psophocarpus* Ring-Spot Virus

TABLE III

	CMV	TAV	PSV	CpRSV	CMV.PR	BVBMV	CpCMV	PsoRSV
<i>Arachis hypogea</i>	-		+	-	-		-	-
<i>Cucumis sativus</i>	+	-	+	-	+-	+	+	-
<i>Datura stramonium</i>	+	-	+	-	-	+	-	-
<i>Lycopersicum esculentum</i>	+	+	+	(+)	-	+		-
<i>Phaseolus vulgaris</i>	+	-	+	+	+	+	+	(+)
<i>Vigna unguiculata</i>	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	+			+	+	+	+	-
				Iran	PR	PR	Maroc	CI
Sero. CMV		+	+	-	+	+	+	-

Comparison of host-range of different Cucumo-viruses

TABLE IV

Family	Plant-host tested	Systemic
Leguminosae	<i>Arachis hypogea</i>	○
	<i>Canavalia ensiformis</i>	●
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	○
	<i>Phaseolus lathyroides</i>	○
	<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>	●
	<i>Vicia faba</i>	○
Solanaceae	<i>Nicotiana megalosifon</i>	○

Positive host-range for *Psophocarpus* Necrotic Mosaic Virus

● mosaic

○ symptomless

TABLE VI

	Length	Seed-Borne	Vector	Thermo-Inac.	Geo. distri.	<i>Arachis hypogea</i>	<i>Canavalia</i>	<i>Cassia</i>	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	<i>Chenopodium quinoa</i>	<i>Cucumis sativus</i>	<i>Glycine max</i>	<i>Nicotiana clevelandii</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Pisum sativum</i>	<i>Vicia faba</i>	<i>Vigna sinensis</i>
Pea Early Browning V	105 215	+	Nem	74.78	Eur				★				★●		★	☆●	☆●	
Clover Yellow Vein V	760	-	Ap	55.60	USA				★	☆			☆●	☆	☆●	●	●	—
Pea Seed-borne Mos. V	770	+	Ap	55	USA Eur				★	☆						●	●	
Bean Yellow Mosaic V	750	-	Ap	50.62	WW				●	☆				☆	●	●	●	
Bean Common Mosaic V	750	+	Ap	60	WW					☆		●			★●			
✕ Peanut Mottle V	750	+	Ap	55.59	WW	●		●	—			☆●	☆●		★●	●		
✕ Cowpea Aphib-bo M.V	750	+	Ap	57.60	WW				★			●			☆●	●		●
Soybean Mosaic V	650 725	+	Ap	55.65	WW		●	●		☆		●			☆●		☆	
✕ Cowpea Mild Mottle V	650	+	?	65.70	AF	●☆				☆		●	●		●			
Pea Streak V	620	-	Ap	60.80	USA	●			★							●	★	
Red Clover Vein M.V	645		Ap	60.65	USA Eur				☆	☆		★				●	●	
Clover Yellow Mos. V	540	+	Ap	58.62	USA				☆●		☆●					●	●	☆●
White Clover Mos. V.	480	+	?	60.80	WW						☆●				★●	●	☆●	☆●
✕ Psopho. Necrotic M.V	620	-	?	50.55	Af	○	●	—	—	—	—	—	—	—	○	—	○	—

Comparison of filamentous viruses of legumes with *Psophocarpus* Necrotic Mosaic Virus

Chlorotic lesion

Necrotic lesion

Symptomless

Mosaic

TABLE V

Family	Plant-host tested	Systemic
Chenopodiaceae	<i>Beta vulgaris</i>	-
	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	-
	<i>Chenopodium quinoa</i>	-
	<i>Chenopodium murale</i>	-
Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i>	-
Leguminosae	<i>Cassia occidentalis</i>	-
	<i>Cassia oretusifolia</i>	-
	<i>Centrosema pubescens</i>	-
	<i>Clitoria rubiginosa</i>	-
	<i>Clitoria ternatea</i>	-
	<i>Crotalaria anagyroides</i>	-
	<i>Desmodium lasiocarpum</i>	-
	<i>Glycine max</i>	-
	<i>Phaseolus atropurpurens</i>	-
	<i>Phaseolus mungo</i>	-
	<i>Trifolium repens</i>	-
	<i>Vigna sinensis</i>	-
Malvaceae	<i>Hibiscus esculentus</i>	-
Solanaceae	<i>Capsicum annum</i>	-
	<i>Datura innoxia</i>	-
	<i>Lycopersicon esculentum</i>	-
	<i>Physalis alkekengi</i>	-
	<i>Physalis floridana</i>	-
	<i>Nicotiana clevelandii</i>	-
	<i>Nicotiana glutinosa</i>	-
	<i>Nicotiana tabacum samsun</i>	-
	<i>Petunia hybrida</i>	-
	<i>Solanum melongena</i>	-
<i>Solanum nigrum</i>	-	

Negative host-range for *Psophocarpus* Necrotic Mosaic Virus

BIBLIOGRAPHY

- ANDERSON, C.W., 1955 : *Vigna* and *Crotalaria* viroses in Florida. I. Preliminary report on a strain of Cucumber Mosaic Virus obtained from cowpea. Plant Dis. Repr. 39, 346-48.
- BIRD, J., J. SANCHEZ, R.L. RODRIGUEZ, A. CORTES-MONLLOR and W. KAISER. 1974. A mosaic of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) caused by a strain of common Cucumber Mosaic Virus, J. Agr. Univ. P.R. 58 (2), 132-42.
- BLANTLEY, B.B., C.W. KHUN and G. SOWELL, 1965. Effect of Cucumber Mosaic Virus on southern pea (*Vigna sinensis*). Amer. Soc. Hort. Sci. 87, 355-58.
- BOS, L. and D.Z. MAAT, 1974. A strain of Cucumber Mosaic Virus, seed-transmitted in beans. Nether. J. Plant. Path. 80, 113-123.
- FISCHER, H.U., and B.E. LOCKHART. 1976 . A strain of Cucumber Mosaic Virus isolated from cowpeas in Morocco. Phytopath. Z. 85, 132-138.
- MARROU, J., J.B. QUIOT, G. MARCHOUX et M. DUTEIL. 1975. Caractérisation par la symptomatologie de 14 souches du virus de la mosaïque du concombre et de deux autres cucumovirus ; tentative de classification. Mede. Fac. Landbouw Rigks. Univ. Gent. 40, 107-121.
- MEINERS, J.-P., H.E. WATERWORTH, F.F. SMITH, R. ALCONERO and R.H. LAWSON. 1977. A seed-transmitted strain of Cucumber Mosaic Virus isolated from Bean. The J. Agric. Univ. Puerto-Rico, vol. LXI, n° 2, 137-147.
- PHATAK, H.C., J.R. DIAZ-RUIZ and R. HULL. 1976. Cowpea Ringspot Virus. A seed-transmitted Cucumovirus. Phytopath. Z., 87, 132-142.

1.2.11. CONCLUSION

Nous avons décrit la population phytovirale de Côte d'Ivoire à divers points de vue :

- vection
- structure
- plante-hôte

Cette présentation n'est pas exhaustive dans la mesure où nous n'avons pas décrit les structures de toutes les particules virales mais seulement celles des virus filamenteux, ni toutes les plantes-hôtes mais seulement les principales. Pour avoir des informations complémentaires, il faudra se reporter à la seconde et à la troisième parties de ce volume.

Nous pouvons cependant faire quelques remarques générales sur cette présentation thématique.

En matière de vecteur de virus de plantes en Afrique, bien que le nombre de maladies suffisamment bien étudiées soit encore faible, il apparaît que presque tous les types de vecteur connus sont présents et qu'ils jouent un rôle primordial dans l'épidémiologie des maladies africaines. Comme partout ailleurs ce sont les pucerons qui en nombre de maladies ou en nombre de virus transmis, sont les vecteurs les plus efficaces. Cependant il semble évident que le caractère tropical de cette région du globe lui confère des particularités. Comme par exemple une plus grande importance des chrysomelles (sur les léguminosæ, les graminæ, les malvaceæ...) et surtout une prépondérance des maladies transmises par aleurodes. Dans l'article consacré à la revue de toutes les viroses africaines transmises par l'aleurode *Bemisia tabaci*, nous avons pu montrer le rôle essentiel de ce vecteur qui entre autres, véhicule la maladie virale la plus dévastatrice des plantes vivrières, à savoir la Mosaïque Africaine du Manioc. Nous avons vu également que ce vecteur peut transmettre des virus aussi différents que des geminivirus, des carlavirus et des potyvirus. Ce fait contribue à éliminer la notion largement répandue de [1 groupe = 1 vecteur], et l'on peut noter que les seuls cas connus de virus filamenteux transmis par mouches blanches sont Africains.

Pour compléter l'information sur les modes de transmission des viroses africaines, il eut fallu parler de la transmission végétative. C'est à dire la transmission des viroses par les boutures comme par exemple la mosaïque du manioc, par les semenceaux comme par exemple la mosaïque de l'igname, ou encore la transmission par les graines comme c'est le cas pour de nombreuses maladies virales des légumineuses comme :

- le clump de l'arachide
- le ringspot du pois ailé
- la mosaïque du niébé
- la mosaïque du voandzeia...

Enfin il ne faut pas omettre de signaler la transmission par des champignons du sol, comme c'est le cas pour le Peanut clump virus sur l'arachide et le Rice stripe necrosis virus sur le riz.

En ce qui concerne la structure des virus africains, il faut remarquer que tous les groupes de virus ne sont pas actuellement représentés. Mais que parmi les virus isométriques il y a des membres des geminivirus, des cucumovirus, des nepovirus, des tymovirus, des sobemovirus, des luteovirus et des tombusvirus. Tandis que parmi les virus hélicoïdaux il y a des membres des furovirus, des tobamovirus, des potexvirus, des carlavirus et des potyvirus, seuls les closterovirus manquent. En dehors du Cocoa swollen shoot il n'y a donc pas de virus ayant une structure exceptionnelle (inhabituelle). A ce point de vue les virus africains sont semblables aux autres virus de plantes.

Pour ce qui est des plantes hôtes, nous n'avons pas présenté dans ce chapitre toutes les viroses de toutes les plantes mais il semble évident qu'il y a des viroses sur toutes les plantes. Ceci en nombre plus ou moins grand et en plus ou moins grande importance, mais il n'y a pas de plantes immunes. En nombre de viroses, il est certain que c'est l'arachide qui détient le record, mais en pourcentage de plantes virosées il est sûr que les plantes à multiplication végétative ont des fréquences de plantes virosées qui sont proches de 100 %.

Ce survol horizontal des maladies virales des plantes en Afrique en général et en Côte d'Ivoire en particulier, nous permet de mieux appréhender directement la population virale présente dans ce pays sous divers aspects.

1.3.

**DESCRIPTION DES
PHYTOVIRUS DE COTE D'IVOIRE
PAR MALADIE VIRALE**

1.3.1. INTRODUCTION

L'identification des maladies des plantes en tant que maladies virales est le premier problème auquel sera confronté le planteur, l'agronome ou le phytopathologiste. Savoir que l'on a affaire à une maladie virale, c'est déjà avoir fait un grand pas dans la connaissance qui peut vous économiser beaucoup d'énergie et orienter immédiatement l'action vers d'autres possibilités.

C'est la première raison qui nous a poussés à rédiger un inventaire des maladies virales de Côte d'Ivoire. La première version fut éditée en 1976 (FAUQUET et al.) et elle ne comportait que 13 descriptions de viroses. La seconde édition, bilingue Français-Anglais, fut publiée en 1980 et comprenait cette fois 28 maladies (FAUQUET et THOUVENEL, 1980). Enfin la troisième version (FAUQUET & THOUVENEL, 1986), sera éditée par l'ORSTOM en 1986 avec 47 descriptions bilingues, une revue des virus africains non isolés en Côte d'Ivoire, un index bibliographique des références les plus récentes de toutes les maladies virales des plantes en Afrique et 6 planches couleur sur les viroses de l'arachide.

Nous ne nous sommes pas contentés de décrire les symptômes de ces maladies mais nous avons voulu profiter de l'opportunité de cette publication pour faire le point des connaissances sur chaque maladie et livrer l'essentiel des références bibliographiques où le lecteur puisse puiser davantage d'informations.

Nous n'avons pas négligé, non plus, la partie physico-chimique des connaissances sur les particules virales, étant donné que celles-ci sont étroitement liées aux propriétés biologiques et étant donné que nous voulons aussi intéresser les phytovirologues d'Afrique et des régions tropicales du monde entier.

Enfin nous signalons, pour chaque virose, les méthodes de diagnostic applicables, lorsqu'il y en a, et si l'antiserum correspondant est disponible ou non au laboratoire.

Actuellement en Afrique il n'existe aucun livre, ni aucune revue, dans lequel toutes les viroses africaines soient décrites ou recensées; n'ayant pas toute l'information nécessaire pour le rédiger directement, nous avons donc décidé de le réaliser d'abord pour la Côte d'Ivoire. Il faut aussi prendre en compte le fait que les virus de Côte d'Ivoire sont passablement représentatifs de la population virale des plantes de l'Afrique de l'Ouest et dans une certaine mesure de l'Afrique tropicale toute entière.

Dans cet inventaire nous avons privilégié l'aspect "maladie virale" par plante, par rapport à l'aspect agent causal. Un même virus peut provoquer deux maladies différentes dans deux plantes différentes et inversement deux souches d'un même virus peuvent, sur une même plante induire des symptômes

tellement différents que l'on pourrait croire qu'il s'agisse de deux maladies totalement distinctes.

Par exemple le Cucumber mosaic virus peut infecter des plantes aussi diverses que les musaceæ, les leguminosæ, les culcurbitaceæ et les solanaceæ. Il n'est cependant pas possible de décrire toutes les maladies provoquées par un même virus. Nous avons donc choisi un moyen terme en décrivant ce virus sur chaque type de plante hôte : légumineuses, plantes maraîchères, plantes industrielles...

Etant donné que nous privilégions la plante-hôte, les maladies virales sont groupées par type de plante :

- plantes à racines et à tubercules
- céréales
- plantes maraîchères
- légumineuses
- plantes industrielles
- plantes fourragères
- plantes ornementales
- plantes adventices.

Enfin pour synthétiser les résultats nous donnerons également un classement des viroses par type de vecteur, ainsi que la classification des virus de Côte d'Ivoire selon la classification de l'ICTV.

1.3.2. MALADIES VIRALES DES PLANTES EN COTE D'IVOIRE

**MALADIES VIRALES DES PLANTES
EN COTE D'IVOIRE**



**PLANT VIRAL DISEASES IN THE
IVORY COAST**

1985

C. FAUQUET & J-C. THOUVENEL

TRADUCTION Claire FAUQUET

Avec la participation de:

J. DUBERN

D. FARGETTE

L. GIVORD

B. KUKLA

A. MONSARRAT

B. WALTER

PAGINATION

PAGE DE GARDE	1	1
AVERTISSEMENT	1	2
NOTICE	1	3
AVANT-PROPOS	1	4
FOREWORD	1	5
TITRE	1	6
TABLE DES MATIERES	1	7
TABLE OF CONTENT	1	8
MALADIES VIRALES DES PLANTES A RACINES ET A TUBERCULES	1	9
1.1. La Mosaïque Africaine du Manioc _ACMV**	4	13
1.2. La Mosaïque de l'Ignome_YMV	4	17
1.3. La Panachure Plumeuse de la Patate Douce_SPFMV**	4	21
1.4. La Mosaïque du Concombre sur Ignome et Patate Douce_CMV**	4	25
REFERENCES	1	26
MALADIES VIRALES DES CEREALES	1	27
2.1. La Panachure Jaune du Riz_RYMV**	4	31
2.2. La Necrose à Rayures du Riz_RSNV**	4	35
2.3. La Striure du Mais_MSV	4	39
2.4. Les Taches Ocellées du Mais_MESV**	4	43
2.5. La Mosaïque du Mais_MMV	4	47
2.6. La Mosaïque Verte du Mais_GGMV-B	4	51
2.7. La Mosaïque Nanisante du Mais_MDMV-A**	4	55
2.8. La Mosaïque du Mil_GGMV-D	4	59
REFERENCES	1	60
MALADIES VIRALES DES PLANTES MARAICHIERES	1	61
3.1. La Mosaïque de la Tomate_ToMV	4	65
3.2. Le Rabougrissement Apical de la Tomate_PSTV	4	69
3.3. La Jaunisse Apicale de la Tomate_TYLCV?	4	73
3.4. La Mosaïque du Concombre_CMV	4	77
3.5. La Panachure du Poivron_PVMV	4	81
3.6. La Mosaïque du Gombo_OMV	4	85
3.7. L'Enroulement du Gombo_OLCV**	4	89
3.8. La Mosaïque de la Courgette_CuMV	4	93
3.9. La Mosaïque Déformante de la Courgette_WMV**	4	97
REFERENCES	1	98
MALADIES VIRALES DES LEGUMINEUSES ALIMENTAIRES	1	99
4.1. Le Rabougrissement de l'Arachide_PCV-AG**	4	103
4.2. La Mosaïque Jaune de l'Arachide_PCV-AY**	4	107
4.3. La Rosette Chlorotique de l'Arachide_GCRV*	4	111
4.4. La Rosette verte de l'Arachide_GGRV**	4	115
4.5. Les Taches Ocellées de l'Arachide_GESV	4	119
4.6. La Frisolée de l'Arachide_GCV*	4	123
4.7. La Striure de l'Arachide_GSV	4	127
4.8. La Moucheture Chlorotique de l'Arachide_GCSV**	4	131
4.9. L'Eclaircissement des Nervures de l'Arachide_**	4	135
4.10. La Mosaïque du Concombre sur Légumineuses_CMV	4	139
4.11. La Mosaïque du Soja_CMMV**	4	143
4.12. La Mosaïque du Canavalia_CaMV	4	147
4.13. La Mosaïque Necrotique du Psophocarpus_PNMV*	4	151
4.14. La Mosaïque du Voandzeta_YMV*	4	155
4.15. La Mosaïque Nérotique du Voandzeia_VNMV*	4	159
4.16. La Mosaïque Déformante du Voandzeia_VDMV**	4	163
4.17. La Mosaïque Déformante du Vigna_SBMV	4	167
REFERENCES	1	168

MALADIES VIRALES DES PLANTES INDUSTRIELLES	1	169
5.1. La Chlorose Infectieuse du Bananier_CMY**	4	173
5.2. La Mosaïque du Cotonnier_	4	177
5.3. La Frisolée du Cotonnier_	4	181
5.4. La Mosaïque du Tabac_TMV**	4	185
5.5. La Frisolée du Tabac_**	4	189
5.6. Les Taches Annulaires de la Passiflore_PRSV	4	193
REFERENCES	1	194
MALADIES VIRALES DES PLANTES FOURRAGERES	1	195
6.1. La Mosaïque du Panicum_GGMV-A	4	199
MALADIES VIRALES DES PLANTES ORNEMENTALES	1	200
7.1. La Chlorose Annulaire de l'Hibiscus_HCIRSV**	4	204
MALADIES VIRALES DES PLANTES ADVENTICES	1	205
8.1. La Marbrure d' <i>Asystasia gangetica</i> _AsMV**	4	209
CLASSIFICATION DES VIRUS DE PLANTES DE COTE D'IVOIRE	2	211
CLASSIFICATION OF PLANT VIRUSES IN THE IVORY COAST	2	213
MODES DE TRANSMISSION DES VIRUS DE PLANTES DE COTE D'IVOIRE	2	215
TRANSMISSION MODES OF PLANT VIRUSES IN THE IVORY COAST	2	217
INDEX DES AUTRES VIROSES AFRICAINES-SOME OTHER AFRICAN VIRUSES	3	220
REFERENCES DES AUTRES VIROSES AFRICAINES	1	221
INDEX DES AUTEURS-AUTHOR INDEX	4	225

MODIFICATIONS PAR RAPPORT A LA PRECEDENTE EDITION

* Mots à changer

* Descriptions partiellement à refaire

** Descriptions nouvelles ou totalement à refaire

CLASSIFICATION DES VIRUS DE PLANTES DE COTE D'IVOIRE

A- VIRUS ISOMETRIQUES

1- CUCUMOVIRUS

1.4; 3.4; 4.10 et 5.1. Le Virus de la Mosaïque du Concombre_CMV

2- GEMINIVIRUS

1.1. Le Virus de la Mosaïque Africaine du Manioc_ACMV

2.3. Le Virus de la Striure du Mais_MSV

3.3. Le Virus de l'Enroulement Jeune de la Tomate_TYLCV?

3.7. Le Virus de l'Enroulement du Gombo_OLCV

3- LUTEOVIRUS

4.3. Le Virus auxiliaire de la Rosette Chlorotique de l'Arachide_GCAV

4.4. Le Virus auxiliaire de la Rosette Verte de l'Arachide_GGAV

4- SOBEMOVIRUS

2.1. Le Virus de la Panachure Jeune du Riz_RYMV

4.17. Le Virus de la Mosaïque Déformante du Vigna_SBMV

5- TYMOVIRUS

3.6. Le Virus de la Mosaïque du Gombo_OMV

4.15. Le Virus de la Mosaïque Nécrotique du Voandzeta_VNMV

6- VIRUS NON CLASSES

2.4. Le Virus de des Taches Ocellées du Mais_MESV

7.1. Le Virus de la Chlorose Annulaire de l'Hibiscus_HCIRSV

B- VIRUS EN BATONNET

2.2. Le Virus de la Nécrose à Rayures du Riz_RSNV

3.1. Le Virus de la Mosaïque de la Tomate_ToMV

4.1. Le Virus de du Rabougrissement de l'Arachide (Souche Verte)_PCV-AG

4.2. Le Virus de du Rabougrissement de l'Arachide (Souche Jeune)_PCV-AY

5.4. Le Virus de la Mosaïque du Tabac_TMV

C- VIRUS FILAMENTEUX

1-CARLAVIRUS

4.11. Le Virus de la Panachure du Vigna_CMMV

4.6. Le Virus de la Frisolée de l'Arachide_GCV

4.13. Le Virus de la Mosaïque Nécrotique du Psophocarpus_PNMV

4.14. Le Virus de la Mosaïque du Voandzeta_YMV

2- POTEXVIRUS

4.8. Le Virus de la Moucheture Chlorotique de l'Arachide_GCSV

3- POTYVIRUS

- 1.2. Le Virus de la Mosaïque de l'igname_YMV
- 1.3. Le Virus de la Panachure Plumeuse de la Patate Douce_SPFMV
- 2.6. Le Virus de la Mosaïque de l'Herbe de Guinée (Souche Maïs)_GGMV-B
- 2.7. Le Virus de la Mosaïque Nuisante du Maïs_MDMV-A
- 2.8. Le Virus de la Mosaïque de l'Herbe de Guinée (Souche M11)_GGMV-D
- 3.5. Le Virus de la Panachure du Poivron_PVMV
- 3.8. Le Virus de la Mosaïque de la Courgette_CuMV
- 3.9. Le Virus de la Mosaïque de la Pastèque_WMV
- 4.5. Le Virus de des Taches Ocellées de l'Arachide_GESV
- 4.7. Le Virus de la Striure de l'Arachide_GSV
- 4.12. Le Virus de la Mosaïque du Canavalia_CaMV
- 4.16. Le Virus de la Mosaïque Déformante du Voendzeia_VDMV
- 5.6. Le Virus de des Taches Annulaires de la Passiflore_PRSV
- 6.1. Le Virus de la Mosaïque de l'Herbe de Guinée_GGMV-A
- 8.1. LE Virus de la Marbrure d'*Asystasia gangetica*_AsMV

D- VIRUS BACILLIFORMES

1-RHABDOVIRUS

- 2.5. Le Virus de la Mosaïque du Maïs_MMV

E- VIROIDES

- 3.2. Le Viroïde de la Tubérisation en Fuseaux de la Pomme de Terre_PSTV

F- VIRUS INCONNUS

- 4.3. Le Virus de la Rosette Chlorotique de l'Arachide_GCRY
- 4.4. Le Virus de la Rosette verte de l'Arachide_GGRV
- 4.9. Le Virus de l'Eclaircissement des Nervures de l'Arachide_
- 5.2. Le Virus de la Mosaïque du Cotonnier_
- 5.3. Le Virus de la Frisolée du Cotonnier_
- 5.5. Le Virus de la Frisolée du Tabac_

MODES DE TRANSMISSION DES VIRUS DE PLANTES EN COTE D'IVOIRE

A- VIRUS TRANSMIS PAR APHIDES

MODE NON PERSISTANT

- 1.2. Le Virus de la Mosaïque de l'Igname_YMV
- 1.3. Le Virus de la Panachure Plumeuse de la Patate Douce_SPFMV
- 1.4; 3.4; 4.10 et 5.1. Le Virus de la Mosaïque du Concombre_CMV
- 2.6. Le Virus de la Mosaïque de l'Herbe de Guinée (Souche Maïs)_GGMV-B
- 2.7. Le Virus de la Mosaïque Nanisante du Maïs_MDMV-A
- 2.8. Le Virus de la Mosaïque de l'Herbe de Guinée (Souche M11)_GGMV-D
- 3.5. Le Virus de la Panachure du Poivron_PVMV
- 3.8. Le Virus de la Mosaïque de la Courgette_CuMV
- 3.9. Le Virus de la Mosaïque de la Pastèque_WMV
- 4.5. Le Virus de des Taches Ocellées de l'Arachide_GESV
- 4.7. Le Virus de la Striure de l'Arachide_GSV
- 4.8. Le Virus de la Mouchelure Chlorotique de l'Arachide_GCSV
- 4.12. Le Virus de la Mosaïque du Canavalia_CaMV
- 4.16. Le Virus de la Mosaïque Déformante du Voandzela_VDMV
- 5.6. Le Virus de des Taches Annulaires de la Passiflora_PRSV
- 6.1. Le Virus de la Mosaïque de l'Herbe de Guinée_GGMV-A
- 8.1. Le Virus de la Marbrure d'*Asystasia gangetica*_AsMV

MODE PERSISTANT

- 4.3. Le Virus auxiliaire de la Rosette Chlorotique de l'Arachide_GCAV
- 4.3. Le Virus de la Rosette Chlorotique de l'Arachide_GCRV
- 4.4. Le Virus auxiliaire de la Rosette Verte de l'Arachide_GGAV
- 4.4. Le Virus de la Rosette verte de l'Arachide_GGRV

B- VIRUS TRANSMIS PAR MOUCHES BLANCHES

MODE NON PERSISTANT

- 4.6. Le Virus de la Frisolée de l'Arachide_GCV
- 4.11. Le Virus de la Panachure du Vigna_CMMV
- 4.13. Le Virus de la Mosaïque Nécrotique du Psophocarpus_PNMV
- 4.14. Le Virus de la Mosaïque du Voandzela_VMV

MODE PERSISTANT

- 1.1. Le Virus de la Mosaïque Africaine du Manioc_ACMV
- 3.3. Le Virus de l'Enroulement Jeune de la Tomate_TYLCV?
- 3.7. Le Virus de l'Enroulement du Gombo_OLCV
- 5.2. Le Virus de la Mosaïque du Cotonnier_
- 5.3. Le Virus de la Frisolée du Cotonnier_
- 5.5. Le Virus de la Frisolée du Tabac_?

C- VIRUS TRANSMIS PAR COLEOPTERES

- 2.1. Le Virus de la Panachure Jeune du Riz_RYMV
- 2.4. Le Virus de des Taches Ocellées du Maïs_MESV ?
- 3.6. Le Virus de la Mosaïque du Gombo_OMV
- 4.15. Le Virus de la Mosaïque Nécrotique du Voandzela_YNMV?
- 4.17. Le Virus de la Mosaïque Déformante du Vigna_SBMV
- 7.1. Le Virus de la Chlorose Annulaire de l'Hibiscus_HCIRSV ?

D- VIRUS TRANSMIS PAR CICADELLES

2.3. Le Virus de la Striure du Mais_MSV

E- VIRUS TRANSMIS PAR DELPHACIDES

2.5. Le Virus de la Mosaïque du Mais_MMV

F- VIRUS TRANSMIS PAR CHAMPIGNONS

2.2. Le Virus de la Nécrose à Rayures du Riz_RSNV

4.1. Le Virus de du Rabougrissement de l'Arachide (Souche Verte)_PCV-AG

4.2. Le Virus de du Rabougrissement de l'Arachide (Souche Jaune)_PCV-AY

G- VIRUS TRANSMIS MECANIQUEMENT

3.1. Le Virus de la Mosaïque de la Tomate_ToMV

3.2. Le Viroïde de la Tubérisation en Fuseaux de la Pomme de Terre_PSTV

5.4. Le Virus de la Mosaïque du Tabac_TMV

H- VIRUS A TRANSMISSION INCONNUE

4.9. Le Virus de l'Eclaircissement des Nervures de l'Arachide_

I- VIRUS TRANSMIS PAR LA GRAINE

2.7. Le Virus de la Mosaïque Némisante du Mais_MDMV-A

3.1. Le Virus de la Mosaïque de la Tomate_ToMV

3.2. Le Viroïde de la Tubérisation en Fuseaux de la Pomme de Terre_PSTV

4.1. Le Virus de du Rabougrissement de l'Arachide (Souche Verte)_PCV-AG

4.2. Le Virus de du Rabougrissement de l'Arachide (Souche Jaune)_PCV-AY

4.10. Le Virus de la Mosaïque du Concombre (sur légumineuses)_CMV

4.11. Le Virus de la Panachure du Vigna_CMMV

4.14. Le Virus de la Mosaïque du Voandzeta_VMV

4.17. Le Virus de la Mosaïque Déformante du Vigna_SBMV

5.4. Le Virus de la Mosaïque du Tabac_TMV

1.3.3. CONCLUSION

Dans le fascicule :

"Maladies Virales des Plantes en Côte d'Ivoire"

nous avons recensé toutes les viroses qui ont été identifiées dans ce pays. Pour certaines maladies nous ne connaissons que la symptomatologie, pour d'autres on connaît la transmission, parfois l'agent causal et dans certains cas nous avons pu faire une identification presque complète et nous avons même dans deux cas étudié l'épidémiologie de la maladie.

Cet inventaire qui est certainement loin d'être complet montre les progrès que nous avons pu faire depuis 1976, quant au nombre de maladies identifiées mais également quant à la somme des connaissances acquises pour chacune d'elles. C'est maintenant un catalogue riche de 47 maladies, provoquées par 45 virus (ou présumés virus) et 1 viroïde. Ces virus appartiennent au moins à 11 groupes de virus de la classification de l'ICTV. Par rapport à la population phytovirale mondiale, 45 virus, cela représente 10 % des virus très bien identifiés (MATTHEWS, 1983), mais peut être 5 % des maladies virales correctement décrites et sûrement moins de 1 % des viroses connues. Par conséquent les connaissances d'une façon générale ont nettement progressé en quelques années, mais il reste encore beaucoup à faire. En ce qui concerne les groupes de virus, 11 groupes sont présents en Côte d'Ivoire sur 26 groupes de la classification, c'est encore très peu mais tous les groupes les plus fréquents sont représentés.

Pour ce qui est de la transmission la conclusion est la même que précédemment, à savoir que tous les types de vecteurs sont présents, sauf les nématodes, mais avec une particularité africaine et tropicale que nous avons vue dans le premier chapitre.

Par conséquent on peut conclure que la population phytovirale de Côte d'Ivoire est maintenant mieux connue mais encore peu nombreuse. Les virus identifiés sont membres des groupes les plus fréquents et leurs vecteurs sont caractéristiques de cette zone tropicale africaine.

L'inconvénient d'un inventaire, c'est qu'il s'agit d'un **état**, d'un **bilan** ponctuel et statique. Il est difficile, voire impossible, avec une liste de pathogènes, de rendre compte de l'importance de ces maladies les unes par rapport aux autres, et surtout de leur évolution dans le temps. Il s'agit d'un travail descriptif absolument indispensable avant tout autre programme, comme ce fut le cas pour toutes les autres disciplines.

1.4.

**DESCRIPTION
DES PHYTOVIRUS DE COTE D'IVOIRE
SUIVANT LEUR STRUCTURE**

1.4.1. INTRODUCTION

Nous avons décrit les virus de Côte d'Ivoire de façon thématique, puis nous avons décrit les maladies virales des plantes en Afrique, il nous reste maintenant à décrire les virus eux-mêmes. Nous ne décrivons pas la totalité des virus de Côte d'Ivoire mais uniquement ceux que nous avons isolés, identifiés et caractérisés et qui sont typiquement africains.

Nous verrons donc successivement les virus isométriques puis les virus hélicoïdaux. Parmi les virus isométriques nous décrivons un tymovirus : le Voandzeia necrotic mosaic virus (VNMV), un sobemovirus : le Rice yellow mottle virus (RYMV) et un virus non classé : le Maize eye spot virus (MESV). Parmi les virus hélicoïdaux nous traiterons d'abord des furovirus : le Peanut clump virus (PCV-GA), puis le Rice stripe necrosis virus (RSNV). Nous décrivons ensuite un potexvirus : le Groundnut chlorotic spotting virus (GCSV), et un carlavirus : le Cowpea mild mottle virus (CMMV). Enfin avec les potyvirus nous décrivons l'*Asystasia* Mottle virus (AsMoV), le Guinea grass mosaic virus souches A, B et D (GGMV-A,B,D) et le virus de la mosaïque de l'igname : le Yam mosaic virus (YMV).

En fait tous ces virus ont été décrits dans diverses revues et nous ne ferons que reprendre ces articles. Nous avons isolé et identifié d'autres virus que ceux présentés ici, mais ces travaux n'étant pas encore publiés, il faudra se reporter aux éléments d'informations qui sont donnés dans l'inventaire des maladies virales de Côte d'Ivoire (chapitre 1.3.).

1.4.2. VIRUS ISOMETRIQUES

1.4.2.1. TYMOVIRUS

VOANDZEIA NECROTIC MOSAIC VIRUS

Voandzeia necrotic mosaic virus R/1:*/*:S/S:/*, tymovirus group

Described by Fauquet, Monsarrat & Thouvenel (1981) and Monsarrat, Fauquet & Thouvenel (1984).

A virus with RNA-containing isometric particles *c.* 28 nm in diameter which sediment as two components. It is found in nature only in *Voandzeia subterranea*. Its experimental host range is restricted almost entirely to the Leguminosae. It is transmissible by inoculation with sap but not through seed. No vector is known. The virus occurs in the Ivory Coast and Upper Volta.

MAIN DISEASES: Bambarra groundnut (*Voandzeia subterranea*) is the only natural host found. The virus causes stunting, mosaic, necrosis, distortion (Figs 1–3) and sometimes the death of the plant (Monsarrat *et al.*, 1984).

GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION: Found occasionally in fields of Bambarra groundnut in northern Ivory Coast and southern Upper Volta.

HOST RANGE AND SYMPTOMATOLOGY: Transmitted from *Voandzeia* to *Voandzeia* by inoculation with sap: 10–100% of plants become infected. Best results were obtained by using inocula prepared in 0.1 M borate buffer, pH 8.8, containing 0.02 M cysteine hydrochloride, 0.05 M sodium bisulphite and 0.5% bentonite (Monsarrat *et al.*, 1984). Among 87 species tested from the families Amaranthaceae, Chenopodiaceae, Cruciferae, Cucurbitaceae, Leguminosae, Malvaceae, Passifloraceae, Scrophulariaceae and Solanaceae, only *Chenopodium amaranticolor*, *Dolichos lablab*, *Vigna sinensis* and *V. unguiculata* were infected (Monsarrat *et al.*, 1984).

Diagnostic species

Chenopodium amaranticolor. Local necrotic lesions, developing later into red ringspots with yellow discoloration of the entire leaf.

Dolichos lablab. Chlorotic local lesions and systemic mosaic.

Vigna unguiculata subsp. *unguiculata* and *sinensis* (cowpea). Chlorotic local lesions and systemic mosaic.

Voandzeia subterranea (Bambarra groundnut). No local symptoms, but the plants are stunted and fail to develop. Systemically infected leaves show a yellow mosaic (Fig. 2) with necrosis along the veins leading to distortion of the leaflets (Fig. 3). Plants infected young may be killed.

Propagation species

Voandzeia subterranea is a good source of virus.

Assay species

Chenopodium amaranticolor is a useful local lesion host.

STRAINS: None found.

TRANSMISSION BY VECTORS: No vector reported. The okra leaf beetle, *Podagrica decolorata*, and the groundnut aphid, *Aphis craccivora*, did not transmit the virus (Monsarrat *et al.*, 1984).

TRANSMISSION THROUGH SEED: Not seed-borne in *Voandzeia subterranea*.

SEROLOGY: Very immunogenic in rabbits. Antisera with titres of 1/512–1/4096 in gel diffusion tests have been prepared.

RELATIONSHIPS: Voandzeia necrotic mosaic virus has many properties typical of tymoviruses including particle morphology, sedimentation behaviour, coat protein M.Wt, high thermal inactivation point, high concentration



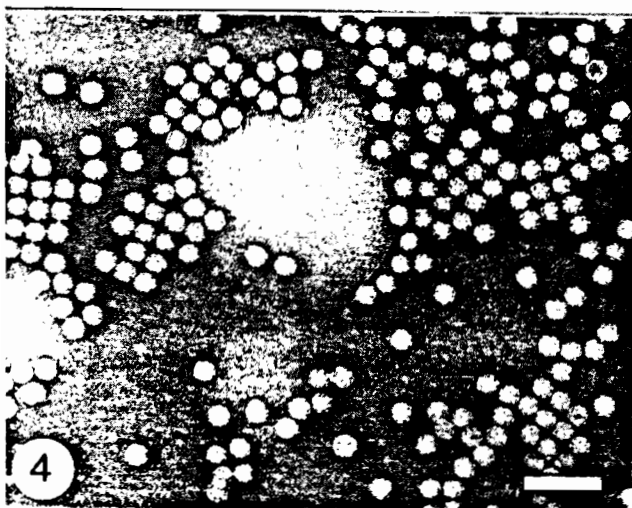
1



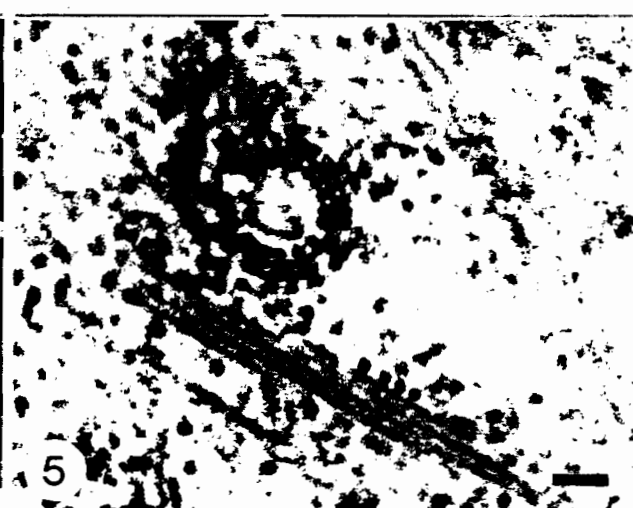
2



3



4



5



6

of particles in host plants, typical effects on chloroplasts and serological relationship to other members of the group. In agar gel double-diffusion tests, particles of the virus react with antisera to only four members of the group. The virus is related closely to kennedya yellow mosaic virus (SDI = 1) and distantly to turnip yellow mosaic virus (SDI = 6), desmodium yellow mottle virus (SDI = 6) and okra mosaic virus (SDI = 5) (Fauquet *et al.*, 1981). The interrelationships among these five viruses can be expressed diagrammatically as a second 'loop' structure similar to that proposed by Koenig (1976) for other members of the group.

STABILITY IN SAP: When assayed in *Chenopodium amaranticolor*, the virus, in crude sap of *Voandzeia subterranea*, loses infectivity after dilution 10^{-2} , after heating for 10 min at 70°C, and after storage for less than 2 days at 20°C or for more than 10 days at 4°C or -20°C. Infectivity survives for several months in frozen or dried leaves.

PURIFICATION: (Monsarrat *et al.*, 1984). Homogenise infected *Voandzeia* leaves in 0.2 M phosphate buffer at pH 7, containing 0.4% thioglycolic acid (3 ml/g tissue). Clarify by adding an equal volume of chloroform and concentrate by ultracentrifugation, resuspending the pellets in 0.01 M phosphate buffer, pH 7. Centrifuge the virus particles through a 20% sucrose 'cushion', resuspending the pellet in the same buffer. The components may be separated in sucrose density gradients. Yield is about 200 mg virus per kg infected leaves.

PARTICLE PROPERTIES: The particles sediment as two components in sucrose gradients, a fast sedimenting (B) component consisting of infective nucleoprotein particles, and a slower sedimenting (T) component consisting of protein shells. The two components are serologically indistinguishable.

Sedimentation coefficient ($s_{20,w}$) at infinite dilution: 51S (T), 113S (B).

Isoelectric point: pH 4.65 ± 0.10 (B).

A_{260}/A_{280} : 0.64 (T), 1.75 (B).

A_{max} : 280 nm (T), 260 nm (B). A_{min} : 250 nm (T), 242 nm (B).

A_{max}/A_{min} : 1.91 (T), 1.35 (B).

Buoyant densities in CsCl (g/cm^3): 1.29 (T), 1.45 (B).

PARTICLE STRUCTURE: Particles are about 28 nm in diameter (Fig. 4) and have icosahedral symmetry. T component particles are penetrated by uranyl acetate (2%), whereas B component particles are not.

PARTICLE COMPOSITION:

Nucleic acid: Probably RNA, single-stranded, comprising more than 30% of the weight of the B particles (estimated from the absorption spectrum).

Protein: Polyacrylamide gel electrophoresis of coat protein reveals one polypeptide of M.Wt c. $20\,000 \pm 500$.

RELATIONS WITH CELLS AND TISSUES: Crystals or high concentrations of virus-like particles occur in the cytoplasm (Fig. 5) and in the vacuoles of cells of infected *Voandzeia subterranea*. Peripheral vesicles bounded by a double membrane occur in the chloroplasts, as shown for other tymoviruses (Fig. 6).

NOTES: *Voandzeia necrotic mosaic virus* is the first tymovirus to be found naturally infecting *Voandzeia subterranea*. Among the four tymoviruses serologically related to it, okra mosaic virus (Descr. No. 128), desmodium yellow mottle virus (Descr. No. 168) and kennedya yellow mosaic virus (Descr. No. 193) have appreciably wider host ranges, whereas turnip yellow mosaic virus (Descr. No. 2) infects only species in the Cruciferae.

Although *voandzeia necrotic mosaic virus* is closely serologically related to *kennedya yellow mosaic virus*, the host ranges of the two viruses are completely different. Also, the characteristic red local lesions induced by *voandzeia necrotic mosaic virus* in *Chenopodium amaranticolor* are unlike those induced by other tymoviruses.

Figs 1-3 Leaves of *Voandzeia subterranea*. (Fig. 1) healthy; (Fig. 2) systemically infected, showing mosaic; (Fig. 3) systemically infected, showing necrosis.

Fig. 4 B component particles in uranyl acetate. Bar represents 100 nm.

Fig. 5 Virus particles aggregated on membranes in the cytoplasm of a *V. subterranea* leaf cell. Bar represents 100 nm.

Fig. 6 Ultrathin section of infected *V. subterranea* leaf showing vesicles at different stages bounded by double membranes at the periphery of a chloroplast. Bar represents 500 nm.

REFERENCES: Fauquet, Monsarrat & Thouvenel, *Abstr. 5th Congr. Virology, Strasbourg, France, 1981*: 237, 1981; Koenig, *Virology* **72**: 1, 1976; Monsarrat, Fauquet & Thouvenel, *C.r. hebd. Seanc. Acad. Sci., Paris* (in press), 1984.

C. Fauquet
A. Monsarrat
J. C. Thouvenel
Laboratoire de Virologie
Centre ORSTOM d'Adiopodoumé
B.P. V.51
Abidjan
Côte d'Ivoire

Issued jointly by the Commonwealth Mycological Institute, Ferry Lane, Kew, Surrey, England and The Association of Applied Biologists.

Printed by Unwin Brothers Ltd., Old Woking, Surrey.

VIROLOGIE. — Une nouvelle maladie virale du Pois de terre (*Voandzeia subterranea* Thouars) provoquée par un tymovirus, le Voandzeia Necrotic Mosaic Virus.

Note de Annie Monsarrat, Claude Fauquet et Jean-Claude Thouvenel, présentée par Léon Hirth.

Remise le 6 février 1984, acceptée le 2 avril 1984.

Une nouvelle maladie virale du Pois de terre (*Voandzeia subterranea* Thouars) a été caractérisée en Côte-d'Ivoire. Sa gamme d'hôtes, une méthode de purification et quelques-unes de ses propriétés biophysiques sont décrites. Il s'agit d'un virus sphérique de 28 nm de diamètre, appartenant au groupe des tymovirus, virus non encore décrit et que nous proposons de nommer Voandzeia Necrotic Mosaic Virus, en raison des symptômes caractéristiques qu'il provoque sur les feuilles de Pois de terre.

VIROLOGY. — A New Viral Disease of Bambarra Groundnut (*Voandzeia Subterranea* Thouars) Induced by a Tymovirus, the Voandzeia Necrotic Mosaic Virus.

A new viral disease on Bambarra groundnut (*Voandzeia subterranea* Thouars) has been characterized in the Ivory Coast. We describe here its host-range, a method of purification and some of its biophysical properties. It is a spherical virus of 28 nm in diameter, member of the tymovirus group which has never been described before and we propose to name it Voandzeia Necrotic Mosaic Virus, according to the typical symptoms induced on the leaves of Bambarra groundnut.

INTRODUCTION. — Trois maladies virales différentes ont été isolées du Pois de terre (*Voandzeia s.*), en Côte-d'Ivoire : la mosaïque, la mosaïque déformante et la nécrose [1]. Cette dernière maladie est présentée ici, les symptômes en champs sont les suivants : léger rabougrissement général de la plante, déformations des folioles provoquées par des lésions nécrotiques et mosaïque jaune (fig. 1). Il s'agit d'une maladie non encore connue du Pois de terre et le virus qui la provoque n'a pu être assimilé à un virus déjà décrit.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — L'inoculum initial provient du Nord de la Côte-d'Ivoire, dans la région de Ferkéssédougou, où cette plante est largement cultivée.

1. **Transmission.** — (a) **Transmission mécanique.** Les feuilles de plantes malades sont broyées dans du tampon borate de sodium 0,1 M, pH 8,0 contenant 0,02 M de chlorhydrate de cystéine, 0,5% de bentonite et 0,05 M de bisulfite. Le broyat est inoculé par frottement à des plantules de diverses plantes-hôtes préalablement saupoudrées de carborundum n° 400. Les plantes inoculées sont maintenues à l'abri des Insectes dans des serres conçues à cet effet et soumises aux conditions climatiques naturelles (température moyenne 32°C et humidité moyenne 90%). Systématiquement une inoculation de contrôle est faite sur *Voandzeia s.* 30 jours après que les plantes-hôtes aient été inoculées qu'elles présentent ou non des symptômes.

Des transmissions ont également été réalisées à partir de virus purifié pour éliminer l'hypothèse de la présence d'inhibiteurs, les concentrations de virus alors utilisées varient de 1 à 10 mg/ml de tampon, la technique d'inoculation restant la même.

(b) **Transmission par Insecte.** Une espèce de chrysomelidae a été utilisée : *Podagrica decolorata* (récolté sur *Abelmoschus esculentus*). Les Coléoptères, après un jeûne de plusieurs heures sont mis en élevage sur *Voandzeia s.* malade et périodiquement installés par groupe de 5 sur *Voandzeia s.* sains. Après 72 h les Insectes sont éliminés par pulvérisation d'insecticide.

2. **Purification.** — Les feuilles de Pois de terre présentant de forts symptômes, sont broyées dans un tampon phosphate de potassium 0,2 M, pH 7, contenant 4% d'acide thioglycolique, à raison de 3 ml/g de feuilles. Après 2 mn de broyage, le mélange est clarifié par du chloroforme, à raison de 1 ml/1 g de feuille. Après une centrifugation de 10 mn à 10 000 g, le surnageant est ultracentrifugé pendant 3 h à 78 000 g. Les culots sont repris dans du tampon phosphate de potassium 0,01 M, pH 7, et le virus est purifié sur gradient de saccharose 10-40% pendant 3 h à 90 000 g, à la température de 10°C. Les bandes opalescentes correspondant au virus sont récoltées et diluées avec du tampon phosphate 0,01 M, pH 7 et concentrées par ultracentrifugation de 4 h à 78 000 g.

3. **Microscopie électronique.** — Une suspension de virus purifié, de 0,1 mg/ml est déposée sur une grille de microscopie électronique recouverte d'un film de Formvar et carbonnée. Les particules sont ensuite colorées négativement avec de l'acétate d'uranyle à 1%, et observées à l'aide d'un microscope « Siemens Elmiskop 102 ».

4. *Sérologie.* — Un antisérum a été préparé en injectant du virus purifié à un lapin, à raison de 1 mg/semaine, pendant 3 semaines. Les tests sérologiques ont été effectués par double diffusion en agar 1 % dans du NaCl 0,9 % additionné d'azide de sodium 0,1 %, suivant la méthode d'Ouchterlony [2].

RÉSULTATS. — 1. *Transmission.* — (a) *Transmission mécanique.* La maladie est transmise par inoculation mécanique de broyat de feuilles virosées à de jeunes plantules de *Voandzeia s.* en reproduisant exactement les symptômes observés en champs, à savoir : nécroses sur les feuilles, déformations foliaires et mosaïque jaune sur l'ensemble des folioles (fig. 2), les premières feuilles apparaissant après inoculation présentent en général une mosaïque verte et jaune très prononcée.

Ce virus provoque également des lésions nécrotiques sur *Chenopodium amaranticolor*, celles-ci s'entourent par la suite d'anneaux rouges et la feuille inoculée se décolore totalement.

Nous avons éprouvé 87 espèces de plantes parmi les Amaranthaceae, les Chenopodiaceae, les Cruciferae, les Cucurbitaceae, les Leguminosae, les Malvaceae, les Passifloraceae, les Scrophulariaceae et les Solanaceae. Seulement, trois espèces de Légumineuses sont hôtes pour ce virus, il s'agit de *Dolichos lablab*, de *Vigna unguiculata* et *Vigna sinensis*.

Les solutions de virus purifié éprouvées sont infectieuses à condition qu'elles soient inoculées immédiatement après leur purification. Nous avons pu ainsi infecter les hôtes déjà trouvés par inoculation de jus brut, mais nous n'avons pu infecter de nouveaux hôtes comme *Arachis hypogaea*, *Phaseolus vulgaris*, *Abelmoschus esculentus*, *Nicotiana glutinosa* ou *Nicotiana benthamiana*.

(b) *Transmission par Insecte.* La maladie n'a pu être transmise de *Voandzeia s.* à *Voandzeia s.* par *Podagrica decolorata*, espèce vectrice de l'Okra Mosaic Virus [14] et ceci quel que soit le temps qu'acquisition.

2. *Purification.* — Selon la méthode de purification, le rendement en virus varie, mais se situe toujours aux alentours de 200 mg/kg de feuilles. Sur gradient de saccharose on peut constater la présence de deux bandes opalescentes, celle du bas (B) correspond aux particules qui se colorent négativement à l'acétate d'uranyle et est toujours infectieuse après concentration, celle du haut (T) correspond aux particules vides (microscopie électronique) et elle n'est jamais infectieuse sur *Voandzeia s.* ni sur *Chenopodium a.* Les deux composants sont sérologiquement identiques.

Les coefficients de sédimentation, extrapolés à concentration nulle, et à 29°C, sont respectivement de : 51 S(T) et 113 S(B).

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Fig. 1. — Symptômes systémiques provoqués par le Voandzeia Necrotic Mosaic Virus sur *Voandzeia subterranea* Thouars. A gauche, plante malade; à droite, plante saine.

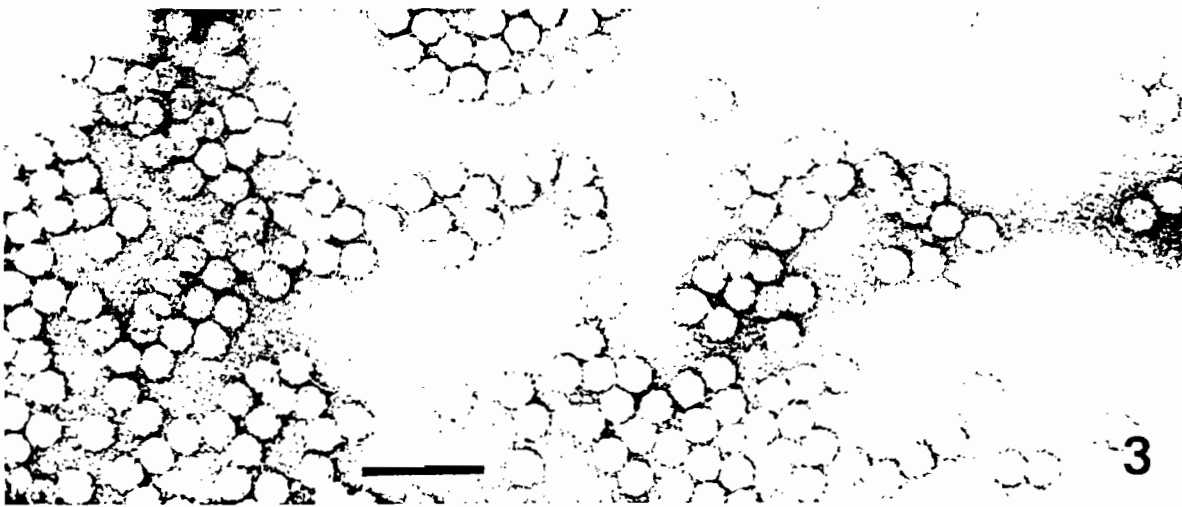
Fig. 1. — Systemic symptoms induced by Voandzeia Necrotic Mosaic Virus on *Voandzeia subterranea* Thouars. Diseased plant on the left and healthy plant on the right.

Fig. 2. — Symptômes systémiques sur feuilles de *Voandzeia subterranea* Thouars, induits par le Voandzeia Necrotic Mosaic Virus. Feuille saine à droite.

Fig. 2. — Systemic symptoms induced by Voandzeia Necrotic Mosaic Virus on *Voandzeia subterranea* Thouars leaves. Healthy leaf on the right.

Fig. 3. — Aspect en microscopie électronique d'une préparation purifiée de Voandzeia Necrotic Mosaic Virus, après coloration négative à l'acétate d'uranyle ($G \times 180\,000$). La barre représente 100 m.

Fig. 3. — Electron microscope aspect of a purified suspension of Voandzeia Necrotic Mosaic Virus after negative staining with uranyl acetate ($M \times 180\,000$). Bar represents 100 nm.



Les spectres d'absorption des deux bandes présentent un maximum, à 280 nm pour (T) et à 260 nm pour (B) et un minimum, à 250 nm pour (T) et à 242 nm pour (B).

Les rapports d'absorption, corrigés pour la diffusion de la lumière, selon Noordam [3] sont pour A_{260}/A_{280} de 0,64 (T) et de 1,75 (B), et pour A_{max}/A_{min} de 1,91 (T) et de 1,35 (B).

Ces rapports indiquent selon la méthode graphique de Paul [4] un pourcentage d'ARN respectivement de 0% (T) et 35% (B) et selon la méthode graphique de Gibbs et Harrison [5] un coefficient d'extinction de 1,8 (T) et de 8,3 (B).

3. *Microscopie électronique.* — L'observation en microscopie électronique du virus purifié a montré l'existence de particules sphériques de 28 nm de diamètre (fig. 3). L'acétate d'uranyle pénètre les particules vides (T) et entoure les particules pleines (B).

4. *Sérologie.* — Ce virus très immunogénique a permis l'obtention d'antisérums de titres variant de 1/512 à 1/4096 en gel de diffusion.

Le virus purifié a été éprouvé contre de nombreux antisérums de tymovirus. Un précipité spécifique est observé avec les virus suivants [le titre, l'origine et l'indice différentiel sérologique (SDI) calculé selon Van Regenmortel [6] sont indiqués entre parenthèses] : Kennedy Yellow Mosaic Virus (SDI=1) (Dr Gibbs, titre 1/1024), Turnip Yellow Mosaic Virus (SDI=6) (Dr Matthews, titre 1/2048), Desmodium Yellow Mottle Virus (SDI=6) (Dr Scott, titre 1/512) et Okra Mosaic Virus (SDI=5) (Dr Fauquet, titre 1/4096). Il est à noter qu'aucune réaction positive n'a été obtenue avec les autres virus de la structure en anneau de R. Koenig [7], c'est-à-dire le Clitoria Yellow Vein Virus (Dr Bock, titre 1/512) et le Cacao Yellow Mosaic Virus (Dr Brunt, titre 1/2048).

CONCLUSION. — Un virus de 28 nm de diamètre responsable d'importants symptômes a été isolé sur le Pois de terre (*Voandzeia s. Thouars*). Ce virus se transmet mécaniquement de *Voandzeia s.* à *Voandzeia s.* et a une gamme d'hôtes extrêmement réduite (3 légumineuses et une chenopodiaceae).

Il n'a pas été possible de transmettre ce virus par un Coléoptère vecteur de l'Okra Mosaic Virus; la transmission par la graine n'a pas été réalisée.

Les propriétés biophysiques et les relations sérologiques nous prouvent qu'il s'agit d'un tymovirus, relié sérologiquement à certains membres du groupe.

Ce virus est le premier tymovirus isolé de *Voandzeia s.* naturellement infecté ([8] à [11]).

Parmi les quatre tymovirus reliés sérologiquement au VN MV, le Turnip Yellow Mosaic Virus [12] infecte seulement les Cruciferae, le Desmodium Yellow Mottle Virus [13], l'Okra Mosaic Virus [14] et le Kennedy Yellow Mosaic Virus [15] infectent les Légumineuses mais ils ont des gammes d'hôtes très étendues par rapport au VN MV. Enfin, le VN MV peut être différencié du Kennedy Yellow Mosaic Virus, bien qu'il semble en être très proche (SDI=1) par sa gamme d'hôte extrêmement réduite et par le fait que le VN MV infecte le *Chenopodium amaranticolor*. Nous considérons donc qu'il s'agit d'un nouveau virus.

Toutes ces raisons laissent penser qu'un nouveau tymovirus a été isolé du Pois de terre, nous proposons de le dénommer Voandzeia Necrotic Mosaic Virus (VN MV).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] C. FAUQUET et J. C. THOUVENEL, *Initiations. Documentations Techniques*, 46, 1980, ORSTOM, Paris, 128 p.
 [2] O. OUCHTERLONY, *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 25, 1948, p. 115.

-
- [3] D. NOORDAM, *Identification of Plant Viruses*, Pudoc, Wageningen, 1973, 207 p.
 - [4] M. C. PAUL, *Z. Natur. Forsch.*, 14 b, 1959, p. 427-432.
 - [5] A. GIBBS et B. D. HARRISON, *Plant Virology: The Principles*, E. Arnold, 1976, London, 292 p.
 - [6] M. H. V. VAN REGENMORTEL et M. B. VON WECHMAR, *Virology*, 41, 1970, p. 330-338.
 - [7] R. KOENIG, *Virology*, 72, 1976, p. 1-5.
 - [8] K. R. BOCK, E. J. GUTHRIE et G. C. MEREDITH, *Annual Report E.A.A.F.R.O.*, 1977.
 - [9] R. J. KLESSER, *Bothalia*, 7, (3), 1961, p. 497-519.
 - [10] D. G. ROBERTSON, *Report on the Plant Pathology Division*, 1971, p. 16-18.
 - [11] S. A. SHOYINKA, R. F. BOZARTH, J. REESE et H. W. ROSSEL, *Phytopathology*, 68, 1978, p. 693-699.
 - [12] R. E. F. MATTHEWS, *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, 230, 1980, 6 p.
 - [13] H. A. SCOTT, *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, 168, 1976, 3 p.
 - [14] L. GIVORD et R. KOENIG, *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, 128, 1974, 4 p.
 - [15] A. J. GIBBS, *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, 193, 1978, 4 p.

O.R.S.T.O.M., B.P. n° V 51, Abidjan, Côte-d'Ivoire.

1.4.2.2. SOBEMOVIRUS

ISOLATION OF THE RICE YELLOW MOTTLE VIRUS IN IVORY COAST

C. Fauquet and J. -C. Thouvenel

Laboratoire de Virologie, Office de Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, BP V 51, Abidjan, Ivory Coast.

We thank the IRAT (Institut de Recherche d' Agronomie Tropicale) for giving us Oryza sativa varieties. We are grateful to Dr. L. Pinck for doing the analytical ultra-centrifugation, and to Dr. D. Peters who gave us antiserum and virus RYMV from Kenya. We also thank Professor Dr. L. Hirth for his criticism and corrections of the manuscript.

ABSTRACT

A sap-transmissible virus causing a mosaic disease was isolated in several different places in the Ivory Coast on 'IR 8' and 'Jaya' irrigated rices. This paper describes the biological properties, host range, purification, physico-chemical properties and serology of this 28-nm diameter isometric virus. These results and the reaction of the virus to the rice yellow mottle virus antiserum allow us to conclude that the virus isolated in the Ivory Coast is a strain of the rice yellow mottle virus (RYMV) isolated in Kenya.

Plant Dis. Repr. 61: 443-446.

Rice culture is growing in importance in the Ivory Coast. Therefore, it appeared necessary to inventory the virus diseases affecting it. After many surveys, only one virus disease was observed, although it was present in different parts of the country: Gagnoa, Lam-To, and Yamoussoukro. Only irrigated rices were investigated, either IR 8 or Jaya varieties.

Scattered orange-yellow spots were observed either on recently planted, or on mature rice, in the contaminated fields. This disease appeared to be localized, but it is easily transmissible and could spread rapidly and become economically important. This paper describes the virus, its host range, and its biological and physico-chemical properties.

MATERIALS AND METHODS

Mechanical transmission: Young leaves of diseased rice were cut in half-centimeter pieces and crushed in a mortar with a 0.1 M sodium phosphate buffer at pH 7.1 containing 0.25% bentonite and 0.35% cysteine hydrochloride. The leaves to be inoculated were dusted with carborundum, then rubbed. Every inoculated seedling was reinoculated on a IR 8 rice seedling.

Seed transmission: Fifteen varieties of diseased rices were mechanically inoculated. Later, seeds were collected from each of the 15 varieties and germinated in sterilized soil.

Biological properties: All of the experiments were made from crude sap of 6-week-old IR 8 seedlings, mechanically inoculated 15 days earlier.

Purification: The purification was made from frozen leaves, according to Bakker's method for RYMV (1).

Spectro-photometric properties: A dilution of purified virus was used to determine the UV absorption spectrum of the virus on a Zeiss PMQ II spectrophotometer.

Determination of the iso-electric point: The iso-electric point of the virus was determined by electro-focusing. An LKB column, 110 ml ampholytes gradient, pH 3.5-10 was filled with 5-mg virus, then put under a 300-V tension for 72 hours. The column content was later divided into 1-ml fractions. The optical density of these fractions was measured at 280 nm with a Uvikord LKB flow cell. The pH of each fraction was determined with a tacussel ISIS 4,000 pH meter. The iso-electric point of the virus is indicated by superposing the two curves.

Determination of the density: The density of the virus was determined by ultracentrifugation in a cesium chloride gradient, at a speed of 38,000 rpm in a SW 50 rotor for 20 hours. The content of the tubes was bottom-collected and divided into parts to determine alternately the optical density and the index of refraction with an Abbe refractometer.

Electron microscopy: A suspension of purified virus at 0.1 OD_{260 nm}/ml was fixed on carbon grids, stained with uranyl acetate at 1% for 1 min, and observed on a Siemens Elmiskop 1 A electron microscope.

Determination of the sedimentation coefficient: The sedimentation coefficient was determined with a Spinco model E analytical ultra-centrifuge. The virus was suspended in 0.01 M sodium phosphate buffer pH 7.0, and spun at 35,600 rpm at 18°C. Four concentrations of purified virus were analyzed: 1, 2, 3 and 4 mg/ml. Shifting of the peaks on the photographs, taken with Schlieren optics, was measured and the S value of each concentration was determined by the method of Markham (3). The coefficient at infinite dilution S° was obtained by extrapolation to a virus concentration of zero. The absorption technique was also used to determine the S value.

Serology: Antiserum to the purified virus was prepared by injecting rabbits intra-muscularly with 3-mg samples of freshly purified virus emulsified with Freund's incomplete adjuvant. The rabbits' left and right thigh muscles were injected alternately, once a week for 3 weeks. Serum was collected 10 days after the last inoculation and stored at 4°C, with an equal volume of glycerol. One percent agar in 0.85% sodium chloride and 0.02% sodium azide were used in the Ouchterlony agar double diffusion tests. The tests were performed at 4°C over 72 hours. Dilutions of sap and antisera were made with 0.85% sodium chloride.

RESULTS

Symptoms: The diseased rice plants in the fields showed the following symptoms: the oldest leaves were yellow at the lower part of the plant, and orange at the top; the young leaves showed a very thin mottle ranging from yellow to dark-green (Fig. 1).

Mechanical transmission: Symptoms observed on mechanically inoculated rice were exactly the same as those described on rice in the fields, plus a dwarfing of the plant, more or less emphasized according to the date of inoculation (Fig. 2). No further symptoms developed.

All of the 15 IRAT varieties tested were somewhat susceptible to the virus (Table 1). This virus was lethal to young seedlings and systemic for older plants. Yield could be lowered by 10 to 40% according to the cultivar tested, if inoculated early -- for instance, at 21 days of age. No sterility caused by this virus disease was observed on the tested rices, however.

Table 2 lists the plants mechanically inoculated. Only the Gramineae are hosts for this virus.



FIGURE 1. Symptoms of virus disease on leaf of rice 'IR 8' in the field.



FIGURE 2. Dwarfing of inoculated rice 'IR 8' on the right, and healthy plant on the left.

Table 1. Reaction of rice cultivars inoculated with the rice virus from Ivory Coast.

Cultivar	Symptoms	Virus recovered	Cultivar	Symptoms	Virus recovered
LSX 104 x 144 B9	mottle	+	Iguape Cateto	mottle	+
1, 487/9/5	do.	+	C 463 A	do.	+
Mutant 50	do.	+	Jaya	do.	+
IR 8	do.	+	Tepep	do.	+
IR 5	do.	+	OS 6	do.	+
Carréon	do.	+	CICA 4	do.	+
Zenith	do.	+	OS 5	do.	+
Moroberekan	do.	+			

Table 2. List of plants inoculated with the rice virus, and symptoms observed.

Plant tested	Symptoms observed
<i>Oryza sativa</i> cv. FK 135	Mosaic and strong mottle
<i>O. sativa</i> cv. Pacita	Light mottle and yellowing
<i>O. sativa</i> cv. Taichung native 1	Apical necrosis
<i>O. rufipogon</i> balunga	Chlorosis
<i>O. rufipogon</i> cubensis	Chlorosis
<i>O. rufipogon</i> Taiwan	Strong mottle
<i>O. spontanea</i>	Necrosis
<i>O. glaberrima</i>	Yellowing
<i>O. nivarra</i>	Chlorosis
<i>O. barthii</i>	Mottle
<i>O. australiensis</i>	Chlorosis
<i>O. latifolia</i>	Light mottle
<i>O. alta</i>	Mottle on young leaves
<i>Eleusine indica</i>	Nonhost
<i>Eleusine coracana</i>	Symptomless host
<i>Zea mays</i>	Nonhost
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	Nonhost
<i>Datura innoxia</i>	Nonhost
<i>Datura stramonium</i>	Nonhost
<i>Nicotiana glutinosa</i>	Nonhost
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. Samsun	Nonhost
<i>Physalis alkkekengii</i>	Nonhost
<i>Physalis floribunda</i>	Nonhost

Seed transmission: No seedling of the 6,000 grown from the seeds collected on contaminated rice showed any symptom of the virus disease. Consequently, seed transmission is considered negative.

Biological properties: The dilution end-point varied with the origin of the inoculum. It fluctuated from 10^{-6} to 10^{-9} . The virus concentration seemed to reach a maximum 21 days after the inoculation. The inoculum progressively loses its capacity for infection from 55° up to 70°C. In crude extract, the virus can remain viable for at least 34 days at 27°C, but not for 41 days. At a temperature of 4°C, it remained infectious for more than 84 days. It remained infectious in dry leaves for more than 56 days, and for several months in frozen leaves. Consequently, it is a very stable virus that is easily preserved.

Electron microscopy: The electron microscope observations displayed spherical virus particles of 28 ± 3 nm in diameter.

Purification: The production of virus fluctuated from 400 to 600 mg per kg of extracted leaves, assuming an extinction coefficient of $E_{0.1\%}^{1 \text{ cm}, 260 \text{ nm}} = 6.5 (1)$.

Spectrophotometric properties: The absorption reached a maximum at 260 nm and a minimum at 243 nm, which gave the following ratios:

$$E_{260}/E_{280} = 1.46 \pm 0.02; \text{ and } E_{\text{Max}}/E_{\text{Min}} = 1.29 \pm 0.03.$$

This is distinctive of a paraspherical virus having at least 15% RNA (4). Correction for light-scattering was not possible, probably because of impurities in the virus preparations.

Determination of the iso-electric point: The iso-electric point of the virus was 6.0 ± 0.2 . It was observed that the virus, concentrated after this experiment, was always contaminated with impurities that prevented the light-scattering correction.

The virus was infectious after passage on the ampholyte column.

Determination of virus density: Only one band was visible in the tube, corresponding to a density of 1.359. The virus was always infectious after passage on cesium chloride.

Determination of the sedimentation coefficient: The Schlieren optics method, as well as the absorption technique, gave $S_{20}^0 = 116.5 \pm 1$.

Serology: The antiserum produced against this virus reacted specifically with the crude sap up to a dilution of 1/1,024. It also reacted against RYMV isolated in Kenya up to a dilution of 1/512. Respectively, RYMV antiserum from Kenya (titer 1/1,024) reacted against the virus from Ivory Coast up to a dilution of 1/512. The presence of a spur between the two viruses (Fig. 3) proves that the strains are different.

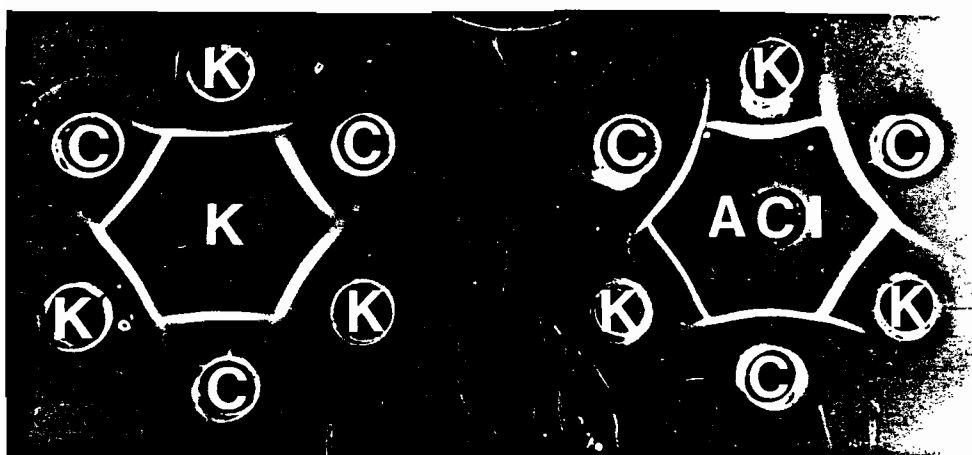


FIGURE 3. Serological reactions of crude sap from diseased rice against rice yellow mottle virus (RYMV) antisera. AK = Antiserum RYMV strain Kenya; ACI = Antiserum RYMV strain Ivory Coast; K = Crude sap from rice inoculated with RYMV strain Kenya; C = Crude sap from rice inoculated with RYMV strain Ivory Coast.

DISCUSSION

In the rice cultures of Ivory Coast, a virus disease characterized by a mottle of the young leaves, a yellowing of the older leaves, and a more or less emphasized dwarfing of the plant was identified. This mechanically transmissible disease is caused by a spherical virus of 28 ± 3 nm in diameter. Only the Gramineae, mainly the genus *Oryza*, served as hosts of this virus in our tests. The virus was highly stable in crude sap as well as in dry leaves. Its thermo-inactivation occurs at $70-71^\circ\text{C}$. The concentration of virus in the plant was very high (400 to 600 mg per kg of extracted leaves). The E_{260} / E_{280} is particularly low for an isometric virus. The iso-electric point of the virus is $pI = 6.0$, and its density is 1.359.

When these results are compared with the results obtained on RYMV by Bakker (1,2), the almost perfect identity between the two viruses appears obvious.

The reaction of the virus described in this paper with the antisera of RYMV from Kenya proves beyond doubt the identity between the two viruses, but shows that the strains are different. It must be pointed out that the virus has been isolated only in Africa; and, up to now, it is not classified in any virus group.

Literature Cited

1. BAKKER, W. 1974. Characterization and ecological aspects of rice yellow mottle virus in Kenya. Agric. Res. Rep. 829, Wageningen. 152 pp.
2. BAKKER, W. 1975. Rice yellow mottle virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses Set 9, No. 149. 4 pp.
3. MARKHAM, R. 1960. A graphical method for the rapid determination of sedimentation coefficients. Biochem. J. 77: 516-519.
4. PAUL, H. L. 1959. Die Bestimmung des Nucleinsäuregehaltes pflanzlichen Viren mit Hilfe einer Spectrophotometrischen Methode. Z. Naturforsch. Teil b 14: 427-432.

IDENTIFICATION OF RICE YELLOW MOTTLE VIRUS IN IVORY COAST

C. FAUQUET and J.C. THOUVENEL

*Office de Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer,
BPV 51, Abidjan, Ivory Coast*

Introduction

A virus disease has been found in irrigated rice in several areas of Ivory Coast, notably Gagnoa, Lam-To, Yamoussoukro, Katiola, Odienne and Tabou. The characteristics of the disease and the virus itself were studied in order to identify the disease and assess its importance.

On young leaves, the disease appeared as a yellow and green mottle. Older leaves were yellow at the base and orange at the tip. In an infested field, yellow-orange discolouration of leaves was seen on plants scattered throughout the field, but such plants were more prevalent at field margins. Symptoms occurred at any stage from transplanting to booting. Plants infected at an early stage were stunted. The disease has been observed under irrigated conditions on the varieties IR8 and Jaya, with symptoms more pronounced on IR8.

Transmission and Host Range

The rice yellow mottle virus (RYMV) was successfully transmitted by mechanical inoculation of leaves previously dusted with carborundum. The inoculum was prepared by grinding in a mortar at 0°C, 0.5 cm pieces of infected leaves in 0.1 M phosphate buffer at pH 7.1, containing 0.25% bentonite and 0.35% cysteine hydrochloride. The symptoms after inoculation were similar to those seen in the field. Plants less than 14 days old were killed by the disease. The distribution of the disease in the field suggested that an insect vector may be involved, but this has not been investigated. The disease was not observed in 6000 seedlings grown from seed from infected plants.

The virus was mechanically transmitted, as evidenced by symptoms of a mottle, to 15 varieties of *O. sativa* from the IRAT collection at Bouake: C 463A; Carreon; CICA 4; Iguape Cateto; IR5; IR8; Jaya; LSX 104 x 144 B9;

Moroberekan; Mutant 50; OS 5; OS 6; Tetep; Zenith; and 1487/9/5. The 15 varieties were inoculated mechanically at 15, 30 and 45 days after transplanting. The effect of the virus on growth, development and yield was much greater with earlier infection, and this depended on variety.

The virus was mechanically transmitted to other *Oryza* species (Table 1), but not to the following species: *Chenopodium amaranticolor*, *Datura innoxia*, *D. stramonium*, *Eleusine coracana*, *E. indica*, *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* v. samsun, *Physalis alkekengi*, *P. floribunda* and *Zea mays*.

Virus Characterization and Concentration

The characteristics of the virus were investigated using methods described elsewhere (Fauquet and Thouvenel, 1977). Juice extracted from six-week old leaves of variety IR8 which had been infected two weeks previously, or purified preparations, were used. The virus was purified from 30 g samples of frozen IR8 leaves, using the method of Bakker (1974) for rice yellow mottle virus. Using an absorption coefficient of 6.5, yields were obtained of 400-600 mg virus per kg of extracted leaves. The virus was shown to be 28-30 nm in diameter and to be stable (Table 2).

TABLE 1

Symptoms of rice yellow mottle virus on Oryza species

Species	Symptoms
<i>O. sativa</i> (FK 135)	Mosaic, strong mottle
<i>O. sativa</i> (Pacita)	Light mottle, yellow discolouration
<i>O. sativa</i> (TN 1)	Apical necrosis
<i>O. alta</i>	Mottle on young leaves
<i>O. australiensis</i>	Chlorosis
<i>O. barthii</i>	Mottle
<i>O. glaberrima</i>	Yellowing
<i>O. latifolia</i>	Slight mottle
<i>O. nivara</i>	Chlorosis
<i>O. rufipogon</i> subsp. balunga	Chlorosis
<i>O. rufipogon</i> subsp. cubensis	Chlorosis
<i>O. rufipogon</i> (Taiwan)	Strong mottle
<i>O. spontanea</i>	Necrosis

Variety IRAT 2 was grown in the greenhouse and inoculated mechanically at weekly intervals from two to six weeks. The virus concentration in the plants was estimated by harvesting the tip of the last leaf and measuring the dilution end-point by inoculating the sample dilutions onto young IR8 plants. It took four weeks for the virus to reach maximum concentration. The virus concentration was much greater in plants infected earlier than later in the

season. For IR8, loss in plant weight caused by the virus was estimated at regular intervals and the virus present in the leaves was purified and weighed. The maximum virus concentration occurred 10-14 days after inoculation. The growth was retarded maximally 21 days after inoculation. Virus concentration at the end of the growth cycle was 25% of its maximum value.

TABLE 2

Physical characteristics of rice yellow mottle virus from Ivory Coast

Characteristic	Value
Dilution end-point	10 ⁻⁶ (variable with inoculum source)
Thermal inactivation point	70°C
Longevity at 20°C	34 days
Longevity at 4°C	84 days
Particle shape and size in dip preparations	spherical, 28-30 nm diameter
U.V. absorbance	maximum at 260 nm; minimum at 243 nm, which gave the following ratios: E ₂₆₀ /E ₂₈₀ = 1.46±0.02 E _{max} /E _{min} = 1.29±0.03
Isoelectric point	6.0 ± 0.2
Density in CsCl	1.36 g/cm ³
Molecular weight virus protein subunit	27,000 ± 1000 daltons

Serology

The antiserum produced by this virus reacted specifically with crude sap up to a dilution of 1/1024. It also reacted with RYMV isolated in Kenya by Bakker (1974) up to a dilution of 1/512. RYMV antiserum from Kenya (titre, 1/1024) reacted against the virus from the Ivory Coast up to a dilution of 1/512. The presence of a spur between the two viruses indicated that the isolates were different.

Cross reactions between antisera of RYMV from Ivory Coast and Kenya and comparison of the characteristics of the Kenyan isolate (Bakker, 1975) with that of the Ivory Coast suggest that different strains of the same virus occur in these countries. An identical or similar virus disease has been reported from Nigeria, Sierra Leone and Liberia (Raymundo and Buddenhagen, 1976), so apparently rice yellow mottle virus is widespread in Africa. To date it is the only rice virus which has been isolated and described from Africa.

The provision of a rice yellow mottle virus antiserum by Dr. D. Peters, Virology Laboratory, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands, is gratefully acknowledged.

References

- Bakker, W. (1974). Characterization and ecological aspects of rice yellow mottle virus in Kenya. *Agricultural Research Report* 829, Wageningen, 152p.
- Bakker, W. (1975). Rice yellow mottle virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*, Set 9, No. 149, 4p.
- Fauquet, C. and Thouvenel, J.C. (1977). Isolation of the rice yellow mottle virus in the Ivory Coast. *Plant Disease Reporter* 61, 443-446.
- Raymundo, S.A. and Buddenhagen, I.W. (1976). A rice virus disease in West Africa. *International Rice Commission Newsletter* 25, 1-2.

1.4.2.3. VIRUS NON CLASSES

VIROLOGIE. — Une nouvelle maladie virale du Maïs en Côte-d'Ivoire : la maladie des taches ocellées. Note (*) de Claude Fauquet et Jean-Claude Thouvenel, présentée par Léon Hirth.

Une nouvelle maladie virale du Maïs a été caractérisée en Côte-d'Ivoire. Sa gamme d'hôtes, une méthode de purification et quelques propriétés sont décrites. Il s'agit d'un virus sphérique de 26 nm de diamètre qui n'a pas encore été décrit sur Maïs et que nous proposons de nommer virus des taches ocellées en raison des symptômes caractéristiques qu'il provoque sur le maïs.

VIROLOGY. — A New Viral Maize Disease in Ivory-Coast, the Maize Eye Spot Virus.

A new viral disease on Maize has been characterized in the Ivory-Coast. We describe here its host-range, a method of purification and some properties. It is a spherical virus of 26 nm in diameter which has never been described on Maize and we propose to name it, "Maize Eye Spot Virus", according to the symptoms induced on Maize.

INTRODUCTION. — Depuis 1968 le programme du laboratoire de Virologie de l'O.R.S.T.O.M. en Côte-d'Ivoire est : Inventaire des maladies virales des plantes cultivées en Côte-d'Ivoire [1]. Dans le cadre de ce programme, nous avons décrit trois maladies virales sur le Maïs [2] nous venons d'en identifier une quatrième. Les symptômes que ce virus provoque, en champs, sont les suivants : jaunissement général de la plante qui est dû à une anastomose de taches ocellées jaunes. Sur les jeunes feuilles il apparaît une mosaïque en forme de tirets (fig. 1) et sur la dernière feuille quelques taches allongées très discrètes. La plante malade a une taille plus réduite que la plante saine mais ne présente pas de rabougrissement. Cette maladie n'a jamais été décrite sur Maïs et par ailleurs nous n'avons pu assimiler le virus à un virus déjà décrit. C'est pourquoi, nous proposons de le dénommer : « Maize Eye Spot Virus ».

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — L'inoculum originel provient de Maïs naturellement infectés, prélevés dans la région centrale de la Côte-d'Ivoire, près de Bouaké.

1. *Transmission.* — (a). — *Transmission mécanique.* — Les feuilles de plantes malades sont broyées dans du tampon borate de sodium 0,05 M pH 8 contenant 0,01 M de chlorhydrate de cystéine. Le broyat est inoculé par frottement sur des plantules préalablement saupoudrées de carborundum n° 400. Les plantes sont maintenues à l'abri des Insectes dans des serres conçues dans ce but et soumises aux conditions climatiques naturelles (température moyenne 32°C et humidité moyenne 90 %). Les plantes hôtes testées par inoculation sont, après 21 jours, broyées et inoculées dans les mêmes conditions, à de jeunes Maïs pour détecter la présence d'hôtes qui ne présenteraient pas de symptômes mais qui multiplieraient le virus.

(b). *Transmission par Pucerons.* — Deux espèces de Pucerons ont été utilisées : *Aphis spiraecola* (récolté sur *Eupatorium odoratum*) et *Rhopalosiphum maidis* (récolté sur *Zea mays*). Après un jeûne de 2 h et un repas d'acquisition variant de 5 mn à 24 h sur des plantes malades, les Pucerons sont transférés sur de jeunes plantules saines, à raison de 10 individus par plante et ils sont éliminés par pulvérisation d'insecticide après 48 h.

2. *Propriétés biologiques.* — Les propriétés biologiques ont été déterminées sur un broyat, obtenu avec des feuilles de Maïs, inoculées 14 jours auparavant, et présentant de forts symptômes. Du tampon d'inoculation est ajouté aux feuilles de Maïs à raison de 1 ml/1 g de feuilles.

La détermination du pouvoir pathogène a été effectuée en inoculant de jeunes plantules de Maïs âgées de 5 jours (mosaïque systémique 14 jours après inoculation). La méthode de Raymer et Diener [3] a été utilisée pour estimer ce pouvoir infectieux.

Le point de dilution limite a été effectué en diluant l'extrait brut dans de l'eau distillée [3].

Le point de thermo-inactivation a été déterminé en éprouvant le pouvoir infectieux de 2 ml d'extrait brut dilué de moitié par du tampon d'inoculation, après chauffage pendant 10 mn à différentes températures [3].

La conservation du pouvoir infectieux *in vitro* a été déterminée en inoculant périodiquement de jeunes plantules de Maïs, avec de l'extrait brut dilué de moitié conservé dans différentes conditions; à la température ambiante (24°C), au réfrigérateur (4°C) au congélateur (-25°C) ou bien encore dans des feuilles malades desséchées à 24°C.

3. *Purification.* — Les feuilles de Maïs malades sont broyées dans un tampon phosphate de potassium

0,2 M pH 6 contenant 0,4 % d'acide thioglylique, à raison de 5 ml de tampon/1 g de feuilles. Après 2 mn de broyage, le mélange est clarifié par du chloroforme, à raison de 1 ml de chloroforme pour 1 g de feuilles. Après une centrifugation de 10 mn à 10 000 g, le surnageant est ultracentrifugé pendant 3 h à 78 000 g. Les culots sont repris dans du tampon phosphate de potassium 0,01 M pH 7 dans le dixième du volume de broyage. Après une courte centrifugation à 10 000 g, cette suspension est ultracentrifugée sur un coussin de saccharose 20 %, de 8 ml. Les culots sont repris dans du tampon phosphate de potassium 0,01 M pH 7 (0,1 ml/2 g de feuille) et purifiés sur gradient de saccharose 10-40 % pendant 3 h à 90 000 g, à la température de 10°C. La bande opalescente correspondant au virus est récoltée après fractionnement, diluée 4 fois et reconcentrée par ultracentrifugation de 4 h à 78 000 g.

4. *Microscopie électronique.* — Une suspension de virus purifié, ayant une concentration de 0,1 mg/ml est déposée sur une grille de microscopie électronique recouverte d'un film de Formvar et carbonnée. Les particules sont ensuite colorées négativement avec de l'acétate d'uranyle à 0,5 %. Les observations ont été réalisées au G.E.R.M.E. en Côte-d'Ivoire (Groupement d'Études et de Recherches en Microscopie Electronique) à l'aide d'un microscope « Siemens Elmiskop 102 ».

5. *Sérologie.* — Un antisérum a été préparé en injectant du virus purifié à un lapin, à raison de 1 mg par semaine, pendant 3 semaines. Les deux premières injections ont été intraveineuses et la dernière intramusculaire. Le Lapin est ensuite saigné une fois par semaine pendant 10 semaines et le sérum est récupéré après coagulation à température ambiante. Les tests sérologiques ont été effectués par double diffusion en agar à 1 % dans du NaCl 0,9 % additionné d'azide de sodium à 0,1 %, suivant la méthode d'Ouchterlony [4].

RÉSULTATS. — 1. *Transmission.* — (a) *Transmission mécanique.* — La maladie a pu être transmise facilement par inoculation mécanique à de jeunes plantules de Maïs, en reproduisant exactement les mêmes symptômes que ceux observés en champs, à savoir : mosaïque en tiret sur les jeunes feuilles, taches ocellées sur les vieilles feuilles (fig. 2) qui donnent par anastomose des feuilles jaunes.

La maladie a pu également être transmise aux plantes des familles suivantes : Gramineae : *Avena sativa*, (sans symptômes), *Bromus sterilis* (sans symptômes), *Hordeum vulgare* (mosaïque, taches en anneaux), *Triticum aestivum* (sans symptômes), *Triticum durum* (sans symptômes); Scrophulariaceae : *Torenia fournieri* (sans symptômes); Solanaceae : *Nicotiana clevelandii* × *N. glutinosa* (sans symptômes), *Nicotiana megalosiphon* (sans symptômes).

Parmi les hôtes négatifs, nous pouvons noter dans les Chenopodiaceae : *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* et *C. murale* et dans les Gramineae : *Oryza sativa*.

(b) *Transmission par Puceron.* — La maladie n'a pu être transmise par les deux espèces de Puceron utilisées, de Maïs à Maïs, que ce soit sur le mode persistant ou non persistant.

2. *Propriétés biologiques.* — Le point de dilution limite est supérieur à 10^{-7} pour des feuilles présentant une forte symptomatologie; la température de thermo-inactivation se situe entre 80 et 85°C. Il s'agit d'un virus extrêmement stable qui est toujours infectieux après plus de 20 jours à +24, +4, -25°C ou bien dans des feuilles desséchées.

3. *Purification.* — Le rendement de la méthode de purification varie entre 50 et 400 mg/kg de feuilles, suivant l'intensité des symptômes. Le virus purifié est hautement infectieux puisque une suspension de 0,001 unité de densité optique induit des symptômes sur Maïs. Sur gradient de saccharose, nous n'avons constaté la présence que d'une seule bande opalescente.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Fig. 1. — Symptômes systémiques provoqués par le virus des taches ocellées du Maïs sur une plante infectée en champs.

Fig. 1. — Systemic symptoms induced by the Maize eye spot virus on Maize in the field.

Fig. 2. — Symptômes systémiques provoqués sur une feuille de Maïs, après inoculation mécanique du virus des taches ocellées du Maïs, à gauche feuille saine.

Fig. 2. — Systemic symptoms induced on a Maize leaf after mechanical inoculation of Maize eye spot virus, healthy leaf on the left.

Fig. 3. — Aspect en microscopie électronique d'une préparation purifiée du virus des taches ocellées du Maïs, après coloration négative à l'acétate d'uranyle (grandissement 120 000). La barre représente 100 nm.

Fig. 3. — Electron microscope preparation of purified Maize eye spot virus, negatively stained by uranyl acetate (magnification 120,000). Bar represents 100 nm.

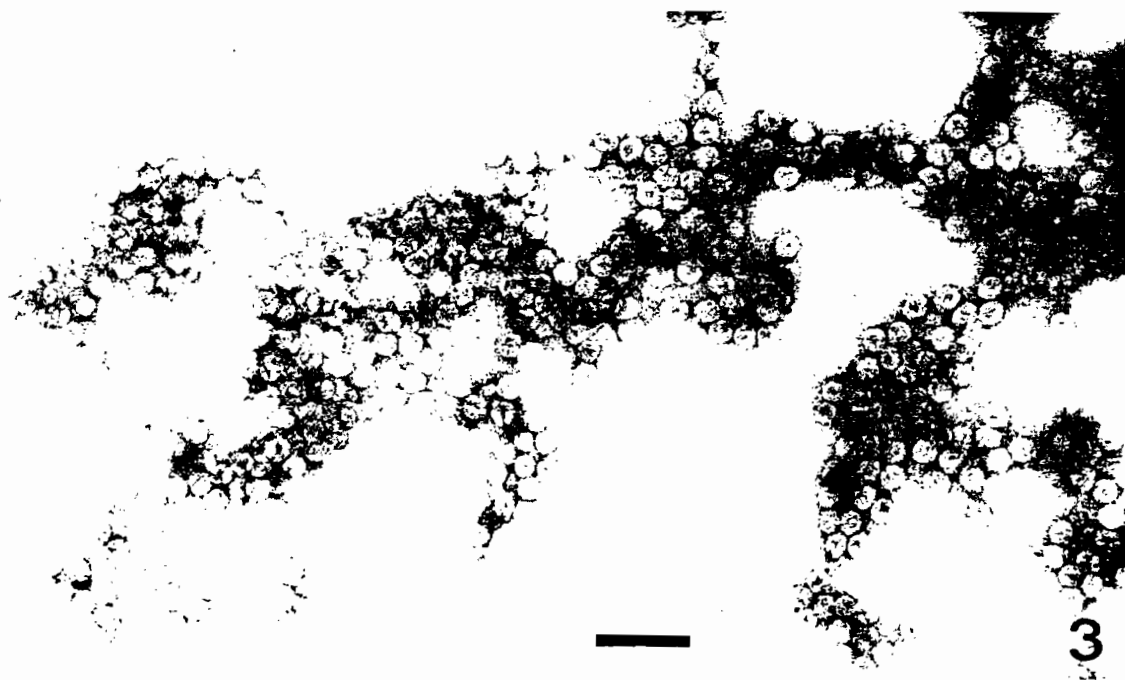
PLANCHE I/PLATE I



CLAU DE FAUCON



2



3

Le spectre d'absorption de ce virus présente un maximum à 260 nm et un minimum à 243 nm. Le rapport A_{260}/A_{280} est de 1,54 et le rapport A_{\max}/A_{\min} est de 1,32. Ces rapports corrigés pour la diffusion de la lumière, selon Noordam [5] deviennent 1,71 et 1,43. Ils indiquent selon la méthode graphique de Paul [6] un pourcentage d'ARN de 26 % et selon la méthode graphique de Gibbs et Harrison [7] un coefficient d'extinction de 6,9.

4. *Microscopie électronique.* — L'observation en microscopie électronique du virus purifié a montré la présence de particules sphériques de 26 nm de diamètre en moyenne (fig. 3). Il ne semble pas y avoir de particules vides mais l'acétate d'uranyle semble mieux pénétrer certaines particules.

5. *Sérologie.* — Un antisérum de titre 1/500 a été préparé. Le virus purifié a été éprouvé contre les antisérums spécifiques des virus suivants, le titre homologue et l'origine sont donnés pour chaque antisérum entre parenthèses : le virus de la panachure jaune du Riz (titre 1/2048; Dr Fauquet); le virus de la nécrose du Tabac (titre 1/1024; Dr Putz), le virus des rayures du Maïs (titre ?; Dr Bock), le virus latent du *Tephrosia* (titre 1/1024; Dr Bock), le virus de la mosaïque du Haricot du sud (titre 1/4096; Dr Fauquet), le virus du dessèchement de la Fève (titre ?; Dr Smith), le virus des énaions du Pois (titre ?; Dr Musil), le virus de la panachure du Vigna (titre 1/128; Dr Shoyinka), le virus de la mosaïque de la Courge (titre 1/1024; Dr Campbell), le virus de la mosaïque de la Fève (titre 1/500; Dr Cockbain), le virus de la mosaïque foncée de la Fève (titre 1/500; Dr Cockbain), le virus de la mosaïque du Vigna (titre ?; Dr Van Kammen), le virus de la mosaïque jaune du Vigna (titre ?; Dr Ladipo), le virus de la panachure chlorotique du Vigna (titre ?; Dr Bancraft), le virus des taches annulaires du Tabac (titre 1/320; Dr Stace-Smith), le virus des taches annulaires de la Tomate (titre 1/320; Dr Stace-Smith), le virus de la mosaïque du Concombre, souche *d* (titre 1/512; Dr Thouvenel), le virus du nanisme de l'Arachide (titre 1/256; Dr Mink), le virus stérilisant de la Tomate (titre 1/2048; Dr Devergne) et le virus de la panachure du Trèfle rouge (titre ?; Dr Musil). Pour aucun de ces antisérums nous n'avons obtenu de réactions sérologiques avec le virus isolé du Maïs en Côte-d'Ivoire.

CONCLUSION. — Nous avons isolé un virus sphérique de 26 nm de diamètre qui provoque des symptômes sur Maïs en Côte-d'Ivoire. Cette maladie se transmet aisément par inoculation mécanique au Maïs et quelques autres hôtes, mais généralement sans provoquer de symptômes, exception faite de l'Orge qui développe des symptômes sous forme de taches ocellées comme le Maïs. Il n'a pas été possible de transmettre cette maladie par Pucerons, que ce soit sur le mode persistant ou non persistant, et la transmission par la graine n'a pas encore été éprouvée.

Cette maladie n'a pas encore été décrite en Côte-d'Ivoire [2], ni en Afrique Tropicale ([8, 9]), ni même ailleurs dans le monde ([10] et [11]). Parmi les virus sphériques isolés sur Maïs, le virus de la mosaïque du Brome ([10, 12]) et le virus de la mosaïque du Concombre ([10, 13]) sont transmissibles mécaniquement mais ils sont tous deux différents du virus isolé en Côte-d'Ivoire de par leur gamme d'hôtes et de plus, nous n'avons pas trouvé de relation sérologique. Un autre virus sphérique, transmissible mécaniquement, a été isolé du Maïs au Pérou le virus de la marbrure chlorotique du Maïs [11] mais les symptômes sont très différents et le virus sensiblement plus grand (30 nm) que celui isolé en Côte-d'Ivoire. Le virus de la mosaïque du *Panicum* [14] isolé de *Panicum virgatum* et de l'herbe Saint-Augustin (*Stenotaphrum secundatum*), peut artificiellement infecter le Maïs, mais les symptômes sur Maïs et la gamme d'hôtes sont complètement différents de ceux du virus de Côte-d'Ivoire et de plus, nous n'avons jamais constaté la présence d'un virus satellite dans nos purifications.

Toutes les raisons, énoncées ci-dessous, nous laissent penser que nous avons isolé un nouveau virus du Maïs et nous proposons de le dénommer le virus des taches ocellées du Maïs (Maize Eye-Spot Virus-M.E.S.V.).

Les caractéristiques biochimiques et biophysiques, que nous avons déterminées pour ce virus, ne nous permettent pas de le classer dans un des groupes des virus de plante sphériques [15]. Pour pouvoir trancher il nous faudra, si possible, trouver son vecteur naturel et comparer toutes ses propriétés avec les virus sphériques isolés de Graminées [16].

(*) Remise le 5 juillet 1982.

- [1] C. FAUQUET et J. C. THOUVENEL, *Initiations. Documentations Technique* n° 46, 1980, O.R.S.T.O.M., Paris, 128 p.
- [2] D. LAMY, C. FAUQUET, et J. C. THOUVENEL, *Agronomie Tropicale*, 35-2, 1980, p. 192-196.
- [3] W. B. RAYMER et T. O. DIENER, *Virology*, 37, 1968, p. 343-350.
- [4] O. OUCHTERLONY, *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 25, 1948, p. 115.
- [5] D. NOORDAM, *Identification of Plant Viruses*, 1973, Ed. Pudoc, Wageningen, 207 p.
- [6] H. L. PAUL, *Z. Naturforsch.*, 14b, 1959, p. 427.
- [7] A. GIBBS et B. HARRISON, *Plant Virology. The Principles*, 1976, E. ARNOUD, éd., London, 292 p.
- [8] K. R. BOCK et E. J. GUTHRIE, *East African Agriculture and Forestry Research Organization reports*, 1972-1975.
- [9] K. R. BOCK, *Crop Virology Research Project (1973-1980) Final report*, 1980, ODA, London, 24 p.
- [10] Anonyme, *A Compendium of Maize Diseases*, Prod. The American Phytopathological Society, U.S.A., 1973, 64 p.
- [11] L. E. WILLIAMS, D. T. GORDON et L. R. NAULT, *Proceedings International Maize Virus Disease Colloquium and Workshop*, 1976, 154 p.
- [12] L. C. LANE, C.M.I./A.A.B., *Descriptions of Plant Viruses*, n° 180, 1977, 4 p.
- [13] R. J. B. FRANCKI, D. W. MOSSOP et T. HATTA, C.M.I./A.A.B., *Descriptions of Plant Viruses*, n° 213, 1979, 6 p.
- [14] C. L. NIBLETT, A. Q. PAULSEN et R. W. TOLER, C.M.I./A.A.B., *Descriptions of Plant Viruses*, n° 177, 1977, 4 p.
- [15] R. E. F. MATTHEWS, *Intervirology*, 12, n° 3-5, 1979, p. 132-296.
- [16] H. L. PAUL, G. QUERFURTH et W. HUTH, *J. Gen. Virol.*, 47, 1980, p. 67-77.

Laboratoire de Virologie, Centre O.R.S.T.O.M. d'Adiopodoumé,
B.P.n° V-51 Abidjan, Côte-d'Ivoire.

1.4.3. VIRUS HELICOIDaux

1.4.3.1. FUROYIRUS

Some properties of peanut clump, a newly discovered virus

By J.-C. THOUVENEL, M. DOLLET AND C. FAUQUET

Laboratoire de Virologie, Office de la Recherche Scientifique et Technique
Outre-Mer (ORSTOM), B.P. V 51, Abidjan, République de Côte
d'Ivoire, West Africa

(Accepted 20 May 1976)

SUMMARY

A mechanically transmissible soil-borne virus causing peanut clump disease in Upper Volta is described. It infected mainly species of *Chenopodiaceae* and was propagated in *Chenopodium amaranticolor*. Infectivity was lost from sap of *C. amaranticolor* after 10 min at 64 °C, and after dilution to 10^{-5} but not 10^{-4} . A purification procedure is described. The particles are rod-shaped and of two predominant lengths, 190 and 245 nm. The virus is not serologically related to tobacco rattle, pea early-browning, or soil-borne wheat mosaic viruses, or to a virus associated with a rhizomania-like disease of beet.

INTRODUCTION

During the summer of 1969, disease symptoms were observed in peanut at the agricultural station of Saria, in Upper Volta (Germani & Dhery, 1973), where about 6 out of 10 ha were affected. The symptoms seemed to be similar to those of the disease called 'clump' (Plate, fig. 1), previously described in Senegal (Bouhot, 1967). In both countries the disease reappears in the same places in succeeding crops; this and the fact that treatment of contaminated soils with DBCP (1,2-dibromide, 3-chloropropane) temporarily suppressed the disease (Germani & Dhery, 1973) suggests that it is soil-borne. Bouhot (1967), showed that it was not seed borne, Thouvenel, Germani & Pfeiffer (1974) and Germani, Thouvenel & Dhery (1975) showed that the disease is caused by a virus, which was named peanut clump virus (PCV). This paper describes the host range, purification and some properties of PCV.

MATERIALS AND METHODS

The original inoculum consisted of naturally infected leaves collected from Saria in Upper Volta, and then kept at -20 °C. Plants for experiments were grown in sterilized soil, in glasshouses where the temperature ranged from 30 to 35 °C, and where the average humidity reached 90%. Young seedlings of *Chenopodium amaranticolor* were artificially illuminated for 16 h/day.

For mechanical transmission, frozen leaves of peanut or *C. amaranticolor* were ground in pH 7.1, 0.1 M potassium phosphate buffer (5 ml/g of tissue) containing

0.02 M cysteine hydrochloride and 2.5 mg/ml bentonite. The sap obtained was rubbed manually on carborundum-dusted leaves, and in some experiments, on carborundum-dusted roots of young uprooted seedlings which were planted again after inoculation.

For studying *in vitro* properties, inoculum was prepared from *C. amaranticolor* as above, and *C. amaranticolor* plants used as indicators. The dilution end-point was determined by serial dilutions in 0.1 M phosphate buffer pH 7.1. The thermal inactivation point was tested by immersing 2 ml quantities of sap, contained in 5 ml tubes, in a water bath at various temperatures for 10 min and then placing the tubes in an ice bath. To test ageing *in vitro*, the infectivity of sap kept at 27 °C was checked every day, and resistance to air-drying was determined by testing daily the infectivity from *C. amaranticolor* leaves hung in the laboratory.

Density gradient columns (10–40% sucrose in 0.05 M sodium borate buffer, pH 8, containing 0.001 M disodium ethylene diamine tetra-cetate (EDTA)) were prepared in 3 × 1 in (7.6 × 2.5 cm) cellulose nitrate tubes. Gradients were centrifuged for 90 min at 51 000 g in a Beckman SW 25.1 rotor. They were fractionated from the top by displacing the tube contents with 50% sucrose solution. The optical density at 254 nm was recorded in the 3 mm flow cell of a LKB Uvicord absorptiometer.

Leaf dip preparations from healthy and diseased plants were made by the method of Hitchborn & Hills (1965) using carbon-coated grids. Virus preparations were stained with 1% uranyl acetate + 0.5% EDTA at pH 7.0 and examined with a Philips EM300 electron microscope.

Antiserum against PCV was raised in a rabbit injected intramuscularly twice a week, for 5 wk, with 0.5–1 mg samples of freshly purified virus emulsified with Freund's incomplete adjuvant. The rabbit's left and right thigh muscles were injected alternately. Serum was collected 10 days after the last injection and stored at 4 °C, with an equal volume of glycerol. The serological tests were made using the microprecipitin technique (van Slogteren, 1955).

Aphid-transmission experiments were done in the laboratory with *Aphis gossypi* reared on eggplant (*Solanum melongena*) and *A. craccivora* reared on peanut (*Arachis hypogea*).

RESULTS

Host range and symptomatology

Peanut (*Arachis hypogea* cv. TE 3 and cv. 28206) is easily infected by mechanical inoculation with sap from diseased peanut, developing symptoms similar to those produced in the field (Plate, fig. 2).

C. amaranticolor also is very susceptible to infection by mechanical inoculation with sap from peanut, and the virus is easily transmitted from *C. amaranticolor* to *C. amaranticolor*. By contrast, the virus has not been transmitted from *C. amaranticolor* back to peanut, although the leaves of 210, and the roots of 180 plants were inoculated. This may be due to the potent inhibitors of infection known to occur in *C. amaranticolor* (Smookler, 1971). Despite this we were obliged to propagate the virus in *C. amaranticolor* for lack of seed of susceptible peanut cultivars. In studies on host range, plants were inoculated using sap from *C. amaranticolor*. Whether the plants showed symptoms or not the inoculated leaves and the upper uninoculated ones were

tested by back-inoculation to *C. amaranticolor*. Infection was obtained in the following species.

(1) *Leguminosae*. *Arachis hypogea* cv. TE 3 or 28206. Mottle and chlorotic ring-spots appeared on new tip leaves, 7–10 days after inoculation. These symptoms rapidly faded, then disappeared when the leaves turned dark green. The plant then stopped growing and looked stunted (Plate, fig. 2).

(2) *Chenopodiaceae*. *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* and *C. album*. At 35 °C local yellow spots appeared 2 days after inoculation; later they became ringspots and line patterns which extended along the veins (Plate, fig 3). Inoculated leaves wilted, then fell between the sixth and eighth days. There was no systemic infection. At 24 °C no symptoms developed. Virus could be recovered from the leaves of plants whose roots were inoculated, but no shoot symptoms were produced. *C. ackenii*: inoculated leaves showed slight vein-clearing after 4 days and turned yellow on about the sixth day; no systemic infection. *C. ambrosioides*: no symptoms developed, but virus could be recovered from inoculated leaves; there was no systemic infection. *C. botrys*: inoculated leaves showed yellow blotches, followed by necrosis; there was no systemic infection. *C. hybridum*: inoculated leaves showed necrotic stippling after 7 days; symptomless systemic infection. *C. murale*: between the fifth and eighth days following inoculation, broad green ringspots could be seen in the inoculated leaves, together with oak-leaf patterns. the leaves then turned yellow and were shed on about the eleventh day; the infection was not systemic. *C. opuliforum*: two days after inoculation, numerous yellow spots developed and sometimes became ringspots; leaves fell on about the fifth day; there was no systemic infection. *C. polyspermum*: systemically infected and developed a slight mottle; no symptoms in inoculated leaves. *C. rubrum*: inoculated leaves developed vein-clearing on the third day after inoculation, then turned yellow; broad green ringspots and line patterns appeared on the eighth day; no systemic symptoms.

(3) *Amaranthaceae*. *Celosia argentea* cv. plumosa; when plants were inoculated very young, systemic mottle and slight distortion developed after 1 month.

Non-host plants

The following species failed to become infected in our tests. The number of plants tested of each species is given in parentheses.

Aizoaceae: *Tetragonia expansa* (26). *Amaranthaceae*: *Amaranthus caudatus* (35). *A. retroflexus* (10), *A. spinosus* (10), *Gomphrena globosa* (26). *Apocynaceae*: *Amsonia tabernaemontana* (18), *Vinca rosea* (12). *Bombacaceae*: *Ceiba pentandra* (16). *Cariaceae*: *Carica papaya* (18). *Chenopodiaceae*: *Beta vulgaris* (26). *Compositae*: *Zinnia elegans* (10). *Convolvulaceae*: *Ipomea coccinea* (20), *I. oleracea* (12). *Cruciferae*: *Brassica oleracea* (36), *Capsella bursa-pastoris* (26). *Cucurbitaceae*: *Cucumis melo* (28), *C. sativus* (10). *Euphorbiaceae*: *Euphorbia biumbellata* (16), *Manihot utilissima* (16). *Gramineae*: *Chloris vulgare* (40), *Oryza sativa* (26), *Poa annua* (25), *Sorghum vulgare* (40). *Leguminosae*: *Cajanus* sp. (21), *Canavalia ensiformis* (14), *Cassia occidentalis* (21), *Crotalaria retusa* (5), *Desmodium intertum* (3), *Glycine max* (19), *Indigofera frutescens* (3), *Lupinus annuum* (35), *Melilotus alba* (26), *Pisum sativum* (23), *Stylosanthes gracilis* (29), *Tephrosia vogeli* (5), *Trifolium repens* (20), *Vicia faba* (27), *Vigna cylindrica* (20),

V. sinensis (44), *Voandzia subterranea* (9). Malvaceae: *Abutilon indicum* (18), *Hibiscus asper* (13), *H. esculentus* (32). Passifloraceae: *Passiflora suberosa* (20). Phytolaccaceae: *Phytolacca americana* (15). Rosaceae: *Potentilla* sp. (24). Solanaceae: *Capsicum annuum* (28), *Datura innoxia* (4), *D. metel* (14), *D. stramonium* (4), *Lycopersicon esculentum* (28), *Nicotiana clevelandii* (12), *N. glutinosa* (15), *N. tabacum* Samsun (12), *N. tabacum* Xanthi (10), *Physalis alkekengii* (21), *P. floridana* (5), *Solanum nigrum* (17). Tropaeolaceae: *Tropaeolum majus* (9). Umbelliferae: *Daucus carota* (8).

Inoculations to the roots of *Gomphrena globosa*, *Abutilon indicum*, *Beta vulgaris*, *Solanum nigrum* and *Vigna cylindrica* did not cause infection.

Properties in vitro

Dilution end-point. Infectivity in *C. amaranticolor* sap decreased greatly between dilutions 10^{-2} and 10^{-3} . Symptoms were produced after inoculation with sap diluted to 10^{-4} but not at 10^{-5} .

Thermal inactivation point. The infectivity of sap freshly expressed from inoculated *C. amaranticolor* leaves was much decreased after 10 min at 60 °C, and abolished after 10 min at 64 °C.

Resistance to air-drying. Infected *C. amaranticolor* leaves lost infectivity after drying for 37 days.

Longevity in vitro. The infectivity of *C. amaranticolor* sap was lost after 22–27 days at about 27 °C.

Effect of freezing. Infectivity decreased little during 15 months in leaves of *C. amaranticolor* stored at -20 °C. It also persisted for a year in frozen sap. Infectivity was retained in leaves alternately frozen and thawed every day for 50 days.

Purification

PCV was purified from *C. amaranticolor* leaves frozen for at least 3 wk. Many procedures, including those used for the purification of other viruses having similar morphology, failed because of the tendency of PCV to aggregate during the first steps of purification. Borate buffer, pH 8, was found best for the initial extraction and for storing the purified virus.

Among the different methods of clarification tested, including freezing, treatment with chloroform, butanol, carbon tetrachloride, diethyl ether or Triton X-100, the best was emulsification with a mixture of chloroform and butanol.

Frozen leaves were ground (1 g/2.5 ml) with 0.5 M sodium borate buffer (pH 8) containing 1 M urea, 0.02 M sodium bisulphite, 0.01 M cysteine hydrochloride and 0.001 M EDTA, for 2 min in a Waring Blender. A 9:1 mixture of chloroform and butanol (1 ml of the mixture/1 g leaf) was added and the mixture blended again for 1 min. The extract was centrifuged for at least 5 min at 3000 g and the pellets resuspended and blended once more with the same volume of extracting buffer, then re-centrifuged. The pellets were discarded, the two supernatant fluids were pooled and polyethylene glycol (mol. wt 20000) added, to a concentration of 5%. The mixture was left overnight at 4 °C, centrifuged for 20 min at 15000 g and the supernatant fluid discarded. The pellets were resuspended in 0.05 M borate buffer (pH 8) containing 1 M urea, 0.001 M EDTA and 0.1% 2-mercapto-ethanol (1/5 of the initial volume).

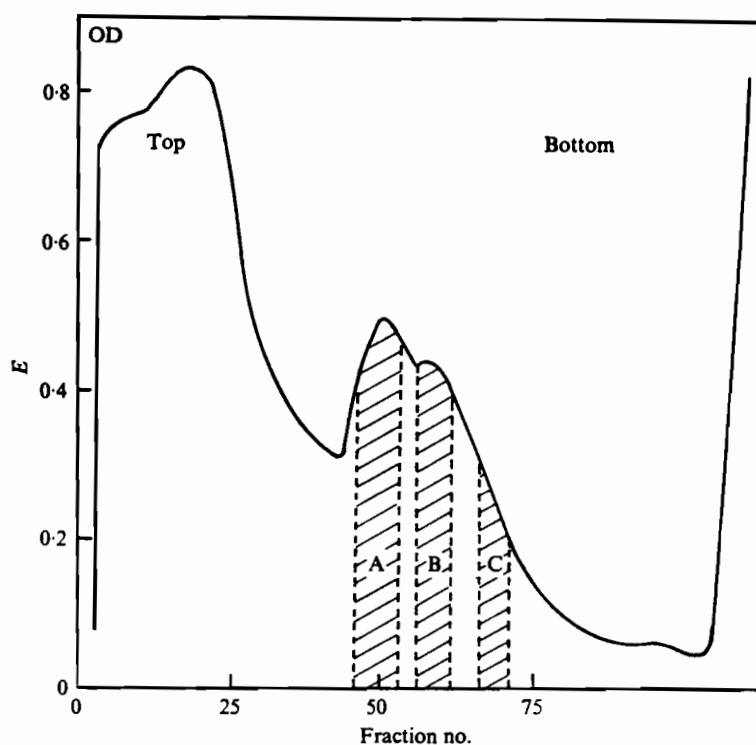
After removal of the insoluble material by centrifugation for 15 min at 12000 g, the virus was sedimented by centrifugation at 78000 g for 1 h. It was then resuspended in borate buffer for 2 h (1% of the initial volume) and further purified by centrifugation for 15 min at 12000 g, then 30 min at 150000 g. After this high-speed centrifugation, a thin layer of brownish material came away from the top of the pellet and was discarded.

A small translucent pellet of purified virus remained, which was resuspended in 0.05 M borate buffer (pH 8) containing 0.001 M EDTA. In some experiments, the virus was centrifuged through a sucrose density gradient column after the first cycle of ultracentrifugation.

Taking $E_{260}^{0.1 \text{ cm}}$ 3.1, as for soil-borne wheat mosaic virus (Brakke, 1971) virus yields were estimated to be 10–15 mg/kg leaf.

Density gradient centrifugation

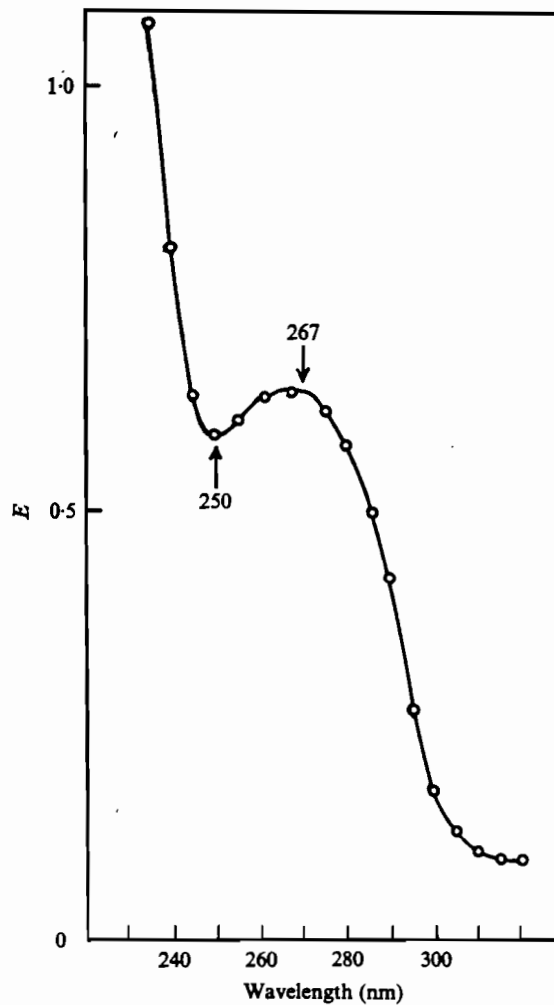
At the end of the run, a zone of light-scattering material could be seen 25–30 mm below the meniscus. This zone contained two peaks, the upper representing unaggregated virus particles and the lower representing aggregated particles (Text-fig. 1).



Text-fig. 1. The ultraviolet absorbance profile at 254 nm of a sucrose density gradient. Purified virus preparation (2 ml) was layered on a gradient of 10–40% sucrose in 0.05 M borate buffer (pH 8) containing 0.001 M EDTA. Centrifugation was for 90 min at 51000 g in a SW 25.1 rotor. Fractions representing the hatched zones A, B and C were pooled and used for electron microscopy (see Text-fig. 3).

Ultraviolet absorption spectrum

The absorption spectrum of purified virus had a maximum at 267 and a minimum at 250 nm and was typical of a nucleoprotein (Text-fig. 2). The maximum/minimum ratio was 1.08 ± 0.01 (with no correction for light-scattering), and the E_{280}/E_{260} ratio of 1.09 ± 0.01 suggests a nucleic acid content of 4.5% (Layne, 1954).



Text-fig. 2. Ultraviolet absorption spectrum of purified PCV.

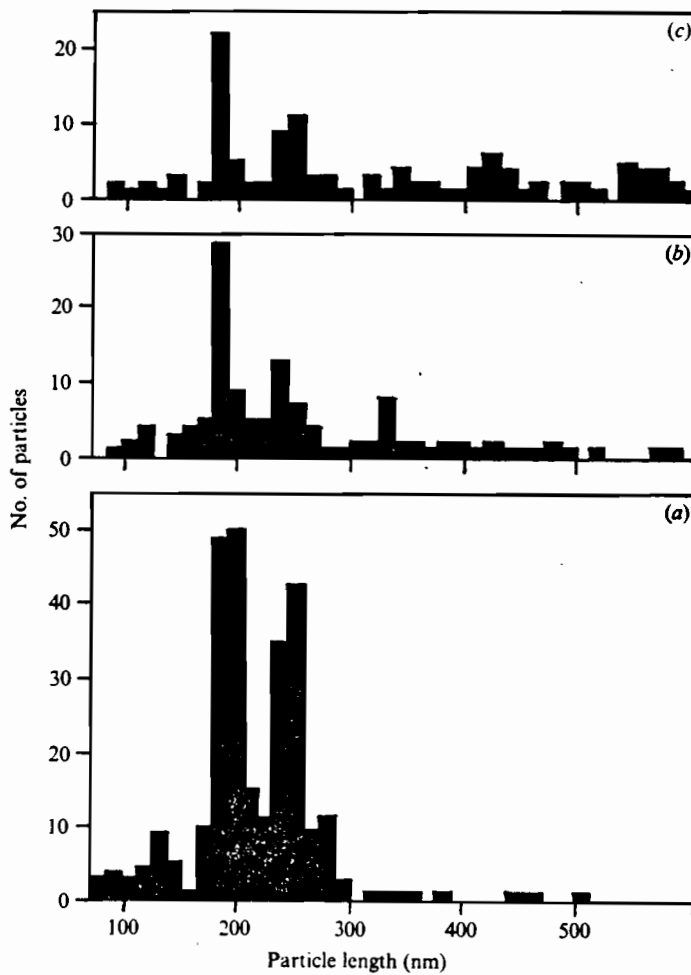
Electron microscopy

Leaf-dip preparations made from diseased peanut and *C. amaranticolor* leaves always showed rod-shaped particles. On the contrary, preparations made from healthy leaves never showed particles. Micrographs made from purified preparations

confirmed the existence of two types of particles (Plate, fig. 4) as previously observed in dip-preparations (Thouvenel *et al.* 1974). Length measurements of 346 particles gave average values of 245 ± 15 nm for the large particles and 190 ± 10 nm for the small ones (Text-fig. 3). The width of both types was 21 ± 3 nm.

Serology

Homologous antiserum reacted with purified PCV when diluted to $1/2048$ but not further. Purified virus reacted with antiserum at $OD_{280} = 0.05$ but not at 0.01 . Crude chloroform-clarified extract of diseased peanut leaves reacted strongly with the antiserum; by contrast, crude chloroform-clarified extract of diseased *C. amaranticolor* leaves reacted very faintly, presumably because the concentration of virus is small.



Text-fig 3. Length distribution of PCV particles in samples from a sucrose density gradient. (a), (b) and (c) indicate particles from zones A, B and C of Text-fig. 1 respectively.

There was no reaction between purified PCV and antisera to the following viruses (homologous titres in parentheses); tobacco rattle virus strains CAM (1/512), PRN (1/256), Lisse (1/1024) and a common English strain (1/512), pea early-browning virus strains SP 5 (1/64) and E116 (1/128), soil-borne wheat mosaic virus isolate J-B (1/1600) or to a virus causing a disease of beet resembling 'rhizomania' (1/100) (Putz & Vuittenez, 1974).

Means of spread

Aphids (*Aphis gossypii* and *A. craccivora*) were starved for 3 h before being allowed to feed for 1 day on diseased peanut. They were then transferred to feed for 1 day on healthy peanut seedlings. Using ten aphids per seedling, no transmission of virus was obtained to any of twenty seedlings.

Previous studies (Germani & Dhery, 1973) suggested that PCV is soil-borne. To confirm this, peanut seeds were sown in soil collected from a disease outbreak area. Symptoms of peanut clump disease were visible in 132 out of 250 seedlings and PCV was recovered from them. No symptoms occurred in forty control seedlings grown in sterilized soil.

Soil from fields producing infected crops contained numerous stubby root nematodes (*Trichodorus* sp.) and much of the fungus *Pythium* sp., possible vectors of PCV. However, the mode of transmission of PCV is still an open question, and is under active investigation.

DISCUSSION

In the host-range experiments inoculations were made with sap from *C. amaranticolor* because we lacked a source of clumped peanut plants. It seems possible that failure of the virus to infect species outside the Chenopodiaceae and Amaranthaceae may have been caused by the same inhibitors in the sap of *C. amaranticolor* that prevented infection of peanut. Despite the fact that transmission from *C. amaranticolor* back to peanut has not yet been achieved, there is strong evidence that PCV is the agent causing peanut clump disease. The virus has always been recovered by manual inoculation from diseased peanuts but never from healthy plants. Similarly, electron microscope examination of leaf-dip preparations detected the virus-like particles in samples from diseased plants only. Moreover, PCV antiserum prepared using virus extracted from *C. amaranticolor* reacted specifically with crude sap of diseased peanut.

The existence of particles of two lengths (190 and 245 nm), as well as transmission in soil, are points of similarity between PCV, tobnaviruses (tobacco rattle and pea early-browning viruses) and several yet unclassified viruses including barley stripe mosaic, beet necrotic yellow vein, broad bean necrosis, hart's tongue fern, lychnis ringspot, poa semi-latent, potato mop-top, soil borne wheat mosaic and the virus described by Putz & Vuittenez (1974) associated with a rhizomania-like disease of beet.

The symptoms produced by PCV on *C. amaranticolor* are similar to those of broad bean necrosis virus (Inouye & Asanti, 1968) and even more so to those of potato mop-top virus (Harrison, 1974). Both PCV and potato mop-top virus give only a local infection; a single lesion may spread over half a leaf, but never to the whole plant.

However, PCV differs in particle dimensions from these and the other viruses listed above, moreover, broad bean necrosis and potato mop-top viruses have optimal temperatures for multiplication of 15 °C whereas that for PCV is 35 °C. Finally, we found no serological relationship between PCV and tobacco rattle, pea early-browning or soil-borne wheat mosaic viruses or a virus associated with a rhizomania-like disease of beet. With tobacco rattle (Harrison, 1970), pea early browning (Harrison, 1973) and soil-borne wheat mosaic viruses (Gumpf, 1971), infectivity is associated with the long particles, though with the two tobnaviruses both components are necessary for production of nucleoprotein particles. For the time being it seems impossible to test the infectivity of each PCV component because of the very small quantity of virus found, in *C. amaranticolor*, and because the virus aggregates during purification. However identification of the vector should allow PCV to be classified with more confidence than at present.

Part of this work was supported by IHRO (M. Dollet). The authors acknowledge Dr M. Bossenec (INRA, Versailles) for his help with electron microscopy, Aho Kouakou and Oulaye Gaston for technical assistance, and Claire Fauquet for translation into English and typing. For giving us antisera to the following viruses we thank Drs R. Casper, B. D. Harrison and D. Z. Maat (tobacco rattle virus strains). Drs B. D. Harrison and D. Z. Maat (pea early-browning virus strains), Dr T. Tsuchizaki (soil-borne wheat mosaic virus) and Dr C. Putz (virus associated with rhizomania-like disease). We thank Drs C. Putz, A. Van Kammen, A. Vuittenez and B. D. Harrison for helpful discussions, and Professor L. Hirth for his suggestions during the course of this work and in the criticism of this manuscript.

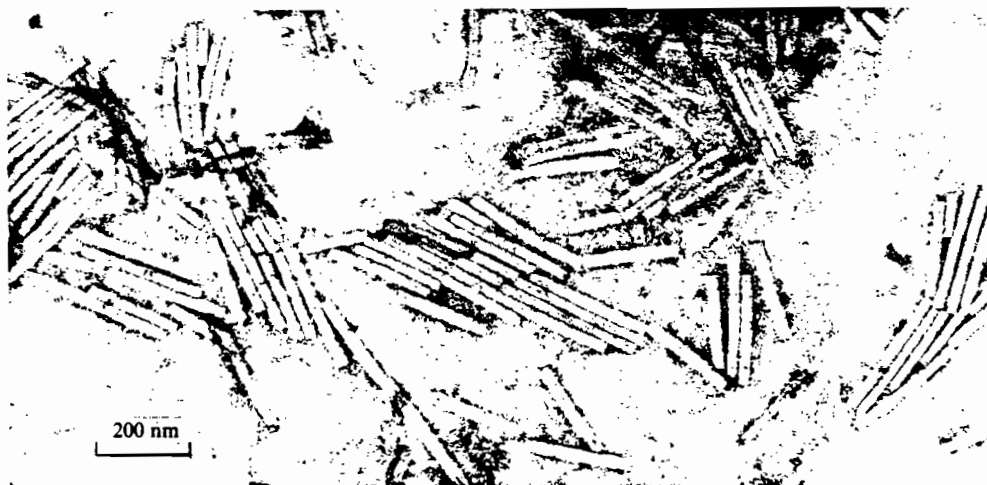
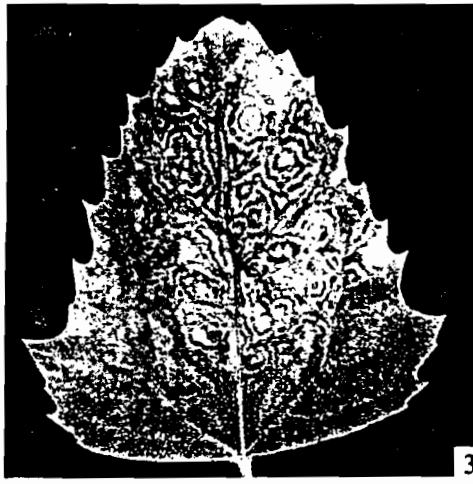
REFERENCES

- BOUHOT, D. (1967). Observations sur quelques affections des plantes cultivées au Sénégal. *Agronomie tropicale* **22**, 888-890.
- BRAKKE, M. K. (1971). Soil-borne wheat mosaic virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses* no. 77, 4 pp.
- GERMANI, G. & DHERY, M. (1973). Observations at expérimentations concernant le rôle des nématodes dans 2 affections de l'arachide en Haute-Volta: la chlorose et le clump. *Oléagineux* **28**, 235-242.
- GERMANI, C., THOUVENEL, J.-C. & DHERY, M. (1975). Le rabougrissement de l'arachide: une maladie à virus au Sénégal et en Haute-Volta. *Oléagineux* **30**, 259-266.
- GUMPF, D. J. (1971). Purification and properties of soil-borne wheat mosaic virus. *Virology* **43**, 588-596.
- HARRISON, B. D. (1970). Tobacco rattle virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses* no. 12, 4 pp.
- HARRISON, B. D. (1973). Pea early-browning virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses* no. 120, 4 pp.
- HARRISON, B. D. (1974). Potato mop-top virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses* no. 138, 4 pp.
- HITCHBORN, J. M. & HILLS, G. J. (1965). The use of negative staining in the electron microscopy examination of plant viruses in crude extracts. *Virology* **27**, 528-540.
- INOUE, T. & ASATANI, M. (1968). Broad-bean necrosis virus. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* **34**, 317-322.

- LAYNE, E. (1954). Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. In *Methods in Enzymology* 3, pp. 447-454. Eds. S. P. Colowick & N. O. Kaplan. New York: Academic Press.
- PUTZ, C. & VUITTENEZ, A. (1974). Observations de particules chez des betteraves présentant, en Alsace, des symptômes de 'Rhizomanie' *Annales de Phytopathologie* 6, 129-138.
- SMOOKLER, M. M. (1971). Properties of inhibitors of plant virus infection occurring in the leaves of species in the Chenopodiales. *Annals of Applied Biology* 69, 157-168.
- THOUVENEL, J.-C., GERMANI, G. & PFEIFFER, P. (1974). Preuve de l'origine virale du rabougrissement ou clump de l'arachide en Haute-Volta et au Sénégal. *Comptes-rendus hebdomadaire des séances de l'Académie des Sciences* 278, 2847-2849.
- VAN SLOGTEREN, D. H. M. (1955). Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. *Proceedings of the 2nd Conference on Potato Virus Diseases. Lisse-Wageningen, 1954* pp. 51-54.

EXPLANATION OF PLATE

- Fig. 1. Symptoms of the clump disease of peanut in the field (healthy plant on left).
- Fig. 2. Peanut infected by inoculation with peanut sap (left), and healthy peanut (right).
- Fig. 3. Symptoms of PCV in an inoculated leaf of *C. amaranticolor*.
- Fig. 4. Electron micrograph of purified PCV, stained with uranyl acetate.



J.-C. THOUVENEL, M. DOLLET AND C. FAUQUET

(Facing p. 320)

DOLLET, M., FAUQUET, C. & THOUVENEL, J.-C. (1976). *Sorghum arundinaceum*, a natural host for Peanut Clump Virus in Upper-Volta. Plant Dis. Repr., 60, 1076-1080.

SORGHUM ARUNDINACEUM, A NATURAL HOST OF PEANUT
CLUMP VIRUS IN UPPER-VOLTA

M. Dollet, C. Fauquet, and J. -C. Thouvenel

Laboratoire de Virologie, Office de Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, BP V 51, Abidjan, Côte d'Ivoire.

A part of this work was supported by IRHO (Institut de Recherche sur les Huiles et Oléagineux). Our thanks are expressed to M. Djigma for field assistance in Saria (Upper-Volta), Claire Fauquet for translation, and Professor L. Hirth (Director of IBMC - Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire -, Strasbourg, France) for helpful discussion and manuscript corrections.

Present address of senior author: Laboratoire de Recherches Cytopathologiques, INRA, 30380 St. Christol lez Alès, France.

ABSTRACT

Sorghum arundinaceum (great millet) was found as a symptomless natural host of peanut clump virus (PCV) in Upper-Volta. The PCV was characterized by mechanical transmission on Chenopodium amaranticolor and peanut, physical properties, electron microscope observations, and serology after purification from great millet leaves.

Plant Dis. Repr. 60: 1076-1080.

Peanut clump disease has been observed in two countries only, Upper-Volta and Senegal (3, 6), which are 2,000 km apart. A study of peanut clump virus (PCV), discovered in Upper-Volta, enabled us to determine some of its physico-chemical characters and its serological properties, and to establish that it was a new two-components rod-shaped virus (5). PCV is soilborne (1), and the disease is recurrent on peanut in spite of a rotation of 6 years without that crop plant (M. Djigma, personal communication). We made a study to find which weeds or cultivated plants might be PCV hosts in contaminated fields.

The present paper reports the results obtained and describes great millet (Sorghum arundinaceum) as a new natural host of PVC.

MATERIALS AND METHODS

Virus and plant sources: Samples of various plants, consisting mainly of whole plants with roots, were collected from fields regularly contaminated by PCV, put into small plastic bags that were kept in an ice-box with ice, and taken to the laboratory as soon as possible.

Test plants and inoculations: To test the possible presence of PCV in the samples, we inoculated from leaves and roots to Chenopodium amaranticolor, a specific host for PCV. Test plants were kept in optimal conditions for PCV multiplication, that is, in a glasshouse where the temperature is 30-35°C and humidity reaches 90%. For inoculations, samples were ground in pH 7.1, 0.1 M potassium phosphate buffer (5 ml/g of tissue) containing 0.02 M cysteine hydrochloride and 2.5 mg/ml bentonite. The sap obtained was rubbed manually on carborundum-dusted leaves and, eventually in case of great millet, on carborundum-dusted roots of uprooted seedlings (2 weeks) which were planted again after inoculation.

Transmission by soil: Some great millet plants (with roots and soil) picked out from the contaminated fields of Upper-Volta were dug up and transplanted to big containers full of sterilized earth. To test the soil transmission, peanut and great millet seeds were sown around the plants of great millet, drawing two circles with a diameter of 20 and 40 cm, respectively. Then, all of the seedlings were tested 1 month later on C. amaranticolor.

Purification: Virus was purified from great millet leaves, frozen for 3 weeks. The purification method was one previously described for the PCV (5). The main steps of the purification were grinding leaves in a meat grinder, clarification of the extract with butanol-chloroform, precipitation with 5% polyethylene glycol (mol weight 20,000), and centrifugations alternatively at low or high speed. A small translucent pellet of purified virus remained, which was resuspended in 0.05 M borate buffer (pH 8) containing 0.001 M EDTA.

Spectrophotometric properties: On a dilution of the resuspended virus, an ultra-violet absorption spectrum was made with spectrophotometer Zeiss PMQ II.

Electron microscopy: One drop of the purified suspension was diluted and put on a formvar-carbon coated grid, rinsed with distilled water, then stained with 0.5% uranyl acetate in 0.05% ammonium acetate buffer pH 7, containing 0.2% EDTA. Micrographs were taken with a Siemens Elmiskop 1 A, at a magnification of 40,000. Length measurements were made on prints with a final magnification of 120,000.

Serology: Serological tests were made, by using the microprecipitin technique, under paraffin oil in petri dishes (4). The antiserum used was prepared in the laboratory with PCV collected from peanut and propagated on C. amaranticolor (5), with a titer 1/2,048.

RESULTS

Results of inoculations: Fragments of leaves and roots of the following plants were tested: Gossypium hirsutum (cotton), Pennisetum typhoides (pearl-millet), Sorghum arundinaceum (great millet), Vigna unguiculata (cowpea), and Zea mays (corn).

Cowpea showed symptoms of mottle and mosaic. Great millet plants were chosen from plants with a very slight yellow stripe, nearly symptomless (Fig. 1). The other plants showed no specific symptom.

We also tested weeds; among the most frequent were: Cyperus sp., Digitaria sp., and unidentified Leguminosae. They showed no particular symptom.

Only C. amaranticolor inoculated from great millet leaves developed ringspots and line-patterns specific of PCV (Fig. 2) 6 days after inoculation. Extracts of great millet roots did not infect C. amaranticolor,

Transmission by soil: All peanuts grown in the containers were affected. All great millet seedlings appeared without symptom after 1 month, but when tested on C. amaranticolor they reacted positively.

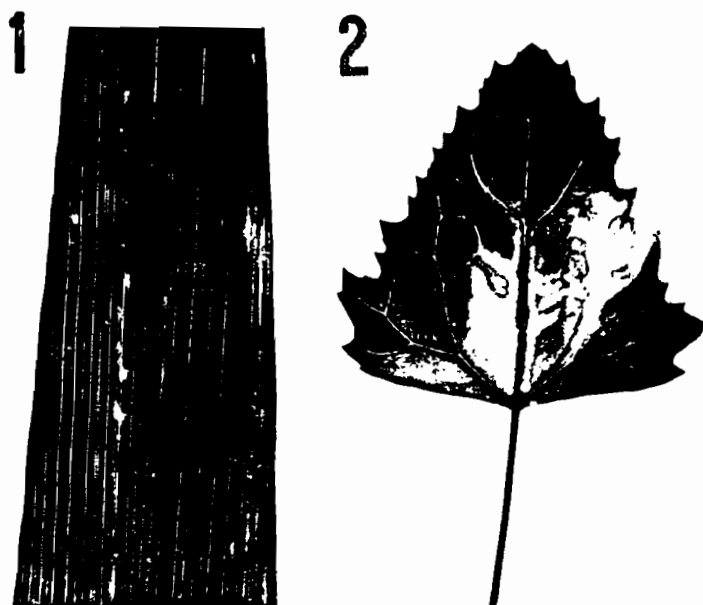


FIGURE 1. Light yellow stripes, symptoms of virus disease on leaf of great millet.

FIGURE 2. Symptoms produced by virus which was isolated from great millet, on Chenopodium amaranticolor leaf.



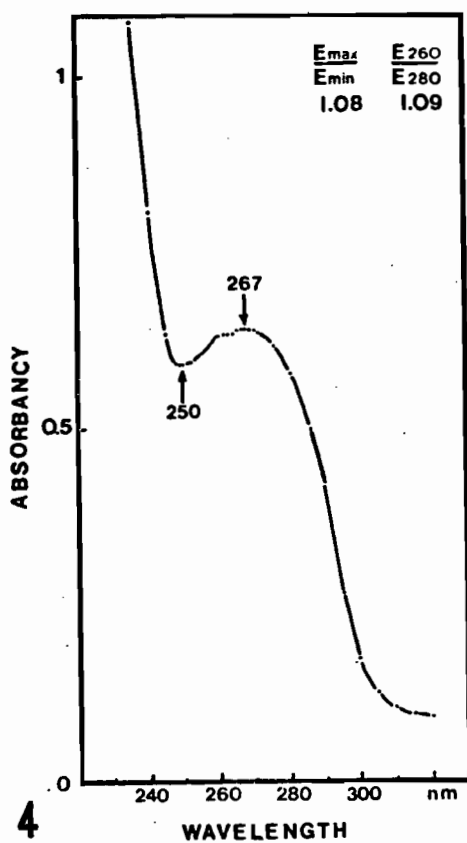
FIGURE 3. Electron microscopy of viral particles isolated from great millet, after staining with uranyl acetate 0.5% (G = approximately 30,000).

Characteristics of virus purified from *S. arundinaceum*: Leaves of great millet seedlings grown in the containers were collected and used for purification. The yield was about 1 mg/kg of great millet leaves.

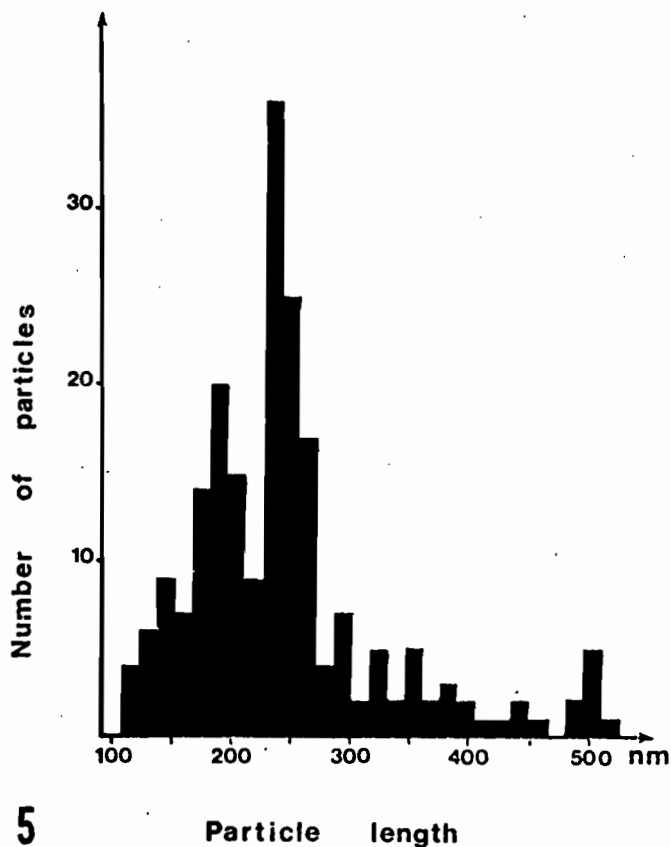
Purified virus inoculated on *C. amaranticolor* leaves caused the specific ringspots of PCV; when it was inoculated on peanut seedlings, it caused symptoms of clump disease. The purified virus was inoculated on the leaves of 100 great millet seedlings and on the roots of 36 great millet seedlings. One month later, all of the seedlings were tested on *C. amaranticolor*. None of the 100 millet plants that were leaf-inoculated became infected, whereas 5 of 36 root-inoculated plants became infected.

The absorption spectrum of virus purified from *Sorghum arundinaceum* reached a maximum at 267 nm and a minimum at 250 nm, with a ratio maximum/minimum = 1.08, and $E_{260}/E_{280} = 1.09$ (values not corrected for light scattering). Those values correspond exactly to values found for PCV (Fig. 4).

Rod-shaped particles appear with an electron microscope observation of the virus suspension purified from great millet (Fig. 3). Particles are of two different lengths: 190 ± 20 nm and 250 ± 20 nm. Their width is about 20 nm (Fig. 5). These dimensions are similar to those of PCV (5).



4



5

FIGURE 4. The ultra-violet absorption spectrum of virus purified from great millet.
 FIGURE 5. Length distribution of particles from purified viral suspension, observed by electron microscopy.

This purified suspension reacts with antiserum to PCV up to a dilution of 1/2,048, just as does the PCV strain isolated from peanut.

DISCUSSION

Among weeds and cultivated plants grown in contaminated fields in Upper-Volta, only the great millet contained a virus that reacted positively on *C. amaranticolor* and developed the characteristic symptoms of PCV. It was possible to infect great millet and peanut seedlings naturally by propagating them in contaminated soil.

The quantity of virus purified from these newly infected great millet is very small (1 mg/kg), but nevertheless indicates that there is a low multiplication in the great millet. Although difficult, it is possible to infect great millet mechanically, when roots are inoculated with purified virus.

The symptoms on *C. amaranticolor* or on peanuts inoculated with virus purified from great millet were characteristic of PCV. Moreover, all of the properties of this virus purified from great millet, namely spectrophotometric values and existence of two particle lengths, correspond to the properties of PCV (5).

Finally, the positive reaction to PCV antiserum proves that the virus isolated from great millet is PCV.

These results confirm observations made by Delassus (2), who noticed an increase in peanut clump disease after great millet culture. We can report that great millet was grown every 2 years on sites where peanut clump disease remained, although no peanuts had been grown for 6 years at the same sites.

Literature Cited

1. BOUHOT, D., and A. MALLAMAIRE. 1965. Les principales maladies des plantes cultivées au Sénégal. Imp. Afric. Dakar. 2 tomes. 291 and 150 pp.
 2. DELASSUS, M. 1967. Étude phytosanitaires sur l'Arachide et les céréales alimentaires au Sénégal. Agron. Trop. 22: 1227-1234.
 3. GERMANI, G., J. -C. THOUVENEL, and M. DHERY. 1975. Le rabougrissement de l'arachide; une maladie à virus au Sénégal et en Haute-Volta. Oléagineux 30: 258-266.
 4. SLOGTEREN, D. H. M. van. 1954. Serological microreactions with plant viruses under paraffin oil. Proc. 2nd Conf. on Potato Virus Diseases. Lisse-Wageningen. pp. 51-54.
 5. THOUVENEL, J. -C., M. DOLLET, and C. FAUQUET. 1976. Some properties of peanut clump, a newly discovered virus. Ann. Appl. Biol. 84: (In press).
 6. THOUVENEL, J. -C., G. GERMANI, and P. PFEIFFER. 1974. Preuve de l'origine virale du rabougrissement ou "clump" de l'arachide en Haute-Volta et au Sénégal. Comptes Rendus l'Acad. Sci., Paris 278: 2847-2849.
-

PEANUT CLUMP VIRUS

Peanut clump virus R/1:2.1/4:E/E:S/C, Ve/Fu, (tobamovirus group).

Described by Thouvenel, Germani & Pfeiffer (1974) and Thouvenel, Dollet & Fauquet (1976).

A virus with straight tubular particles of two lengths, containing single-stranded RNA. It is mechanically transmissible and has a relatively wide host range. It is seed-borne and soil-borne, and the fungus *Polymyxa graminis* is thought to be its vector. Found in West Africa.

MAIN DISEASES: The common strain causes stunting ('clump') in groundnut (*Arachis hypogaea*); naturally infected groundnuts are patchily distributed in crops. A yellowing strain found in Upper-Volta (J. C. Thouvenel & C. Fauquet, unpublished results) causes concentric yellow line-patterns in old leaves but no stunting. Great millet (*Sorghum arundinaceum*) is a symptomless natural host (Dollet, Fauquet & Thouvenel, 1976).

GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION: Found in West Africa (Ivory Coast, Senegal, Upper Volta).

HOST RANGE AND SYMPTOMATOLOGY: Infects several species in the families Aizoaceae, Amaranthaceae, Chenopodiaceae, Cucurbitaceae, Gramineae, Leguminosae, Scrophulariaceae and Solanaceae. Mechanical transmission is difficult from *Arachis hypogaea* and *Chenopodium amaranticolor* because of inhibitors in the sap; purified preparations may be needed to obtain good transmission (Thouvenel & Fauquet, 1981). Typical symptoms are ringspots and line-patterns, and stunting of the plant.

Diagnostic species

Arachis hypogaea (groundnut). No local symptom, but mottle and chlorotic ringspots appear on new tip leaves 7-10 days after inoculation; these symptoms rapidly fade, then disappear when the leaves mature. The plant then stops growing and looks stunted (Fig. 1). With the yellow strain, mottle and chlorotic ringspots appear on new tip leaves and persist, the yellow colour becoming more prominent.

Chenopodium amaranticolor. Local yellow spots 2 days after inoculation, developing later into ringspots and line-patterns which extend along the veins (Fig. 2). Not systemic.

Nicotiana benthamiana. Systemic mosaic and deformation (Fig. 3).

Nicotiana glutinosa. Systemic mosaic.

Phaseolus vulgaris (bean). Systemic mosaic.

Triticum aestivum (wheat). Systemic mosaic and stunting (Fig. 4).

Propagation species

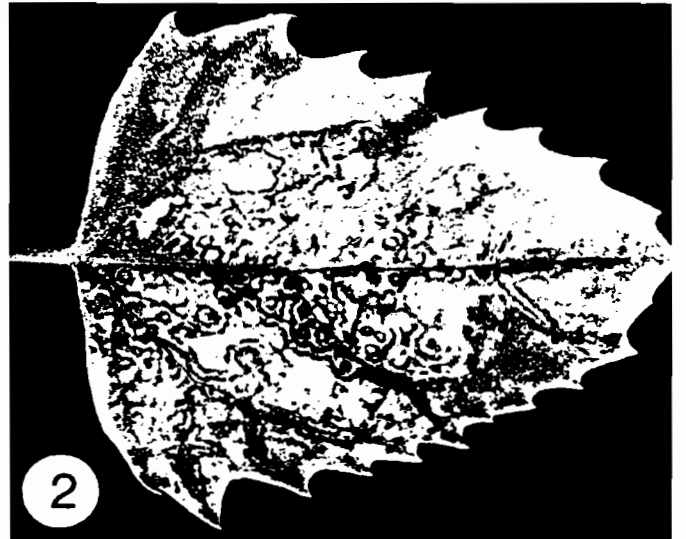
Nicotiana benthamiana and *Phaseolus vulgaris* are good sources of virus.

Assay species

Chenopodium amaranticolor is a useful local lesion host; *Sorghum arundinaceum* is suitable for testing transmission to roots by vectors.

STRAINS: Most isolates of the virus from Senegal and Upper Volta differ little. An exceptional strain from Upper Volta causes yellowing symptoms in groundnut, completely different from the stunting induced by common strains, but its other properties are similar to those of the common strain and they are serologically indistinguishable.

TRANSMISSION BY VECTORS: The virus is thought to be transmitted by a plasmodiophoromycete fungus to graminaceous hosts and to groundnut. The infectivity of soil was related to the presence of *Polymyxa graminis*, resting spores of which were detected readily in roots of *Sorghum arundinaceum* bait plants that became infected with the virus (Fig. 5) (Thouvenel & Fauquet, 1980; 1981).



TRANSMISSION THROUGH SEED: Seed transmission is known only in groundnut (5-6%). Seeds collected from the diseased plants thus obtained (second generation seeds) produced c. 20% of diseased seedlings (Thouvenel, Fauquet & Lamy, 1978; Thouvenel & Fauquet, 1981).

SEROLOGY: Highly immunogenic. Antiserum with a titre of 1/2048 in microprecipitin tests can be obtained.

RELATIONSHIPS: Peanut clump virus resembles other rod-shaped viruses with known or suspected fungus vectors, such as beet necrotic yellow vein, potato mop-top and wheat soil-borne mosaic viruses, but did not react with antisera to these viruses or to tobacco mosaic, tobacco rattle, pea early-browning or nicotiana velutina mosaic viruses (Thouvenel *et al.*, 1976; Thouvenel & Fauquet, 1981); antiserum to peanut clump virus did not react with barley stripe mosaic or tobacco mosaic viruses (Thouvenel & Fauquet, 1981). D. V. R. Reddy (personal communication) found no reaction between a virus associated with a 'clump' disease of groundnut in India and antiserum to peanut clump virus.

STABILITY IN SAP: In *C. amaranticolor* sap the thermal inactivation point (10 min) is 64°C, and the dilution end-point 10⁴. Infectivity is retained for 4 weeks at 27°C, and for more than a year in frozen sap or frozen leaves (Thouvenel *et al.*, 1976).

PURIFICATION: Grind frozen leaves in 0.5 M borate buffer (pH 8) containing reducing agents, and clarify the extract with butanol/chloroform (Thouvenel *et al.*, 1976), or by acidification to pH 4.2 (Thouvenel, Fauquet & Dollet, 1978). Concentrate the virus particles by 2 or 3 cycles of differential centrifugation, resuspending the high speed pellets in 0.05 M borate buffer (pH 8). Additional purification can be obtained by isopycnic centrifugation in 45% CsCl. About 20-25 mg of virus may be obtained from 1 kg leaves.

PROPERTIES OF PARTICLES: The particles sediment as two components, with sedimentation coefficients (*s*_{20,w}) of 183 and 224 S. There is no information about the infectivity of the two types of particle.

Isoelectric point: pH 6.45 ± 0.10.

*A*_{min} : 249 nm; *A*_{max} : 270 nm (corrected for light-scattering).

*A*₂₆₀/*A*₂₈₀ = 1.00; *A*₂₇₀/*A*₂₄₉ = 1.32.

Buoyant density in CsCl is about 1.32 g/cm³ (Thouvenel & Fauquet, 1981).

PARTICLE STRUCTURE: Particles are straight rods, helically constructed with a hollow core. They are about 21 nm wide and of two predominant lengths: 190 and 245 nm (Fig. 6) (Thouvenel *et al.*, 1976). The length distribution of the short particles is broad, and in some preparations an additional class of 160 nm particles is recognizable.

PARTICLE COMPOSITION:

Nucleic acid: RNA, single-stranded (determined by nuclease digestion), comprising about 4% of the weight of the particles (estimated from the absorption spectrum). In most RNA preparations, polyacrylamide gel electrophoresis reveals two components with estimated M. Wt of about 1.7 × 10⁶ and 2.1 × 10⁶. In a few preparations, the smaller component can be resolved into 2 or 3 components (M. Wt 1.65–1.75 × 10⁶) (J. C. Thouvenel & C. Fauquet, unpublished results).

Protein: Electrophoresis of coat protein preparations in polyacrylamide gels reveals one polypeptide of M. Wt c. 23,000. Subunits have the following amino acid composition: asp 27 residues, thr 8; ser 13; glu 25; pro 12; gly 26; ala 21; cys ?; val 20; met 0; ile 11; leu 18; tyr 5; phe 7; his 5; lys 7; arg 19; trp ?; total 224 residues + cys + trp (J. C. Thouvenel & C. Fauquet, unpublished results).

RELATIONS WITH CELLS AND TISSUES: The virus is found in the cells of roots, stems and leaves of systemically infected graminaceous plants. Virus particles in wheat cells are found in the cytoplasm, near the nucleus or along the plasmalemma, and arranged in angled-layer aggregates (M. Dollet, personal communication).

Fig. 1 Symptoms of the clump disease of groundnut in the field.

Fig. 2 Symptoms in an inoculated leaf of *Chenopodium amaranticolor*.

Fig. 3 Systemic symptoms in *Nicotiana benthamiana*.

Fig. 4 Systemic symptoms in *Triticum aestivum* infected by mechanical inoculation (left); healthy plant (right).

Fig. 5 Resting spores of *Polymyxa graminis* in *Sorghum arundinaceum* roots.

Fig. 6 Electron micrograph of purified virus particles, stained with uranyl acetate. Bar represents 200 nm.

NOTES: The closest affinities of peanut clump virus are with beet necrotic yellow vein, broad bean necrosis, potato mop-top and soil-borne wheat mosaic viruses; it differs from all four in infecting *Phaseolus vulgaris* systemically. It is distinguishable from all other viruses of groundnut by its particle morphology, its antigenic specificity, its characteristic symptoms in *C. amaranticolor* and its wide host range (when inoculated in the form of purified virus). Clump disease is controlled by treating the soil with the fumigant nematicides dibromochlorophenol or DD, which may also have a fungicidal action (Germani, Thouvenel & Dhery, 1975). It is not controlled by the use of systemic nematicides.

REFERENCES: Dollet, Fauquet & Thouvenel, *Pl. Dis. Rept.* **60**: 1076, 1976; Germani, Thouvenel & Dhéry, *Oléagineux* **30**: 259, 1975; Thouvenel & Fauquet, *Pl. Dis.* **64**: 957, 1980; Thouvenel & Fauquet, *Ann. appl. Biol.* **97**: 99, 1981; Thouvenel, Germani & Pfeiffer, *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris* **278**: 2847, 1974; Thouvenel, Dollet & Fauquet, *Ann. appl. Biol.* **84**: 311, 1976; Thouvenel, Fauquet & Dollet, *Annls Phytopath.* **10**: 93, 1978; Thouvenel, Fauquet & Lamy, *Oléagineux* **33**: 503, 1978.

J.-C. Thouvenel
C. Fauquet
Laboratoire de Virologie
Centre ORSTOM d'Adiopodoumé
B.P. V-51 Abidjan
Côte d'Ivoire.

Issued jointly by the Commonwealth Mycological Institute, Ferry Lane, Kew, Surrey, England
and the Association of Applied Biologists.

Printed by the Holywell Press Ltd., Oxford

Transmission par la graine du virus du « clump » de l'arachide

J.-C. THOUVENEL (1), C. FAUQUET (1) et D. LAMY (1)

Résumé. — Le clump, maladie virale de l'arachide, se transmet par la graine à un taux pouvant atteindre 24 p. 100 dans le cas de plantes inoculées artificiellement et à un taux variable, de 4 à 14 p. 100, dans les conditions naturelles.

INTRODUCTION

Le clump de l'arachide est une maladie connue en Afrique depuis plus de cinquante ans [Trochain, 1931]. Nous avons montré que cette maladie était due à un virus transmis par le sol [Thouvenel *et al.*, 1976], et les essais en champs menés par l'I. R. H. O. et l'O. R. S. T. O. M. ont montré que la maladie pouvait être prévenue en traitant le sol par des produits chimiques [Germani et Dhery, 1973; Dhery *et al.*, 1975]. Les recherches se poursuivent à l'heure actuelle pour identifier le vecteur qui, selon toutes probabilités, est un champignon du sol de l'ordre des Plasmodiophorales.

Il nous a paru étonnant lors de l'étude de cette maladie de constater sa présence en des endroits très localisés mais très éloignés les uns des autres : entre autres Bambey au Sénégal [Bouhot, 1967], Saria en Haute-Volta [Germani et Dhery, 1973], Bouaké en Côte-d'Ivoire [Portères et Legleu, 1937]. Par ailleurs, en plusieurs occasions, les graines issues de plants inoculés au laboratoire ont produit des plants malades. Ceci nous a amené à envisager la possibilité d'une transmission par la graine : le présent article démontre ce type de transmission.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Origine des gousses.

Les gousses utilisées sont de deux origines :

1) Elles sont issues de plants d'arachide malades après avoir été inoculés mécaniquement par une suspension de virus. Ces plants ont été cultivés en serre, dans des pots contenant de la terre préalablement stérilisée par passage à l'étuve, afin d'éliminer la possibilité d'une contamination par le vecteur.

2) Elles ont été récoltées en champs à partir de plants d'arachide naturellement contaminés. Il est à envisager dans ce cas que la terre souillant la gousse contient le vecteur, et qu'elle risque de transmettre la maladie.

Préparation des graines et semis.

Dans tous les cas, sauf pour les graines en provenance du Sénégal qui nous sont parvenues déjà épluchées, les gousses ont été nettoyées comme suit : elles sont bien lavées à l'eau contenant un peu de détergent, trempées pendant plusieurs minutes dans une solution à 2 p. 100 d'hypochlorite de sodium puis rincées abondamment à l'eau. Les gousses sont alors

séchées pendant 24 h avant d'être épluchées. Les gousses vidées, leurs enveloppes sont conservées et mélangées à de la terre stérile ; des graines d'arachide saines y sont semées pour contrôler l'absence de contamination par le vecteur.

Les graines à tester sont plantées dans de la terre stérile à raison de 5 graines par pot (diamètre 18 cm) et conservées en serre (température moyenne 28 °C, humidité relative 90 p. 100), à l'abri des insectes. Deux semaines plus tard, les plantules en pot sont transférées dans une serre vitrée où la température diurne varie de 35 à 38 °C, ceci pour favoriser l'extériorisation des symptômes de la virose.

Contrôle des plantes.

Les observations sont faites de 8 à 10 semaines après le semis. Toutes les arachides semblant présenter des symptômes de clump sont contrôlées une à une. Pour cela, une ou plusieurs feuilles sont broyées dans un mortier en présence de tampon borate de potassium 0,05 M, pH 8,2 (1 ml/g de feuille), et le broyat obtenu est inoculé sur les feuilles d'un *Chenopodium amaranticolor*, préalablement saupoudrées de carborundum. Dans le cas où l'arachide est malade, on peut observer 3 jours plus tard des symptômes typiques de spots annulaires concentriques et d'arabesques sur les feuilles de *C. amaranticolor* inoculées [Thouvenel *et al.*, 1976].

RÉSULTATS

Graines provenant de pieds d'arachide inoculés mécaniquement.

Après avoir été récoltées, les graines ont été conservées 1 mois à une température de 25 °C. Les résultats figurent dans la première ligne du tableau I. Le taux de transmission est de 24 p. 100.

Graines récoltées en champs à Saria (Haute-Volta).

Les gousses ont été récoltées, séchées, et les graines ont été plantées 1 mois plus tard. Les résultats figurent dans la deuxième ligne du tableau I. Le taux de transmission est de l'ordre de 4 p. 100. Le contrôle effectué en plantant des graines dans de la terre contenant les gousses vidées a été négatif ; aucune arachide n'a montré de symptômes de clump.

Graines récoltées en champs à Bambey (Sénégal).

Les gousses ont été récoltées, séchées, et les graines ont été plantées 2 mois plus tard. Pour chacune des 2 variétés testées, un certain nombre de graines

(1) Laboratoire de Virologie de l'O. R. S. T. O. M., Adlopodoumé B. P. V-51, Abidjan (Côte-d'Ivoire).

TABLEAU I. — Résultat des expériences de transmission du virus du clump de l'arachide par la graine

Origine	Graines		p. 100 de germination	Plantes malades	p. 100 de transmission
	semées	germées			
Serre cv. TE 3	54	50	92,5	12	24,0
Haute-Volta	757	607	80,2	26	4,3
Sénégal cv. 59-157 sain	109	98	89,9	0	0
Sénégal cv. 59-157 clumpé	28	21	75,0	3	14,3 (*)
Sénégal cv. 73-33 sain	563	473	84,0	0	0
Sénégal cv. 73-33 clumpé	156	133	85,2	18	13,5

(*) Pourcentage donné à titre indicatif, ayant été calculé avec un très petit nombre de plantes.

TABLEAU II

Transmission du virus du clump de l'arachide à partir de six couples de pieds d'arachides malades (récoltés au Sénégal)

	Lots					
	A	B	C	D	E	F
Graines semées.....	15	23	33	28	17	40
Graines germées.....	15	13	29	26	13	37
Plantes malades.....	3	2	2	0	1	10

provenant de pieds sains ont été plantées afin de comparer les pouvoirs germinatifs. Les résultats sont dans les 4 dernières lignes du tableau I. Le tableau II donne les résultats pour la variété 73-33 en considérant 6 couples de pieds malades récoltés individuellement. Le taux de transmission est d'environ 14 p. 100.

CONCLUSIONS

La comparaison du pouvoir germinatif des graines provenant de pieds d'arachide clumpés avec celui des graines provenant de pieds d'arachides sains, dans les conditions de l'expérience, ne montre aucune différence (84 et 85 p. 100 pour le cultivar 73-33). Comme cela avait déjà été observé [Germani et Dhery, 1973], le clump n'influe pas sur le pouvoir germinatif.

Les résultats du tableau montrent indubitablement la transmission par la graine du virus du clump de l'arachide, et à un taux important (de 4 à 14 p. 100 dans les conditions naturelles). De plus les résultats obtenus avec les couples de pieds individualisés montrent que cette transmission se fait de manière homogène sur l'ensemble des pieds malades, et pas seulement à partir de certaines plantes bien définies. Il peut sembler étonnant que ce mode de transmission

n'ait pas été remarqué plus tôt, alors que cette maladie est signalée depuis près de 50 ans. Ceci est certainement dû au fait que les arachides malades obtenues à partir de graines en serre, ne montrent que des symptômes atténués et peu visibles. Pour accentuer ces symptômes et obtenir le faciès typique du clump il faut que les plantes soient à une température supérieure à 30 °C au moins pendant la journée car le virus est thermophile [Germani *et al.*, 1975]. Il est évident que l'identification et la caractérisation du virus ont entraîné la mise au point de méthodes de contrôle par inoculation ou par sérologie, ces méthodes permettent de reconnaître les plantes malades de façon certaine, même en l'absence des symptômes caractéristiques.

En dépit du taux assez important de transmission par la graine, cette maladie demeure localisée à certaines régions ; il est donc permis de penser que le facteur limitant l'extension du clump est la présence ou l'absence dans le sol du champignon vecteur. L'élimination des plants malades, dont les symptômes sont caractéristiques, par le planteur suffit à éviter la dissémination de la maladie par la graine.

Les expériences se poursuivent pour évaluer les variations de la transmission dans le temps, et en fonction de la taille de la graine.

Remerciements. — Les auteurs remercient l'I. R. H. O. pour l'aide et le matériel fourni ; ils remercient particulièrement M. Gillier pour l'organisation des missions, M. Roussel pour l'envoi des graines de Haute-Volta et l'I. S. R. A. (Institut sénégalais de la Recherche agronomique) pour l'envoi des graines du Sénégal. Ils sont reconnaissants au Professeur Hirth pour ses critiques et la correction du manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

- BOUHOT D. (1967). — Observations sur quelques affections des plantes cultivées au Sénégal. *Agron. Trop. Nogent*, 22, p. 888-890.
- DHERY M., GERMANI G. et GIARD A. (1975). — Résultats de traitements nématicides contre la chlorose et le rabougrissement de l'arachide en Haute-Volta. *Cah. O. R. S. T. O. M., sér. Biol.*, vol. X, 3, p. 161-167.
- GERMANI G. et DHERY M. (1973). — Observations et expérimentations concernant le rôle des nématodes dans deux affections de l'arachide en Haute-Volta : la « chlorose » et le « clump ». *Oléagineux*, 28, p. 235-242.

- GERMANI G., THOUVENEL J.-C. et DHERY M. (1975). — Le rabougrissement de l'arachide : une maladie à virus au Sénégal et en Haute-Volta. *Oléagineux*, 30, p. 259-266.
- PORTERES R. et LEGLEU R. (1937). — La rosette de l'arachide. Connaissances actuelles, relations avec la date des semis dans le pays du Baoulé-Nord, méthodes prophylactiques à appliquer. *Ann. Agr. Afr. Occ.*, 1, p. 332-355.
- TROCHAIN J. (1931). — La « lépre de l'arachide ». *Rev. Bot. Appl. et d'Agric. Trop.*, 11, p. 330-334.
- THOUVENEL J.-C., DOLLET M. et FAUQUET C. (1976). — Some properties of peanut clump a newly discovered virus. *Ann. appl. Biol.*, 84, p. 311-320.

SUMMARY

Transmission of Groundnut « Clump » Virus by the Seed.
J. C. THOUVENEL, C. FAUQUET and D. LAMY, *Oléagineux*, 1978, 33, N° 10, p. 503-504.

Clump, a viral disease of the groundnut, is transmitted by the seed at a rate which can reach 24 p. 100 in the case of artificially inoculated plants, and at a variable rate — 4 to 14 p. 100 — in natural conditions.

RESUMEN

Transmisión por la semilla del virus de « clump » del maní.
J. C. THOUVENEL, C. FAUQUET y D. LAMY, *Oléagineux*, 1978, 33, N° 10, p. 503-504.

El « clump », que es una virosis del maní, es transmitido por la semilla en un porcentaje que puede llegar a 24 % en caso de inoculación artificial, y en un porcentaje de 4 a 14 % en condiciones naturales.

Polymyxa graminis on New Sorghum Species in Africa

J. C. THOUVENEL and C. FAUQUET, Virologists, Laboratoire de Virologie, Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, B.P. V 51, Abidjan, République de Côte d'Ivoire

ABSTRACT

THOUVENEL, J. C., and C. FAUQUET. 1980. *Polymyxa graminis* on new Sorghum species in Africa. *Plant Disease* 64:957-958.

Polymyxa graminis (Plasmodiophoraceae), a fungus parasitic on the roots of a few species of Gramineae, was found in the roots of great millet (*Sorghum arundinaceum*) in Upper Volta. This is the first report of this fungus in Africa. In inoculated pot tests, six *Sorghum* spp. became infected with *P. graminis* in addition to the previously established hosts, wheat (*Triticum aestivum*), barley (*Hordeum vulgare*), and oats (*Avena sativa*).

Polymyxa graminis Ledingh. is an intracellular root fungus that parasitizes Gramineae and does not produce any external symptom in the host. It may transmit soilborne wheat mosaic (2), oat mosaic (7), and barley yellow mosaic (8). *P. graminis* has been observed in Canada, the United States, New Zealand (9), Japan (8), Italy (4), England and Wales (11), and Brazil (15).

Peanut clump virus is a soilborne pathogen found on peanut (*Arachis hypogaea* L.) (14) and great millet (*Sorghum arundinaceum* (Desv.) Stapf) (6) in Upper Volta and Senegal. During experimental tests for transmission of peanut clump virus in Upper Volta, resting spores similar to those of *P. graminis* were observed in the roots of *S. arundinaceum*. Because *P. graminis* has not been described on *Sorghum* spp. nor reported in Africa, we investigated its importance in Africa.

MATERIALS AND METHODS

A great millet plant and its roots were collected from a field near Saria in Upper Volta. Soil samples were collected from the same area, around peanut seedlings with symptoms of peanut clump virus infection (14). Soil samples were placed in window boxes and seeded to 12 graminaceous species. Seedlings were grown in a greenhouse at 23-30 C.

In some experiments, plants were grown in an artificial medium, vermiculite with KNOP solution (12.5 g each of KNO₃, MgSO₄ · 7H₂O, and KH₂PO₄, and 50.0 g of Ca(NO₃)₂ per liter of solution; diluted 60 times), so that the entire root system could be sampled easily. Roots of *S. arundinaceum* infected with *P. graminis* were used for inoculum and incorporated into the soil or vermiculite.

To stain resting spores, infected roots were boiled for 1 min in lactophenol containing 1 mg/ml of acid fuchsin and then destained and mounted in clear

lactophenol (3). Zoospores released from infected roots into water in 1 hr were collected by a low-speed centrifugation and fixed over vapors of osmium and stained with crystal violet (5). Other stages of development of the fungus were examined after staining by Mazia's method (12).

RESULTS

Clusters of resting spores, characteristic of a fungus in the Plasmodiophoraceae, were observed in the roots of *S. arundinaceum* seedlings collected in the field. The different stages of development of the fungus were observed in roots of *S. arundinaceum* grown in vermiculite. The fungus did not produce external symptoms in the host and was detectable only by microscopic observation of root cells. The fungus occurred in all cortical cells of the roots and rootlets. Immature stages can develop, but cystosori have never been seen in root hairs.

Uni- and multinucleate plasmodia were the first signs of fungus development and were noticed 3-4 days after infection (Fig. 1). A plasmodium could be

differentiated into zoosporangia in 5-6 days or evolve into resting spores in 10-12 days (Figs. 2-4). Zoosporangia formed exit tubes and emitted characteristic biflagellate zoospores. Clusters of resting spores differed considerably in size and shape (Fig. 4). Resting spores were 4-6 μm in diameter, and zoospores were approximately the same size.

Factors that influence development. Experiments were made over 3 yr, and the best months for propagation of the fungus were December and January. In the Ivory Coast during this time, special climatic conditions are caused by a dry wind, the Harmatan. The temperature remains the same throughout the year, but relative humidity is reduced to 40%, whereas it is 80-90% the rest of the year. Growth and development of the fungus were very slow except during December and January.

The best results in propagating the fungus were near pH 7 in the artificial medium. Addition of soil from termite nests with basic pH to the loam used for transmission tests stimulated development of the fungus. Zoospores from cystosori in dried roots stored for 2 yr could still infect young seedlings of great millet.

Host plants. One or more stages of the fungus in soil with infected *S. arundinaceum* roots were observed on the following plant species: *S. arundinaceum*, *S. cernuum* Host., *S. dochna* (Forsk.) Snowden var. *technicum* (Koern.) Snowden, *S. sudanense* Hitchc., *S. verticilliflorum* (Steud.) Stapf, *S. vulgare* Pers., *Avena sativa* L. 'Maris'



Fig. 1. Multinucleate plasmodium of *Polymyxa graminis* in a root cell of great millet (*Sorghum arundinaceum*).



Fig. 2. Meront formation by division of the plasmodium of *Polymyxa graminis*.

Tabard, *Hordeum vulgare* L. 'Alpha' and 'Cape barley,' *Triticum aestivum* L. 'Michigan Amber,' and *T. durum* Desf. 'Agathe' and 3467-7.

DISCUSSION

Polymyxa spp. are characterized especially by resting spores of indefinite size and shape and zoosporangia with one or more discharge tubes. The entire life cycle of the fungus in great millet roots is similar to that of *P. graminis* on wheat (10, 13). Cystosori resting spores and zoospores are the same size. Moreover, the fungus in *S. arundinaceum* can infect wheat and barley, which are the main hosts for *P. graminis*. Oats also are infected (7). We conclude that *P. graminis* is also parasitic and can reproduce on the six *Sorghum* spp. tested. The life cycle of the fungus is completed faster than described by Rao (13). Resting spores could be seen in *Sorghum* in 10-12 days instead of 21-28 days. High ambient temperatures apparently accelerate the growth



Fig. 3. Resting spores of *Polymyxa graminis* in a rootlet of *Sorghum arundinaceum*.



Fig. 4. Variations in size and shape of cystosori from *Polymyxa graminis* in root cells of *Sorghum arundinaceum*.

development processes.

To our knowledge this is the first report of *P. graminis* in Upper Volta and on the African continent. Our results support Karling's suggestion (9) that *P. graminis* might be worldwide in distribution.

Experiments were made near Abidjan in the Ivory Coast, which has a humid, tropical climate. The best season for propagation of the fungus was during the period of lowest relative humidity, when climatic conditions are similar to those in Upper Volta.

The importance of pH that we observed for *P. graminis* was also reported for *P. betae* (1). *P. betae* produced little disease at pH 6 and below, but it was abundant at pH 7 and above.

P. graminis is a vector for several plant viruses. This fungus was found at Saria, a city in Upper Volta. This region (the western African continent) is in the known distribution area of peanut clump, which is incited by a soilborne fungus transmitted by an unknown fungus. Experiments are under way to demonstrate the role of *P. graminis* in the transmission of the peanut clump virus and to identify fungal vectors in other areas where peanut clump virus occurs in Ivory Coast, Senegal, and Upper Volta.

ACKNOWLEDGMENTS

We are indebted to D. J. S. Barr, M. K. Brakke, C. Putz, and D. S. Teakle for providing seeds. We thank B. D. Harrison and L. Hirth for suggestions during this work.

LITERATURE CITED

1. ABE, H. 1974. Factors affecting the rhizomania of sugar-beet. Bull. Hokkaido Prefectural Agric. Exp. Sta. 30:95-102.
2. BRAKKE, M. K. 1971. Soil-borne wheat mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses 77. 4 pp.
3. BRITTON, M. P., and D. P. ROGERS. 1963. *Oplidium brassicea* and *Polymyxa graminis* in roots of creeping bent in golf putting greens. Mycologia 55:758-763.
4. CANOVA, A. 1966. Ricerche sulle malattie da virus delle Graminaceae. III. *Polymyxa graminis* Led. vettore del mosaico del Frumento. Phytopathol. Mediterr. 5:53-58.
5. COTNER, F. B. 1930. Cytological study of the zoospores of *Blastocladia*. Bot. Gaz. 89:295-309.
6. DOLLET, M., C. FAUQUET, and J.-C. THOUVENEL. 1976. *Sorghum arundinaceum*, a natural host of peanut clump virus in Upper Volta. Plant Dis. Rep. 60:1076-1080.
7. HEBERT, T. T., and C. H. PANIZO. 1975. Oat mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses 145. 4 pp.
8. INOUE, T., and Y. SAITO. 1975. Barley yellow mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses 143. 3 pp.
9. KARLING, J. S. 1968. The Plasmodiophorales. Hafner Publishing Co., New York. 256 pp.
10. LEDINGHAM, G. A. 1939. Studies on *Polymyxa graminis*, n. gen. n. sp., a plasmodiophoraceous root parasite of wheat. Can. J. Res. 17:38-51.
11. MacFARLANE, I., J. E. E. JENKINS, and S. C. MELVILLE. 1968. A soil-borne virus of winter oats. Plant Pathol. 17:167-170.
12. MAZIA, D., P. A. BREWER, and M. ALFERT. 1953. The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromphenol blue. Biol. Abstr. (USA) 104:57-67.
13. RAO, A. S. 1968. Biology of *Polymyxa graminis* in relation to soil-borne wheat mosaic virus. Phytopathology 58:1516-1521.
14. THOUVENEL, J.-C., M. DOLLET, and C. FAUQUET. 1976. Some properties of peanut clump, a newly discovered virus. Ann. Appl. Biol. 84:311-320.
15. TOCCHETTO, A. 1974. Record of *Polymyxa graminis* L. on *Triticum aestivum* in Rio Grande do Sul. Agron. Sulriogradense 10:227-231.

Further properties of peanut clump virus and studies on its natural transmission

By J. C. THOUVENEL AND C. FAUQUET

Laboratoire de Virologie, Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer (ORSTOM), B.P. V 51, Abidjan, République de Côte d'Ivoire, Afrique de l'Ouest

(Accepted 12 August 1980)

SUMMARY

Purified preparations of particles of peanut clump virus (PCV) had A_{260}/A_{280} values (corrected for light scattering) of 1.00. They contained rod-shaped particles with sedimentation coefficients of 183 *S* and 224 *S*, and a density in CsCl of 1.32 g/ml. PCV infected 36 species in 8 plant families. No serological relationship was detected between PCV and barley stripe mosaic, beet necrotic yellow vein, *Nicotiana velutina* mosaic and tobacco mosaic viruses.

PCV was seed-borne for two generations in groundnut (*Arachis hypogaea*) but was not seed-borne in great millet (*Sorghum arundinaceum*), *Phaseolus mungo* or *Nicotiana benthamiana*.

Seedlings of groundnut, great millet and wheat (*Triticum aestivum*) became infected when grown in soil from groundnut fields with outbreaks of clump disease, and the infectivity of soil survived air-drying at 25 °C for 3 months. Groundnut seedlings became infected when grown in sterilised soil contaminated with washed roots of naturally-infected *S. arundinaceum* but not in soil to which roots of naturally infected groundnut or shoots of infected groundnut were added, or in which mechanically inoculated groundnut seedlings were grown at the same time. The patchy distribution of PCV in a crop was related to the infectivity of the soil for groundnut and to the presence of *Polymyxa graminis* resting spores which could be detected in the roots of *S. arundinaceum* bait seedlings, but not in those of groundnut.

The results indicate that PCV is transmitted by a vector that is resistant to air-drying and closely associated with *S. arundinaceum* roots. For these reasons *P. graminis* is thought to be the vector of PCV.

INTRODUCTION

Peanut clump virus (PCV) is a virus with rod-shaped particles of two predominant lengths (190 and 245 nm) and causes a disease of groundnut (*Arachis hypogaea*) in Upper-Volta and Senegal (Thouvenel, Germani & Pfeiffer, 1974). Some of the biological and biochemical properties of PCV have been described by Thouvenel, Dollet & Fauquet (1976), including a method of purification by acidification of clarified leaf extracts (Thouvenel, Fauquet & Dollet, 1978).

A natural host (*Sorghum arundinaceum*) of the virus was found in Upper-Volta (Dollet, Fauquet & Thouvenel, 1976), and seed-transmission in groundnut was demonstrated by Thouvenel, Fauquet & Lamy (1978).

In this paper further details are described of the *in vitro* properties of purified PCV particles and of the host range and transmission of the virus in seed and from the soil.

MATERIALS AND METHODS

The virus isolate used was originally obtained from Saria, Upper-Volta, by sap transmission from a clump-affected groundnut plant to *A. hypogaea* cv. TE 3 and *Chenopodium amaranticolor*.

Plants were grown in sterilised soil in glasshouses where the average temperature was 30 °C, but occasionally reached 35 °C. The relative humidity varied from 80 to 98%. PCV was purified from infected *C. amaranticolor* leaves, harvested 5 days after inoculation and stored frozen at -30 °C. The virus was purified by acid clarification of leaf extracts using the method of Thouvenel, Fauquet & Dollet (1978). The host range was determined by inoculating various plant species using purified virus with A_{260} values of 0.1. Symptomless infection was confirmed by back inoculation to the indicator species *C. amaranticolor* or *A. hypogaea* as follows. Frozen leaves were ground (1 g/2 ml) in 0.1 M potassium phosphate buffer pH 7.1 containing 0.02 M cysteine hydrochloride and 2.5 mg/ml bentonite and the extract manually inoculated to Carborundum-dusted leaves of indicator plants.

Virus concentration and ultra-violet absorption spectra were determined with a Beckman model 5230 u.v. spectrophotometer. Corrections for light-scattering were made by the graphical method of Noordam (1973). Absorbance between 320–600 nm was plotted on log/log graph paper. Values for absorbance between 320 and 600 nm gave a linear relationship. Light-scattering was determined by extrapolation between 320 and 230 nm. The values obtained were subtracted from the measured absorbance of PCV preparations.

For equilibrium sedimentation, virus particles were suspended in 4 ml 38% caesium chloride in 0.05 M borate buffer, pH 8. The suspension was centrifuged in a Beckman SW50 rotor at 115 000 g for 18 h. The gradients were collected through a needle from the bottom of each tube in 3 drop fractions (c. 60 μ l). The optical density was determined with 50 μ l of each fraction diluted to 1 ml; the density being calculated from the refractive index, measured with an Abbe refractometer.

For analytical ultracentrifugation, virus preparations were centrifuged in a Beckman model E analytical ultracentrifuge using Schlieren optics.

Antisera to the following viruses were kindly supplied as follows: *Nicotiana velutina* mosaic (B. D. Harrison), beet necrotic yellow vein (C. Putz) and barley stripe mosaic virus (J. G. Atabekov).

RESULTS

Properties of purified PCV

Density in caesium chloride. After equilibrium sedimentation in a caesium chloride gradient, a zone of light-scattering material occurred slightly above the zone produced by a tobacco mosaic virus marker (Text-fig. 1). The virus was very concentrated, but virus particles neither precipitated nor aggregated. In 10 experiments, the average density of the PCV peak was 1.32 ± 0.01 . The average density of the tobacco mosaic virus marker was 1.33 ± 0.01 .

Analytical ultracentrifugation. The Schlieren pattern obtained using preparations of PCV showed three components with sedimentation coefficients ($S_{20,w}$) of 183 S, 224 S and an average of 330 S. The two first peaks corresponded to the two types of PCV particles; the third, very broad peak, corresponding to different types of aggregated particles.

UV absorption spectrum. After correcting for light-scattering, purified PCV had an absorption maximum of 270 nm and a minimum absorption of 249 nm. The ratios, corrected for light-scattering, were: $A_{\max}/A_{\min} = 1.32$ and $A_{260}/A_{280} = 1.00$ (Text-fig. 2).

Host range

It was found previously (Thouvenel, Dollet & Fauquet, 1976) that PCV could not be sap-transmitted from *C. amaranticolor* to groundnut, probably because of the presence of

inhibitors in *C. amaranticolor* sap. Later, it was found that groundnut could be infected by inoculation with virus purified from *C. amaranticolor* (Dollet, Fauquet & Thouvenel, 1976). Accordingly, a range of plant species were then tested with purified PCV. The results (Table 1) showed that 36 species of eight plant families became infected. The host range was wide and included species of *Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cucurbitaceae*, *Gramineae*, *Leguminosae*, *Scrophulariaceae*, and *Solanaceae*.

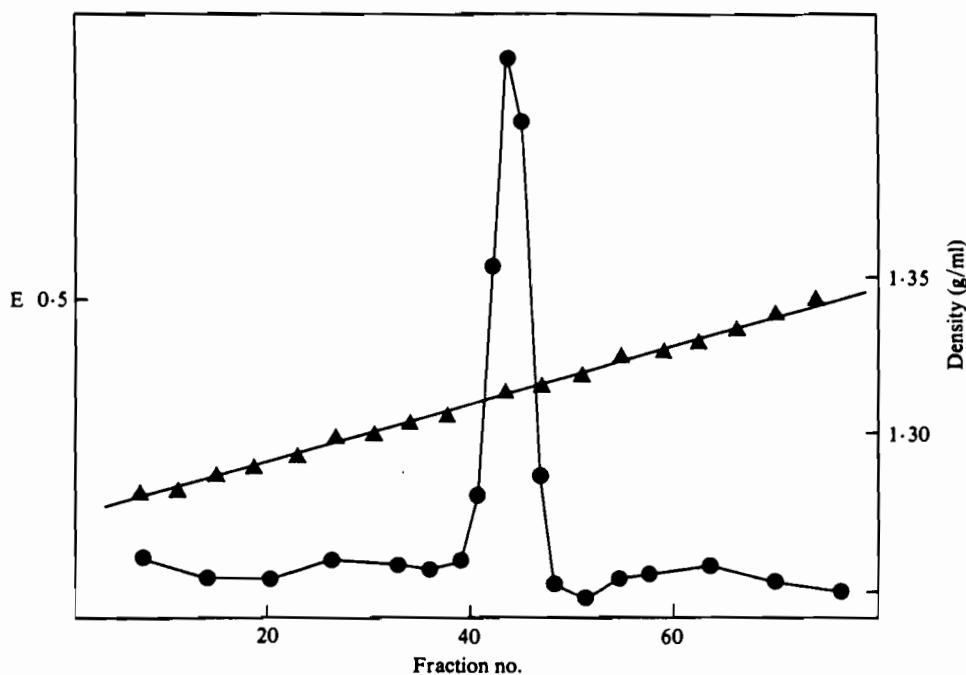


Fig. 1. U.v.-absorption profile at 254 nm (●—●—●) of a caesium gradient. Purified particles of PCV (2 mg) were mixed with the caesium chloride solution, before centrifugation for 18 h at 115 000 *g* in a Beckman SW50 rotor. The density of each fraction (▲—▲—▲) was calculated from its refractive index.

Tests were also made to groundnut cultivars commonly grown in West Africa, using seeds provided by IRHO (Institut de Recherche des Huiles et Oléagineux, and to two cultivars Jumbo and Spanish (Burpee Seeds) from the USA. Plants were infected as follows: cv. TE 3 (4/24), cv. 55 437 (17/22), cv. 57 422 (7/18), cv. 48 115 (14/22), cv. 59 127 (8/15), cv. 28 206 (9/17), cv. 149 A (2/13), cv. Jumbo (5/15) and cv. Spanish (6/26). In all instances the inoculated leaves were symptomless but infected plants became clumped and systemic symptoms, such as chlorotic spots and eye-spots, were observed on the young leaves (Plate, fig. 1).

Serological tests

Serological tests were done using the micro-precipitin technique (Van Slogteren, 1955). There was no reaction between purified preparations of PCV and antisera diluted 1/4 and 1/16 to beet necrotic yellow vein – French strain (homologous titre, 1/1024), *Nicotiana velutina* mosaic (1/512) or tobacco mosaic (1/1024) viruses. There was no reaction between PCV antiserum (titre, 1/2048) and tobacco mosaic and barley stripe mosaic viruses.

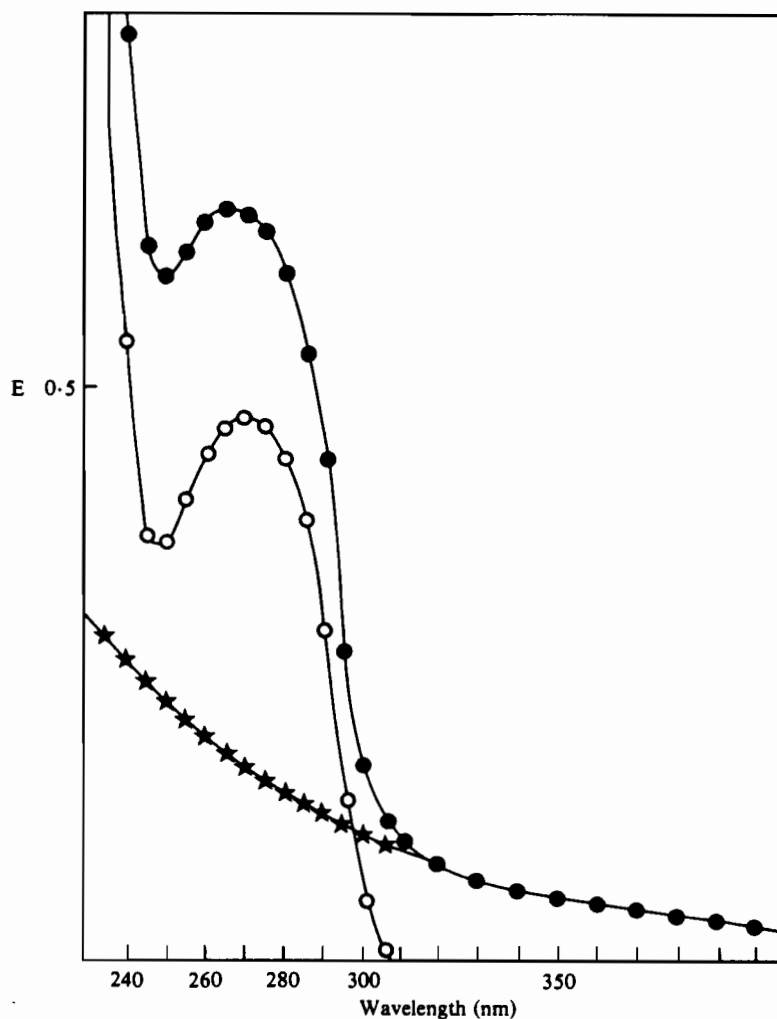


Fig. 2. U.v.-absorption spectrum of purified PCV (0.2 mg/ml) before (●—●—●) and after (○—○—○) correction for light scattering. The calculated correction (★—★—★) is also plotted.

Seed transmission

Clump disease of groundnuts is not common but has been found in widely separated places including Bambey, Senegal (Bouhot, 1967); Saria, Upper-Volta (Germani & Dhéry, 1973) and Bouaké, Ivory Coast (Portères & Legleu, 1937). This suggested that PCV might be seed-transmitted, despite the negative results obtained by Bouhot (1967). Subsequently, it was found to be seed-transmitted at a rate of 24% in seed from artificially infected plants and at a rate of 14% in seed of naturally-infected plants (Thouvenel, Fauquet & Lamy, 1978).

In further tests with other naturally-infected groundnut cultivars an average of 5.9% seed infection was found to occur (Table 2).

Seeds were collected from the diseased plants (second generation seeds) and, of the seedlings tested, 19.2% (34/177) were infected with PCV.

Seed transmission of PCV was not detected in *Sorghum arundinaceum* (0/122), *Phaseolus mungo* (0/150) or *Nicotiana benthamiana* (0/280), using seed harvested and planted in the same conditions as used for groundnut.

Table 1. Species infected by mechanical inoculation with purified PCV

Species	Reaction			
	Inoculated leaves		Non-inoculated leaves	
Aizoaceae				
<i>Tetragonia expansa</i>	Concentric RS	(+)	No symptom	(-)
Amaranthaceae				
<i>Celosia argentea</i>	No symptom	(+)	Mottle	(+)
<i>Gomphrena globosa</i>	Spots	(+)	No symptom	(-)
Chenopodiaceae				
<i>Beta vulgaris</i>	Spots	(+)	No symptom	(-)
<i>C. amaranticolor</i>	Concentric RS	(+)	No symptom	(-)
<i>C. quinoa</i>	Concentric RS	(+)	No symptom	(-)
<i>Spinacia oleracea</i>	Yellowing	(+)	No symptom	(-)
Cucurbitaceae				
<i>Cucumis sativus</i>	Necrotic spots	(+)	No symptom	(-)
<i>Cucurbita pepo</i> var. <i>medullosa</i>	Necrotic spots	(+)	No symptom	(-)
Gramineae				
<i>Bromus arvensis</i>	No symptom	(+)	Slight mottle	(+)
<i>B. commutatus</i>	No symptom	(+)	Slight mottle	(+)
<i>B. macrostachys</i>	No symptom	(+)	Slight mottle	(+)
<i>B. racemosus</i>	No symptom	(+)	Slight mottle	(+)
<i>B. sterilis</i>	No symptom	(+)	Slight mottle	(+)
<i>Sorghum arundinaceum</i>	No symptom	(+)	No symptom	(+)
<i>Triticum aestivum</i>	No symptom	(+)	Stunt and mottle	(+)
<i>T. durum</i>	No symptom	(+)	Stunt and mottle	(+)
Leguminosae				
<i>Arachis hypogaea</i>	No symptom	(+)	RS and clump	(+)
<i>Crotalaria usaramoensis</i>	No symptom	(+)	Mottle and clump	(+)
<i>Lathyrus odoratus</i>	No symptom	(+)	No symptom	(+)
<i>Melilotus alba</i>	No symptom	(+)	No symptom	(+)
<i>Phaseolus mungo</i>	No symptom	(+)	Line pattern	(+)
<i>P. vulgaris</i>	No symptom	(+)	Mosaic	(+)
<i>Vigna sinensis</i> cv. Black	Concentric RS	(+)	No symptom	(-)
<i>V. sesquipedalis</i>	Concentric RS	(+)	No symptom	(-)
<i>Voandzeia subterranea</i>	Concentric RS	(+)	No symptom	(+)
Scrophulariaceae				
<i>Antirrhinum majus</i>	No symptom	(+)	No symptom	(+)
<i>Torenia fournieri</i>	Concentric RS	(+)	Line pattern	(+)
Solanaceae				
<i>Nicotiana benthamiana</i>	No symptom	(+)	Mosaic and clump	(+)
<i>N. clevelandii</i>	No symptom	(+)	Mosaic and clump	(+)
<i>N. clevelandii</i> × <i>N. glutinosa</i>	No symptom	(+)	Mosaic	(+)
<i>N. glutinosa</i>	No symptom	(+)	Mosaic	(+)
<i>N. megalosiphon</i>	Yellow spots	(+)	No symptom	(-)
<i>N. tabacum</i> cv. Samsun	No symptom	(+)	Vein banding	(+)
<i>N. tabacum</i> cv. Samsun NN	No symptom	(+)	Vein banding	(+)
<i>N. tabacum</i> cv. Xanthi-nc	Yellowing	(+)	No symptom	(-)
<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	Yellowing	(+)	No symptom	(-)
<i>Petunia hybrida</i>	No symptom	(+)	Mottle	(+)
<i>Physalis floridana</i>	No symptom	(+)	Mottle	(+)

(+) = virus detected by inoculation of sap to *C. amaranticolor*.

(-) = virus not detected by similar test.

RS = ringspot.

Table 2. *Seed transmission of PCV in groundnut*

Cultivars	Tested 5 months after harvest				Tested 7 months after harvest				Totals			
	% germination	No. of plants		% diseased plants	% germination	No. of plants		% diseased plants	% germination	No. of plants		% diseased plants
		tested	diseased			tested	diseased			tested	diseased	
TE 3	80.5	260	27	10.4	75.4	248	11	4.4	77.9	508	38	7.5
149 A	24.8	82	8	9.8	56.8	197	8	4.1	41.2	279	16	5.7
TS 32-1	68.9	217	5	2.3	69.4	220	11	5.0	69.1	437	16	3.7
KH 241 D	42.7	153	9	5.9	63.1	219	14	6.4	52.8	372	23	6.2
Reported for cv. TE 3 tested 1 month after harvest*									80.2	607	26	4.3
Reported for cv. 73-33 tested 2 months after harvest*									85.2	133	18	13.5
Total for all cultivars									65.2	2336	137	5.9

* Thouvenel, Fauquet & Lamy, 1976.

Soil transmission

Thouvenel, Dollet & Fauquet (1976) confirmed the suggestion made by Germani & Dhéry (1973) that PCV was soil-borne by sowing seeds of healthy groundnut plants in soil in which diseased plants had grown. Subsequently, the groundnut seedlings developed typical symptoms of the disease.

In further experiments, infective field soil from Upper-Volta was sown with groundnut, great millet (*S. arundinaceum*) and wheat (*Triticum aestivum*). After 3 wk, symptoms appeared in groundnut (5/12) and wheat (9/12) plants only. However, crude sap from the leaves of great millet (6/12) induced the typical symptoms of PCV when used to inoculate *C. amaranticolor* plants. The results confirmed that groundnut, great millet and wheat all became infected by sowing them in infective soil. When the seed was sown in sterilised soil as controls, all the seedlings remained virus-free.

In a further experiment in which groundnuts were sown in infective field soil, previously air-dried at 25 °C for 3 months, 8% of the seedlings (5/60) developed clump disease symptoms.

Failure to find nematodes of virus-vector genera such as *Trichodorus* in infective field soil, together with the fact that the soil remained infective after air-drying for 3 months, suggested that the vector was a fungus. When the roots of groundnut and great millet plants from the field were examined for the presence of a fungus by staining with acid fuchsin in lactophenol (Britton & Rogers, 1963), clusters of resting spores similar to those of a plasmodiophoromycete fungus were observed, but only in the great millet roots (Plate, fig. 5). Observations on the different stages of the life cycle of this fungus in culture, particularly the multinucleate plasmodia that develop into sporangia with exit tubes, indicated that it was *Polymyxa graminis* Ledingham (Thouvenel & Fauquet, 1980).

Resting spores of *P. graminis* were also found in roots of *Sorghum cernuum*, *Triticum aestivum* and *T. durum* and all other graminaceous plants grown in infective soil became infected with PCV. In contrast, however, no stage of the life cycle of *P. graminis* was found in groundnut roots.

The frequency of soil transmission of PCV varied at different times of year. It was greatest during the dry windy period (the Harmatan) in December when *P. graminis* grew most abundantly in glasshouse in the Ivory Coast (Thouvenel & Fauquet, 1980). During the other periods of the year, the rate of transmission was low and sometimes transmission was not possible.

To obtain further evidence of the relationship between the clump disease and *P. graminis*, soil samples were taken from the centre, at the edge and outside an area of clump-affected plants of a

Table 3. Relationship between PCV infection of groundnut seedlings and occurrence of *Polymyxa graminis* in soil samples from inside or outside a groundnut clump disease-affected area

Soil sample		Transmission of PCV		Occurrence of <i>P. graminis</i> *
Site of affected area	Depth (cm)	No. plants tested	%	
Centre	0-15	29/89	32.6	+
Centre	15-30	20/94	21.3	+
Edge	0-15	2/76	2.6	+
Edge	15-30	5/106	4.7	-
Outside the area	0-15	0/96	0.0	-
Outside the area	15-30	0/69	0.0	-

* *P. graminis* was detected by growing *Sorghum arundinaceum* seedlings in the soil samples and examining their roots after 6 wk.

crop in Upper-Volta. Groundnut seedlings were planted in the soils and the symptoms which developed in them were recorded. The presence of PCV in plants was confirmed by inoculation of sap to *C. amaranticolor*. Seeds of great millet were sown in the same soil samples and their roots examined for resting spores of *P. graminis* 6 wk later. The results (Table 3) indicated that soil from the centre of the affected area was more infective and contained more *P. graminis* than soil from the edge, whereas soil from outside the area was not infective and did not contain *P. graminis*.

Because *P. graminis* was not found in groundnut roots, the possibility was tested that they contained a vector other than *P. graminis*. Diseased groundnut and great millet seedlings grown in infective soil were removed from the soil and their roots washed copiously in running water for 24 h. The seedlings were then replanted in sterilised soil and seeds of groundnut and great millet were sown in the same soil. PCV was transmitted from diseased great millet to groundnut (3/12 plants) and great millet (10/12 plants), but the virus was not transmitted from diseased groundnut to bait seedlings of groundnut (0/12 plants) or great millet (0/12 plants). *Polymyxa graminis* was found in the roots of all great millet plants that became infected in these tests. In a further test, roots of PCV-infected great millet from the field in Upper-Volta, stored dry at 25 °C for 2 yr, were used to contaminate sterilised soil. None of the great millet seedlings (0/24 plants) when grown in this soil became infected although *P. graminis* was found in their roots.

In contrast to the successful transmission of PCV using washed roots of naturally-infected great millet as the inoculum, no transmission occurred when 24 healthy groundnut plants and 24 groundnut plants infected with PCV by mechanical inoculation were grown in sterilised soil in the same container. In addition, no transmission occurred when groundnut seeds were grown in sterilised soil contaminated with lyophilised and crushed pieces of infected groundnut leaves.

DISCUSSION

In a previous study (Thouvenel, Dollet & Fauquet, 1976), the failure to transmit PCV from *C. amaranticolor* to groundnut was attributed to inhibitors in *C. amaranticolor* sap. This was confirmed in the present investigation, because PCV was transmitted to a wide range of plants, including groundnut, using purified virus as inoculum. In groundnut, the typical field symptoms of clump disease were reproduced. Among the cultivars tested, none was completely resistant but cv. 149 A was more difficult to infect by inoculation than other cultivars. The host range of PCV was extensive and included species of several different families.

PCV had a density in CsCl of 1.32 g/ml, which was slightly lower than that of tobacco mosaic virus particles. This value and those of the sedimentation coefficients (183 *S* and 224 *S*) and u.v. absorption values (A_{max} at 270 nm, and A_{260}/A_{280} of 1.00) corresponded closely with those of barley stripe mosaic virus (Atabekov & Novikov, 1971). However, no serological relationship was found with any previously described rod-shaped virus. PCV was not related to tobamoviruses, tobamoviruses (Thouvenel, Dollet & Fauquet, 1976), barley stripe mosaic virus, beet necrotic yellow vein virus (Putz, 1977), soil-borne wheat mosaic virus or *Nicotiana velutina* mosaic virus. Dr B. D. Harrison found no reaction between PCV antiserum and potato mop-top or *Nicotiana velutina* mosaic viruses (personal communication) and beet necrotic yellow vein virus did not react with PCV antiserum (Putz, 1977).

The results of transmission tests indicated that the natural vector of PCV is *Polymyxa graminis*. This fungus occurs in Upper-Volta and Senegal in the same areas as the groundnut clump disease, and is known to be the vector of other viruses with elongated particles (Brakke, 1971). Our experiments demonstrated a correlation between the presence of *P. graminis* and the spread of PCV, and soil transmission rarely occurred in plants in the glasshouse unless *P. graminis* was also found in the roots of the infected plants. In the few instances where resting spores of *P. graminis* were not observed, the fungus may have occurred in vegetative stages not stained by fuchsin. Alternatively, resting spores may have been so few that they escaped detection.

Although *P. graminis* was not found in groundnut, it is possible that the fungus infected groundnut roots without the fungus developing in the roots. This hypothesis of incomplete development is supported by the fact that groundnut roots that became infected naturally with PCV were unable to provide sources of infection to other plants, whereas comparable roots of great millet were able to do so.

Roots dried for 2 yr did not cause infection, possibly because PCV was inactivated in the roots when preserved in the laboratory in Ivory Coast. However, field observations in Upper-Volta indicated that soil remains infective for over two years in the absence of a crop (Dollet, Fauquet & Thouvenel, 1976). The results of our tests, therefore, may simply reflect the unsuitability of the climatic conditions in the Ivory Coast for transmission of the virus. Experiments were made in the Ivory Coast which has a humid tropical climate, a relatively constant temperature (27 °C \pm 5 °C) and two rainy seasons; whereas Upper-Volta has a large day and night fluctuation in temperature (more than 20 °C) and one rainy season. Clump disease did not develop well at temperatures below 30 °C (Germani, Thouvenel & Dhéry, 1975), whereas *P. graminis* is most active at a lower temperature.

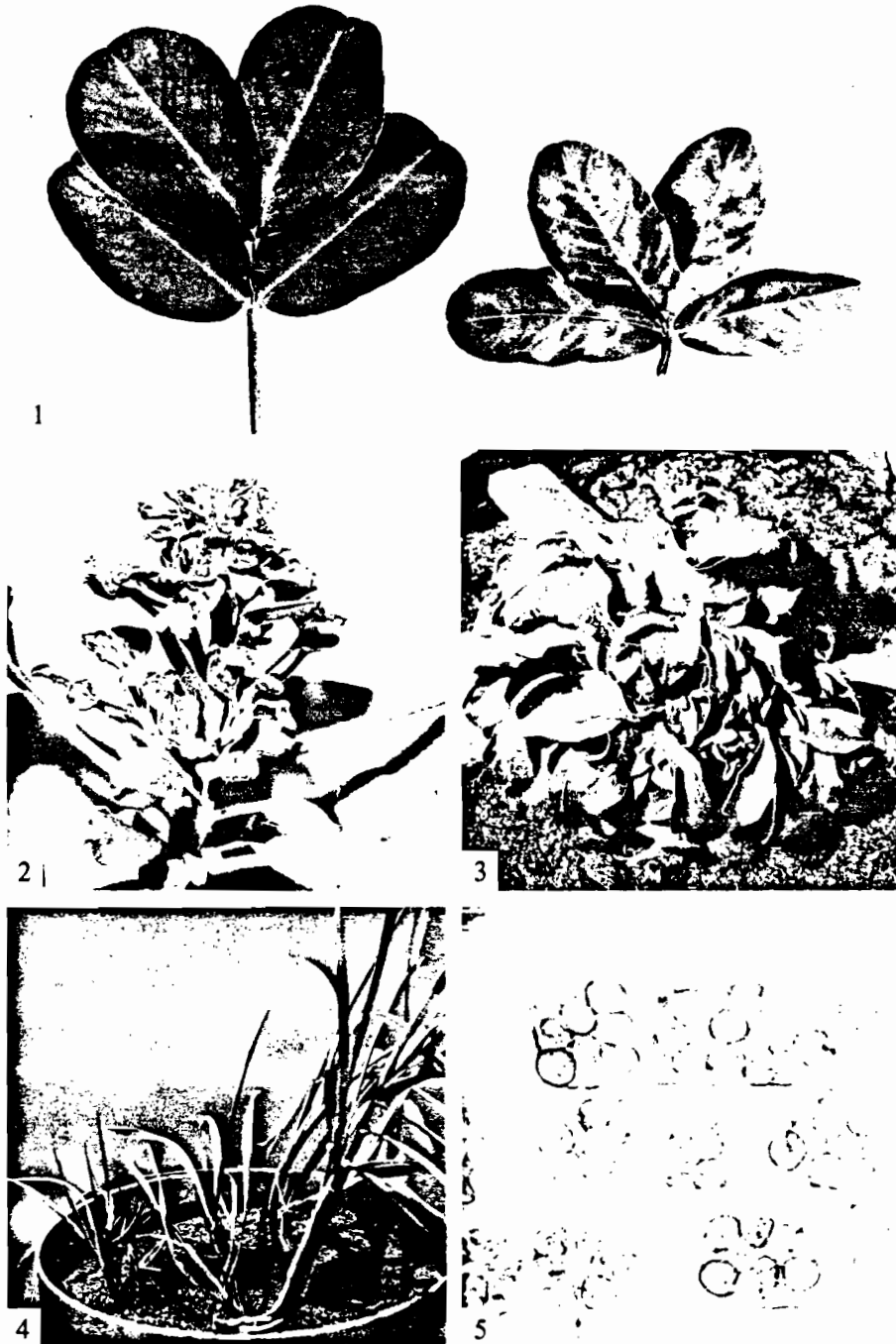
In morphological and physico-chemical properties, PCV differed from other multi-component viruses, and no serological relationship with other viruses was established. Nevertheless, PCV resembled hordeiviruses and *Nicotiana velutina* mosaic virus in its seed transmission, and had the same spectrophotometric properties as barley stripe mosaic virus. PCV, therefore, may be intermediate between hordeivirus and tobamovirus groups.

Further studies on the characterisation of the virus are now in progress.

Thanks are due to various workers for providing samples of antisera and virus and to Dr S. R. Christie and the Institut de Recherche sur les Huiles et Oléagineux (IRHO) for seeds. Thanks are also due to Professor L. Hirth and Dr B. D. Harrison for helpful suggestions.

REFERENCES

- ATABEKOV, J. G. & NOVIKOV, V. K. (1971). Barley stripe mosaic virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses* No. 68, 4 pp.
- BOUHOT, D. (1967). Observations sur quelques affections des plantes cultivées au Sénégal. *Agronomie tropicale, Nogent* 22, 888-890.



J. C. THOUVENEL AND C. FAUQUET

(Facing p. 107)

- BRASSE, M. K. (1971). Soil-borne wheat mosaic virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses* No. 77, 4 pp.
- BRITTON, M. P. & ROGERS, D. P. (1963). *Olpidium brassicae* and *Polymyxa graminis* in roots of creeping bent in golf putting greens. *Mycologia* **55**, 758–763.
- DOLLET, M., FAUQUET, C. & THOUVENEL, J.-C. (1976). *Sorghum arundinaceum*, a natural host of peanut clump virus in Upper-Volta. *Plant Disease Reporter* **60**, 1076–1080.
- GERMANI, G. & DHERY, M. (1973). Observations et expérimentations concernant le rôle des nématodes dans deux affections de l'arachide en Haute-Volta: la chlorose et le clump. *Oléagineux* **28**, 235–242.
- GERMANI, G., THOUVENEL, J.-C. & DHERY, M. (1975). Le rabougrissement de l'arachide: une maladie à virus au Sénégal et en Haute-Volta. *Oléagineux* **30**, 259–266.
- NOORDAM, D. (1973). Spectrophotometry. In: *Identification of plant viruses*, pp. 88–102. Ed. Pudoc. Wageningen.
- PORTERES, R. & LEGLEU, R. (1937). La rosette de l'arachide. Connaissances actuelles, relation avec la date des semis dans le pays du Baoulé-Nord, méthodes prophylactiques à appliquer. *Annales agricoles de l'Afrique Occidentale* **1**, 332–355.
- PUTZ, C. (1977). Composition and structure of beet necrotic yellow vein virus. *Journal of General Virology* **35**, 397–401.
- THOUVENEL, J.-C., DOLLET, M. & FAUQUET, C. (1976). Some properties of peanut clump, a newly discovered virus. *Annals of Applied Biology* **84**, 311–320.
- THOUVENEL, J.-C. & FAUQUET, C. (1980). First report of *Polymyxa graminis* L. in Africa, and its occurrence on new *Sorghum* Moench host species. *Plant Disease* **64** (In press).
- THOUVENEL, J.-C., FAUQUET, C. & DOLLET, M. (1978). Influence du pH sur le virus du clump de l'arachide (peanut clump virus) et nouvelle méthode rapide de purification. *Annales de Phytopathologie* **10**, 93–99.
- THOUVENEL, J.-C., FAUQUET, C. & LAMY, D. (1978). Transmission par la graine du virus du clump de l'arachide. *Oléagineux* **33**, 503–504.
- THOUVENEL, J.-C., GERMANI, G. & PFEIFFER, P. (1974). Preuve de l'origine virale du rabougrissement ou 'clump' de l'arachide en Haute-Volta et au Sénégal. *Comptes-rendus de l'Académie des Sciences, Paris* **278**, 2847–2849.
- VAN SLOGTEREN, D. H. M. (1955). Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. *Proceedings of the 2nd Conference on Potato Virus Disease, Lisse-Wageningen, 1954*, pp. 51–54.

(Received 7 May 1980)

EXPLANATION OF PLATE

- Fig. 1. Symptoms of clump disease in a young groundnut leaf (right), healthy leaf (left).
- Fig. 2. Symptoms of PCV in *Nicotiana benthamiana*.
- Fig. 3. Symptoms of PCV in *Nicotiana clevelandii*.
- Fig. 4. Symptoms of PCV in *Triticum aestivum* (left), healthy plant (right).
- Fig. 5. Cystosori of *Polymyxa graminis* in great millet roots.

VIROLOGIE. — *Association d'un nouveau virus en bâtonnet avec la maladie de la nécrose à rayures du Riz, en Côte-d'Ivoire.* Note(*) de **Claude Fauquet et Jean-Claude Thouvenel**, présentée par Léon Hirth.

Un virus en bâtonnet est présent dans les plants de Riz présentant les symptômes de nécrose à rayures, en Côte-d'Ivoire. Les symptômes de la maladie, les modes de transmission, une méthode de purification et quelques propriétés physico-chimiques sont décrites. Il s'agit d'un virus en bâtonnet à plusieurs composants qui n'a pas encore été décrit et que nous proposons de dénommer; virus de la nécrose à rayures du Riz.

VIROLOGY. — *Presence of a New Rod-Shaped Virus in Rice Plants with Stripe Necrotic Symptoms, in Ivory Coast.*

A rod-shaped virus is present in Rice plants showing stripes and necrosis, in the Ivory Coast. The symptoms of the disease, the mode of transmission ways, a method of purification and some physico-chemical properties of the virus are described. This rod-shaped virus has not been described before and we propose to name it, Rice Stripe Necrosis Virus (RSNV).

INTRODUCTION. — Jusqu'à ce jour, un seul virus a été isolé du Riz en Afrique [1] il s'agit du virus de la panachure jaune qui est un virus sphérique transmis par chrysomelles. Une autre maladie soupçonnée d'être une maladie à virus avait cependant été décrite en 1977 en Côte-d'Ivoire [2] mais sans mise en évidence de l'agent causal, ni de son mode de transmission. C'est, à partir de plants de Riz présentant ces mêmes symptômes de rabougrissement (*fig. 1*) et de rayures chlorotiques (*fig. 2*) que nous avons isolé un virus en bâtonnet. Nous avons pu déterminer son mode de transmission naturel et quelques unes de ses propriétés. Les résultats obtenus suggèrent que ce virus n'a pas encore été décrit, que ce soit sur Riz où sur une autre graminée, en Afrique où ailleurs dans le monde.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — L'inoculum originel provient de plantes de Riz infectées naturellement, prélevées dans la région Centre de Côte-d'Ivoire, près de Bouaké.

1. *Transmission.* — (a) *Transmission mécanique.* La méthode classique d'inoculation mécanique par frottement du jus brut à +0°C avec du carborundum a été utilisée sur différentes plantes-hôtes et de différentes manières. Nous avons éprouvé les tampons citrate de sodium, phosphate de sodium, phosphate de potassium, borate de sodium, tris-HCl, hepes et mepes, à des concentrations variant de 0,05 à 0,5 M et à des pH variant de 5 à 9. Divers anti-oxydant comme le chlorhydrate de cystéine, le diethyl-di-thiocarbamate, l'acide thioglycolique ou le mercapto-ethanol ont été ajoutés au tampon de broyage.

Nous avons également essayé d'infecter avec le jus brut conservé à 0°C, congelé à -20°C pendant 2 h ou chauffé à 50°C pendant 10 mn. Nous avons par ailleurs fait varier la dilution du jus brut de 1 à 20 fois avec du tampon de broyage avant l'inoculation.

Les plantes inoculées, cultivées sur sol stérilisé, sont maintenues en serre à l'abri des insectes, et soumises aux conditions climatiques naturelles (température moyenne 32°C et humidité moyenne 90 %).

(b) *Transmission par la graine.* Des graines ont été prélevées sur des plantes malades en champs, à partir de différentes variétés ayant présenté en 1981 un fort pourcentage d'infection. Elles ont été semées dans de la terre stérilisée, maintenues en serre à l'abri des insectes, et les plantes ainsi obtenues ont été recépées plusieurs fois.

(c) *Transmission par le sol.* De la terre a été prélevée avec des pieds malades et ramenée au laboratoire en serre à l'abri des insectes. Des graines ont été semées autour de ces plantes malades et observées périodiquement. Des expériences identiques ont été faites en supprimant la plante malade ou en ajoutant des racines malades à de la terre stérilisée. Des expériences ont également été faites avec de la terre, prélevée près de pieds malades, qui a été desséchée pendant des temps variables. Pour chaque expérience des témoins ont été effectués avec de la terre prélevée sur des plantes saines du même champ.

(d) *Transmission par Insectes.* Deux espèces de Pucerons ont été utilisées : *Histeroneura setariae* (récolté sur Riz) et *Rhopalosiphum maidis* (récolté sur Maïs). Après un jeûne de 2 h et un repas d'acquisition variant de 5 mn à 24 h sur des plantes malades, les Pucerons sont transférés sur de jeunes plantules saines, à raison de 10 individus par plante et ils sont éliminés par pulvérisation d'insecticide après 48 h.

Une espèce indéterminée de Cochenille, fréquente sur Riz, a été utilisée pour essayer de transmettre la maladie. Des larves ont été prélevées sur des plantes ne présentant pas de symptômes et mises en élevage sur des plantes malades. Périodiquement, nous avons prélevé sur cet élevage des larves mobiles de Cochenilles, que nous avons remis sur des plantules saines de Riz.

2. *Purification.* — Des feuilles de Riz malade prélevées en champ sont broyées dans un tampon phosphate de potassium 0,1 M pH 7,5 contenant 0,4 % d'acide thioglycolique, à raison de 4 ml de tampon pour 1 g de feuilles. Après un broyage de 2 mn, le broyat est clarifié par un mélange de chloroforme/butanol dans un rapport 2/8, à raison de 1 ml de ce mélange pour 1 g de plante. Après une centrifugation de 10 mn à 10 000 × g, le surnageant est ultra-centrifugé pendant 3 h à 78 000 × g. Les culots obtenus sont repris dans du tampon phosphate 0,01 M pH 7 (0,1 ml/2 g de feuilles) et purifiés sur coussin de saccharose 20 % de 8 ml. Les culots sont à nouveau remis en suspension dans 2 ml de tampon phosphate 0,01 M pH 7 et centrifugés à 10 000 × g pendant 10 mn. Le surnageant est déposé sur un gradient de saccharose 15-40 % qui est ultra-centrifugé pendant 3 h à 90 000 × g, à la température de 4°C. Le gradient est récolté et fractionné grâce à un ISCO-UA 5, les fractions absorbantes sont regroupées et concentrées par ultra-centrifugation de 4 h à 78 000 × g.

A chaque étape de la purification ainsi que pour les différentes fractions du gradient une fraction aliquote est prélevée et inoculée à des plantes sensibles.

3. *Microscopie électronique.* — Une suspension de virus purifié de 0,3 u. DO/ml est déposée sur une grille de microscopie électronique recouverte d'un film de Formvar et carbonnée. Les particules virales sont ensuite colorées négativement avec de l'acétate d'uranyle à 0,5 %.

4. *Sérologie.* — Un antisérum a été préparé en injectant du virus purifié à un lapin, à raison de 1 mg par semaine, pendant 3 semaines. Les deux premières injections ont été intra-veineuses et la dernière intramusculaire. Le lapin est ensuite saigné 1 fois par semaine et le sérum est récupéré après coagulation à température ambiante. Les tests sérologiques ont été effectués par micro-précipitation sous huile de paraffine [3].

RÉSULTATS. — 1. *Transmission.* — (a) *Transmission mécanique.* La maladie n'a pu être transmise à *Oryza sativa*. Sur *chenopodium amaranticolor* nous pouvons cependant obtenir des lésions locales chlorotiques qui s'étendent peu à peu à toute la feuille. Il est également possible d'obtenir des lésions locales nécrotiques en anneaux sur *Nicotiana benthamiana*. Par contre, il n'a pas été possible d'obtenir de lésions locales sur *C. amaranticolor* à partir de *N. benthamiana*, ni de retour positif sur *Oryza sativa*. A partir de lésions locales sur *C. amaranticolor* il est possible d'en obtenir à nouveau sur la même plante mais il est impossible d'obtenir un retour positif sur *Oryza sativa*.

En se basant sur le nombre de lésions sur *C. amaranticolor*, on peut dire que le meilleur tampon d'inoculation est le tampon borate de sodium 0,05 M pH 8 contenant 0,01 M de chlorhydrate de cystéine et maintenu à 0°C pendant le temps de broyage et d'inoculation, avec une dilution de 5 ml de tampon par gramme de feuilles.

Les plantules de Riz inoculées sur les racines n'ont pas montré plus de symptômes que celles inoculées sur les feuilles.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Fig. 1. — Symptômes de rabougrissement et tallage excessif sur *Oryza sativa*, var. Irat 10 âgé de 45 jours.

Fig. 1. — Symptoms of stunting and excessive tylosis on *Oryza sativa*, var. Irat 10, 45 days old.

Fig. 2. — Symptômes de stries chlorotiques et de nécrose sur *Oryza sativa*, var. Irat 10, feuille saine à droite.

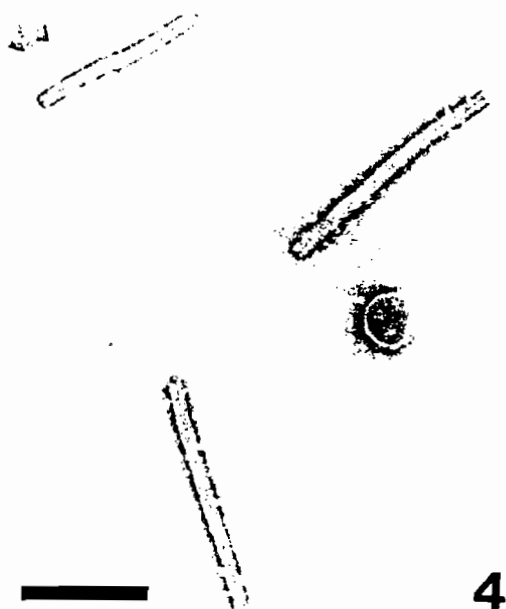
Fig. 2. — Symptoms of chlorotic stripes and necrosis of *Oryza sativa*, var. Irat 10, healthy leaf on the right.

Fig. 3. — Sporangies de *Polymixa graminis* dans les cellules de racine de Riz.

Fig. 3. — Resting spores of *Polymixa graminis* in the root cells of Rice.

Fig. 4. — Aspect en microscopie électronique d'une préparation purifiée de virus à partir de la maladie de la nécrose à rayures du Riz, après coloration négative à l'acétate d'uranyle (grandissement 100 000, bande 51 à 56 % du gradient de saccharose). La barre représente 200 nm.

Fig. 4. — Electron microscope preparation of purified virus from stripe necrosis disease of Rice, negatively stained with uranyl acetate (magnification 100,000, band 51-56% in the sucrose gradient). Bar represents 200 nm.



(b) Transmission par la graine. Nous avons semé un total de 7 600 graines prélevées sur des plantes malades. Aucune de ces plantes, même recépées 2 ou 3 fois, n'a montré de symptômes. On peut donc estimer qu'il n'y a pas de transmission par la graine.

(c) Transmission par le sol. Tous les échantillons de terre prélevés autour de plantes malades, dans un horizon 0-20 cm se sont révélés infectieux lorsque l'on y sème du Riz, alors que des échantillons prélevés, dans le même champ, sur des plantes saines ne sont pas infectieux. De la terre infectieuse reste infectieuse même si on la sèche pendant 2 mois. Enfin des racines de plantes malades, lavées, peuvent rendre de la terre stérilisée, infectieuse. Nous avons pu démontrer [4] que cette transmission par le sol est toujours en relation avec la présence de *Polymixa graminis* sur les racines (fig. 3). Les plantules infectées par le sol, au laboratoire, montrent les mêmes symptômes que ceux observés en champs et inoculées sur *C. amaranticolor* provoquent les mêmes lésions locales.

(d) Transmission par Insectes. Les essais de transmission par Pucerons et par Cochenilles se sont révélés négatifs. Il faut noter toutefois que les Cochenilles lorsqu'elles sont en colonie sur un plant de Riz induisent des rabougrissements, un tallage excessif et même des déformations sur la dernière feuille qui pourraient faire penser à une maladie virale. Mais l'inoculation de ces plantes sur *C. amaranticolor* ne provoque jamais de lésions locales et il n'y a jamais apparition de rayures, ou de nécroses caractéristiques de cette maladie.

2. *Purification.* — La méthode de purification décrite est celle qui nous a donné le meilleur rendement en virus, soit 12 mg/kg de feuilles avec symptômes. Le virus est également présent dans les racines et peut être purifié, de la même façon, en augmentant toutefois le pourcentage d'antioxydant.

Jusqu'au gradient de saccharose, les fractions aliquotes prélevées aux différentes étapes sont infectieuses sur *C. amaranticolor* mais après gradient nous n'avons plus retrouvé le pouvoir infectieux.

Sur gradient de saccharose, on peut voir 3 bandes opalescentes distinctes, respectivement à une R_f de 40, 51 et 56 % du tube, à partir du ménisque.

Ces trois bandes ont exactement le même spectre, à savoir; maximum à 264 nm et minimum à 254 nm. Le rapport A_{260}/A_{280} est de 1,07 et le rapport A_{Max}/A_{Min} est de 1,02. Ces rapports corrigés pour la diffusion de la lumière selon Noordam [5] deviennent 1,00 et 1,37, le maximum devient 272 nm et le minimum 245 nm. Les rapports indiquent, selon la méthode graphique de Paul [6] un pourcentage d'acide nucléique de 5 % et selon la méthode graphique de Gibbs & Harrison [7] un coefficient d'extinction de 3,0.

3. *Microscopie électronique.* — L'observation en microscopie électronique des 3 bandes purifiées a montré la présence de particules virales en forme de bâtonnet. Dans la bande de R_f 40 % la longueur des particules varie entre 110 et 160 nm, alors que dans les bandes de 51 et 56 %, les particules font respectivement 270 et 380 nm de long (fig. 4). Le diamètre est identique pour toutes les particules et il est de 20 nm.

4. *Sérologie.* — Un antisérum de titre 1/250 a été préparé. Le virus purifié a été éprouvé contre les antisérums spécifiques des virus suivants, le titre et l'origine est donné pour chaque anti-sérum entre parenthèses : la mosaïque du *Nicotiana velutina* (titre 1/? : Dr. Harrison); le virus des nécroses des nervures jaunes de la Betterave (titre 1/500 : Dr. Putz); le virus du « rattle » du Tabac (titre 1/512 : Dr. Harrison); le virus du brûnisement précoce du petit pois (titre 1/128 : Dr. Harrison); le virus du « clump » de l'Arachide (titre 1/1024 : Dr. Thouvenel); les virus de la mosaïque à rayures de l'Orge (titre 1/1024 : Dr.

Hamilton); le virus de la mosaïque jaune de l'Orge (titre 1/? : Dr. Brakke). Pour ces antiserum nous n'avons obtenu de réaction positive avec le virus que nous avons isolé du Riz en Côte-d'Ivoire.

CONCLUSION. — Nous avons pu isoler systématiquement un virus en bâtonnet à plusieurs longueurs de plants de Riz présentant des symptômes de stries chlorotiques, de nécrose et de rabougrissement. Il n'a pas été possible de transmettre mécaniquement cette maladie du Riz au Riz. Nous avons obtenu 2 hôtes à lésions locales mais sans pouvoir faire le retour sur Riz. Les symptômes obtenus sur *C. amaranticolor* sont cependant caractéristiques de ce type de virus [8].

Il n'y a pas de transmission par la graine de ce virus mais par contre, transmission par le sol qui peut être associée à *Polymixa graminis* (ordre des plasmodiophorales).

Cette maladie du Riz de Côte-d'Ivoire ressemble à une maladie du Riz décrite aux Indes [9] mais celle-ci est transmise par une Cochenille, *Ripersia oryzae*, et les auteurs n'ont pu en déterminer l'agent causal. Parmi les autres maladies virales du Riz [10] seules la maladie des rayures du Riz et la maladie de la mosaïque nécrotique ont des symptômes semblables. De ces deux maladies seule la mosaïque nécrotique est transmissible par *Polymixa graminis* mais les particules sont différentes et elle est facilement transmissible mécaniquement.

Parmi les virus de graminées seule la mosaïque du blé [11] est transmissible par le sol et possède des particules semblables. Mais elle se transmet mécaniquement à plusieurs hôtes, elle n'infecte pas le Riz, et n'est pas sérologiquement reliée au virus que nous avons isolé du Riz de Côte-d'Ivoire.

Parmi les virus transmis par le sol [12] le virus que nous avons isolé du Riz ressemble par la longueur des particules au virus des nécroses jaunes des nervures de la betterave [13] mais celui-ci n'infecte pas les Graminées et les 2 virus ne sont pas reliés sérologiquement.

Compte tenu de tous ces éléments, nous pensons que ce virus en bâtonnet à plusieurs longueurs est un nouveau virus, non relié sérologiquement à ceux déjà décrits. Bien que nous n'ayons pas réussi à reproduire la maladie sur le Riz, nous pensons que les particules observées sont transmises par le Champignon, *Polymixa graminis*, et qu'elles sont bien responsables des symptômes observés. C'est pourquoi nous proposons de le nommer; virus de la nécrose à rayures du Riz (Rice Stripe Necrosis Virus, RSNV).

(*) Remise le 17 janvier 1983, acceptée le 21 février 1983.

[1] C. FAUQUET et J. C. THOUVENEL, *Initiations. Documentations Techniques*, n° 46, 1980, O.R.S.T.O.M., Paris, 128 p.

[2] D. LOUVEL et J. M. BIDAUX, *Agronomie Tropicale*, XXXII-3, 1977, p. 257.

[3] D. H. M. VAN SLOGTEREN, *Proc. 2nd Conference Potato Virus Disease*, Lisse-Wageningen, 1954, p. 51.

[4] C. FAUQUET, P. QUENEHERVE et J. C. THOUVENEL, *Agronomie Tropicale*, 1983 (en préparation).

[5] D. NOORDAM, *Identification of Plant Viruses*, 1973, PUDOC, éd., Wageningen, 207 p.

[6] H. L. PAUL, *Z. Natur. Forsch.*, 14 b, 1959, p. 427.

[7] A. GIBBS et B. HARRISON, *Plant Virology. The Principles*, 1976, E. ARNOLD, éd., London, 292 p.

[8] J. C. THOUVENEL, M. DOLLET et C. FAUQUET, *Annals of Applied Biology*, 84, 1976, p. 311.

[9] A. ANJANEYULU, S. K. SINGH, V. D. SHUKLA et M. M. SHENOI, *I.R.R.N.*, 5, n° 3, 1980, p. 12.

[10] K. C. LING, *Rice Virus Diseases*, IRR1, 1972, Los Banos, Philippines, 142 p.

[11] M. K. BRAKKE, CMI/AAB, *Descriptions of Plant Viruses*, n° 77, 1971, 4 p.

[12] D. S. TEAKLE, *Fungi*, in, *Vectors of Plant Pathogens*, K. F. HARRIS et K. MARAMOROSCH, éd., Academic Press, 1980, p. 417.

[13] T. TAMADA, CMI/AAB, *Descriptions of Plant Viruses*, n° 144, 1975, 4 p.

Centre O.R.S.T.O.M., Adjo Podoume, B.P. n° V 51, Abidjan, Côte-d'Ivoire.

FAUQUET, C., QUENEHERVE, P. & THOUVENEL, J-C. (1985). Evidence for soil transmission of the Rice Stripe Necrosis Virus by a fungus, in the Ivory Coast. (Soumis à Phytopath. Z.).

INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE
POUR LE DEVELOPPEMENT EN COOPERATION
ORSTOM
LABORATOIRE DE PHYTOVIROLOGIE
BP V 51 ABIDJAN COTE D'IVOIRE

**Evidence for Soil Transmission of the
Rice Stripe Necrosis Virus by a Fungus, in the Ivory Coast.**

By

C. FAUQUET, P. QUENEHERVE and J-C. THOUVENEL.

With 4 figures

Received 1985

Abstract

A rice disease recently discovered in the Ivory Coast, the Rice Stripe Necrosis Virus, is soil transmissible in either natural or artificial conditions. A study made by sampling, within a plot infected in a relatively high proportion, obviously showed a significant absence of vector nematodes as well as the presence of a fungus parasite, known as vector of plant viruses. The association could also be observed during experiments for soil transmissions. The successive steps of growth of this fungus let us think it is *Polymyxa graminis*, belonging to the plasmodiophorales order.

Introduction

In 1977 a new rice disease was described in the Ivory Coast by LOUVEL & BIDAUX and in 1983 FAUQUET and THOUVENEL could demonstrate that this rice disease was associated with a new, rod shaped, soil transmitted virus. According to the virus morphology it is possible to suspect a transmission either by nematodes or by soil fungi (TAYLOR 1980, and TEAKLE 1980).

This paper presents the results obtained in the matter of transmission, and demonstrates that this transmission can only be associated with a soil fungus infecting rice roots, most probably *Polymyxa graminis*, according to the different

states of development in the rice roots cells (KARLING 1968).

LOUVEL and BIDAUX (1977) detailed the description of the symptoms of this disease which remains quite accurate and we only have to recall here its general outline: it is characterized by a very early infection of the crop, ie. 3 weeks after sowing, the first symptoms can be noticed on new seedlings of upland rice and the important fact is that the infected plants immediately present very severe symptoms, that let suspect the vector, whatever it is, to be active from the very beginning of the rice growth. The first noticeable symptoms are chlorotic or yellow stripes on leaves (Fig. 1A), a general stunting of the plant (Fig. 1C), then necrotic stripes along the limb, a reducing of tillering (very often one tiller only)(Fig. 1C), a crinckling distorsion of young leaves (Fig. 1C) and often a total necrosis of the whole plant. If infection comes later, the plant will not die but tillering will be extremely reduced and will most often give only one very distorted and almost sterile panicle (Fig. 1B). If infection is incomplete, the plant will grow one or several tillers which will compete to grow to the prejudice of infected tillers and will produce healthy panicles.

Material and Methods

Sampling methods

We picked up soil samples within the germplasm plots, belonging to the IDESSA in Bouake, where highly infected rice varieties were growing. We thus intended to detect nematodes and soil fungi as well as to experiment artificial soil transmission.

We collected two different kinds of samples, either near infected plants, or near healthy plants. In any case soil was picked up between two or three infected or healthy plants. When the plant itself was picked up, we tried to pick it up near another infected plant, in the case of an infected plant, or near another healthy plant, in the case of a healthy plant (Fig. 2).

Extraction of Nematodes

We extracted soil nematodes from 500 cm³ of soil samplings, with the SEINHORST elutriation technique (1962). The counting of endoparasites nematodes was estimated after a two weeks extraction in a mist chamber (SEINHORST 1950). We first took 64 soil samplings, 32 situated near healthy plants and 32 near infected plants (Fig. 2). Soil samplings were extracted with a screw-auger, 20 to 40 cm in depth.

In a second time we picked up 32 plants showing very severe necrotic symptoms as well as their roots and the contiguous soil, and 32 healthy plants in the same conditions. Upon an aliquot of soil and roots we extracted nematodes with the techniques previously described and we used the complement to experiment either soil transmissions or root detections of a parasite fungus.

Soil Transmissions

The principle of this method of soil artificial transmission consists in adding to a sterile soil an element likely to bring the vector or the virus (field soil, roots, nematodes, fungus zoospores, plant fragments...), then to grow on it seeds of rice supposed to be free and susceptible. As test plant we choose cv. IRAT 10 because, according to the results of LOUVEL and BIDAUX (1977), this variety was the most susceptible among the ones tested in the rice collection.

These experiments take place in pots kept in greenhouses at a temperature of 27-35°C and where humidity ranges from 60% to 100%.

In the case of transmissions by nematodes, pots are watered with the suspension containing nematodes.

In the case of root transmissions, plants are washed in a running water and when the roots seem to be soil free they are cut in small pieces then added to a sterile soil.

In the case of soil transmissions, the soil sampling is mixed with sterile soil up to 50%.

Finally in the case of a transmission after centrifugation, roots are dipped in water during two hours then this water is centrifuged at a low speed during 30 minutes and the centrifugation pellets are added to the sterile soil where rice is grown.

In every case 10 cv. IRAT 10 rice seeds are sowed in each pot and the symptoms are checked up to 60 days after sowing.

Detection of a Root Fungus

The presence of a fungus infecting rice roots can be visualized by the mean of a lactophenol staining. After washing the roots in water, they are boiled 1 minute in lactophenol containing 1mg/ ml of acid fuchsin, then discolored in pure lactophenol (BRITTON and ROGERS 1963) and finally observed in a microscope.

Results

Spreading of the Disease

The two belts we selected in the rice germplasm present no correlation between the percentage of infected plants and the percentage of growing plants (Fig. 3), either all varieties or only the cv. IRAT 10 variety being considered ($R = -0.03$ and $R = -0.17$).

In the field we differentiated areas with standard growth from areas with irregular growth (Fig. 2). Zones of normal growth germinate better than irregular zones: 63% instead of 34% when all varieties are together and 62% instead of 39% for the IRAT 10 variety. On the other hand the percentage of infected plants is almost similar in both zones: 9% instead of 8% when all varieties considered and 30% instead of 21% for the IRAT 10 variety.

Fig. 3 shows in two different ways (in number and in percentage of infected

plants) the distribution of infected plants along the main direction of the collection stripe selected (South-North) and displays the presence of infected plants in plots that are not correlated with the zones of disturbed growth (hatched zone).

Searching for Nematodes

The tubular morphology of the causal agent as well as the spot repartition of the disease on plots (GIBBS and HARRISON 1976) led us to search for nematode species known as plant virus vectors. They belong to the ectoparasite species: *Longidorus sp*, *Paralongidorus sp*, *Xiphinema sp*, *Trichodorus sp*, et *Paratrichodorus sp* (TAYLOR 1980).

As for the soil samplings we observed the presence of only one of these parasites: *Xiphinema sp*, but in a very small quantity. Moreover we find it only in one sampling among the 64 that were analyzed, and surprisingly in a healthy zone!

In the second range of samplings we detected *Xiphinema sp* in two upon 32 diseased soil samplings also in a very small quantity (6 nematodes in a sampling as a maximum) and none of them in the 32 healthy samplings.

In other respects this upland rice (Fig. 4) presented an average level of soil infection by nematodes (FORTUNER 1975).

Artificial Soil Transmission

Transmission by Nematodes

All *Xiphinema sp* isolated were placed into one single pot of rice containing 10 plants of cv. IRAT 10, but we obtained no transmission. In the same way we sowed 6 pots with the total population of nematodes from infected plants, thinking that vector nematodes might have been missed during the counting, but we obtained no positive transmission of the disease.

Root Transmission

Among 32 samplings from healthy plants, which means among 320 plants tested we obtained 8 positive transmissions. The same experiment realized from roots of infected plants produced 58% of diseased plantlets (Table II, Fig. 1D).

Soil transmission

In the case of soil extracted around healthy plants we obtained 9% of transmission; in the case of soil extracted around infected plants we obtained 45% of diseased plants. A part of soil extracted around infected plants and deshydrated during 30 days transmitted the disease to 31% of seedlings tested. From the pots presenting a positive transmission we could obtain again positive transmissions, sometimes even 100% transmissions!

Transmission by Centrifugation Pellets

In this case 3 plantlets among 30 were infected, i.e. 10%.

Searching for Fungi

Among 64 samplings (32 were healthy and 32 were infected) used for searching nematodes, we took an aliquot of roots at different steps of growth and we searched for fungi. We detected no fungus on the 32 healthy samples but on the contrary all the infected samplings presented fungi at very different levels of infection (Fig. 1E). In the same way we searched for the presence of fungi upon the cv. IRAT 10 seedlings that became infected after the soil transmission experiments and we detected some on roots of all the infected seedlings, as well as some on roots of apparently healthy seedlings. In the case of negative nematode transmissions we were unable to detect the fungus in the roots of the rice seedlings.

Discussion

The absence of correlation between zones of irregular growth and the percentage of infected plants makes us think that the distribution observed 60 days after sowing reflects the original distribution. Consequently in the majority of the cases the disease is not responsible for lacking plants. Though the varieties are very different and have different susceptibilities (LOUVEL and BIDAUX 1977), affected plants are displayed in spots which emphasizes the idea of a transmission by a soil vector (GIBBS and HARRISON 1976).

The morphology of the causal agent (FAUQUET and THOUVENEL 1983) is a multi-component, rod-shaped virus, having 20 nm in width, and it made us expect either a nematode or a fungus transmission (TAYLOR 1980 and TEAKLE 1980). All tobnaviruses are transmitted either by *Trichodorus sp* or by *Paratrichodorus sp* (TAYLOR 1980), now we could find only *Xiphinema sp* which are only known as vectors of isometric viruses (TAYLOR 1980). In other respects we found only very small quantities of *Xiphinema sp*, whereas the populations of the total nematofauna was normal for rice (FORTUNER 1975) which tends to prove that the method used for searching for the nematodes was valid. Otherwise the technique we used for sampling was quite in accordance with numerous authors, and the depth of extraction is also quite correct (COHN 1969, HIJINK and KUIPER 1966 and TAYLOR 1967). Consequently we were not able to transmit this virus disease by nematodes nor to correlate the disease itself with this kind of vector.

On the contrary we managed to transmit the disease by different means which make us to expect the transmission is realized by a fungus: transmission in a deshydrated soil, by infected roots, centrifugation pellets... Moreover we could correlate the presence of soil fungi with diseased plants in almost every case, but almost never in the case of negative transmissions.

According to the size and shape of the cystosori (Fig. 1F) and plasmodium observed in root cells of infected rice, it seems that the fungus evolved might be *Polymyxa graminis* (KARLING 1968, RAO 1968 and LEDINGHAM 1939). This hypothesis is reenforced by the fact that these fungus group have specific plant hosts and *Polymyxa graminis* invade only gramineous plants (TEAKLE 1980 and KARLING 1968).

Polymyxa graminis has been identified in many different places in the world (KARLING 1968, INOUE and SAITO 1975, RAO 1968, CANOVA 1966, MACFARLANE, JENKINS and MELVILLE 1968 and TOCCHETTO 1974) but it is only the second time

(THOUVENEL and FAUQUET 1980) in Africa. The first one was for the soil transmission of another rod-shaped virus, the Peanut Clump Virus (THOUVENEL and FAUQUET 1981).

Polymyxa graminis has been described as the vector of two different kinds of viruses:

- Filamentous viruses with 13 nm in width; the Barley Yellow Mosaic Virus (INOUE and SAITO 1975), the Rice Necrosis Mosaic Virus (INOUE and FUJII 1977), and the Wheat Spindle Streak Virus (SLYKHUIS 1976).

- Rod-shaped viruses with 20 nm in width; the Wheat Mosaic Virus (BRAKKE 1971), the Peanut Clump Virus (THOUVENEL and FAUQUET 1981), and the Oat Golden Stripe Virus (PLUMB and MACFARLANE 1977).

The Rice Stripe Necrosis Virus isolated in Ivory Coast (FAUQUET and THOUVENEL 1983) belongs to the second group and the experimental conditions here described are in agreement with the transmission modes of the group. Consequently we can conclude that the Rice Stripe Necrosis Virus is naturally soil transmitted by a fungus, most probably *Polymyxa graminis*.

We wish to thank Dr POISSON and Dr CLEMENT from the IDESSA research centre in the Ivory Coast, for giving us the possibilities of sampling in their variety trials. The authors thank very much Dr B.D. HARRISON for help and advice in the preparation of the publication.

Literature

- BRAKKE, M.K., 1971: Soil-borne wheat mosaic virus. **CMI/AAB, Descriptions of plant viruses**, n° 77, 4p.
- BRITTON, M.P. and D.P. ROGERS, 1963: *Ovipodium brassicae* and *Polymyxa graminis* in roots creeping bent in golf putting greens. **Mycologia**, **55**, 758-763.
- CANOVA, A., 1966: Ricerche sulle malattie da virus del frumento. **Phytopathol. Mediterr.**, **5**, 53-58.
- COHN, E. 1969: The occurrence and distribution of species of *Xiphinema* and *Longidorus*. **Nematologica**, **15**, 179-182.
- FAUQUET, C. and J.-C. THOUVENEL, 1983: Association d'un nouveau virus en bâtonnet, avec la maladie des rayures nécrotiques du riz, en Côte d'Ivoire. **C. R. Acad. Sci. ser. III**, **296**, 575-580.
- FORTUNER, R., 1975: Les nématodes parasites de racines, associés au riz au Sénégal (Haute Casamance et régions Centre et Nord) et en Mauritanie. **Cah. ORSTOM, ser. Biol.** vol X, **3**, 147-159.
- GIBBS, A.J. and B.D. HARRISON, 1976: Transmission by vectors and in other natural ways, and Virus ecology. In: **Plant Virology, The Principles**, Edward Arnold, London, 183-218.
- HEBERT, T.T., and C.H. PANIZO, 1975: Oat mosaic virus. **CMI/AAB, Descriptions of plant viruses**, n° 145, 3p.
- HIJINK, M.J., and K. KUIPER, 1966: Waarnemingen, over de verdeling van aalties in the ground. **Meded. Rijks. Landbouw**, **31**, 558-571.
- KARLING, J.S., 1968: **The Plasmodiophorales**, Hofner Publishing Company, New-York, 256p.
- INOUE, T., and S. FUJII, 1977: Rice necrosis mosaic virus. **CMI/AAB, Descriptions of plant viruses** n° 172, 4p.
- INOUE, T., and Y. SAITO, 1975: Barley yellow mosaic virus. **CMI/AAB, Descriptions of plant viruses** n° 143, 3p.
- LEDINGHAM, G.A., 1939: Studies on *polymyxa graminis*, n. gen. n. sp., a plasmodiophoraceous root parasite of wheat. **Can. J. Res.**, **17**, 38-51.
- LOUYEL, D. and J.-M. BIDAUX, 1977: Observation de nouveaux symptômes pathologiques sur des variétés précoces de riz en Côte d'Ivoire. **Agronomie Tropicale** XXXII. **3**, 257-261.
- MACFARLANE, I., J.E.E. JENKINS, and S.C. MALVILLE, 1968: A soil-borne virus of winter oats. **Plant Pathol.**, **17**, 167-170.
- PLUMB, R.T., and MACFARLANE, I., 1977: A "new" virus of oats. In **Rothamsted Experimental Station Report for 1976**, Part 1, 256-257.
- RAO, A.S., 1968: Biology of *Polymyxa graminis* in relation to soil-borne wheat mosaic virus. **Phytopathology**, **58**, 1516-1521.
- SEINHORST, J.W., 1950: De betekenis Van de toestand van de grond voor het optreden van aanstasting door het stengelaaetje (*Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipzer). **Tijdschr. Pziekt**, **56**, 291-349.
- SEINHORST, J.W., 1962: Modifications of the method for extracting nematodes from soil. **Nematologica**, **8**, 117-128.
- SLYKHUIS, J.T., 1976: Wheat spindle streak virus. **CMI/AAB, Descriptions of plant viruses**, n° 167, 3p.

- TAYLOR, C.E., 1967: The multiplication of *Longidorus elongatus* (de Man) on different host plants with reference to virus transmission. **Ann. appl. Biol.**, **59**, 275-281.
- TAYLOR, C.E., 1980: Nematodes. In : K.F. HARRIS, and K. MARAMOROSCH, (eds), Vectors of Plant Pathogens. Academic Press, London and New-York, 375-476.
- TEAKLE, D.S., 1980: Fungi. In: K.F. HARRIS, and K. MARAMOROSCH, (eds), Vectors of Plant Pathogens. Academic Press, London and New-York, 417-438.
- THOUVENEL, J-C. and FAUQUET, C., 1980: *Polymyxa graminis*, on new sorghum species in Africa. **Plant Disease**, **64**, 957-958.
- THOUVENEL, J-C. and FAUQUET, C., 1981: Further properties of peanut clump virus and studies on its natural transmission. **Ann. appl. Biol.**, **97**, 99-107.
- TOCCHETTO, A., 1974: Record of *Polymyxa graminis* L. on *Triticum aestivum* in Rio Grande do Sul. **Agron. Sulriograndense**, **10**, 227-231.

Legends of figures

- Fig. 1A:** Yellow stripe symptoms on rice leaves of cv. IRAT 10, infected with Rice Stripe Necrosis Virus.
- Fig. 1B:** Malformation of a panicle of cv. IRAT 10, induced by the Rice Stripe Necrosis Virus.
- Fig. 1C:** Rice plant, cv. IRAT 10, infected with Rice Stripe Necrosis Virus, showing lacking of tillering, and crinckling of the young leaves.
- Fig. 1D:** Soil transmission experiment of the Rice Stripe Necrosis Virus with cv. IRAT 10. Two diseased plants are in the foreground and 3 healthy plants are in the background.
- Fig. 1E:** Cystosori of *Polymyxa graminis* in the rootlets of rice cv. IRAT 10 naturally infected with Rice Stripe Necrosis Virus.
- Fig. 1F:** Two cystosori of *Polymyxa graminis* in a cell of a rootlet of rice, cv. IRAT 10, infected during a soil transmission experiment with the Rice Stripe Necrosis Virus.
- Fig. 2:** Graphic representation, 60 days after sowing, of the sampling area in the rice germplasm, composed of two belts, one of different varieties (3 rows of 9 plants each) and one of cv. IRAT 10. The name of the varieties is indicated in the top of the diagram, as also is the percentage of germination and the percentage of plants infected with Rice Stripe Necrosis Virus (RSNV). The infected plants are visualized by black labels and we distinguished the state of growth between standard () and irregular (). In the bottom of the plant representation we indicated the number of sampling (M for diseased and S for healthy plant). The result of the search for *Polymyxa graminis* and the result of the soil transmission experiment are also indicated in the bottom of the plant representation.
- Fig. 3:** Representation of the number (a) and of the percentage (b) of diseased plants per variety, in the South-North (S-N) direction. The irregular growth areas are indicated by a hatched zone.
- Fig. 4:** Graphic representation of the frequency and the abundance of 5 species of nematodes, in the soil of healthy and diseased rice plants. (Dityl.) *Ditylenchus sp.*, (Prat.) *Pratylenchus sp.*, (Tylen.) *Tylenchus sp.*, (Aphe.) *Aphelenchus sp.*, (Hel.) *Helicotylenchus sp.*

Legends of tables

- Table I :** Average germination and diseased percentages in the whole of the sampling, in the case of standard growth and in the case of irregular growth areas. The upper table was realized with the varieties belt and the lower with the cv. IRAT 10 belt. The standard deviation is indicated, *** means a very significant difference (at the 1% level) and NS means a non-significant difference.
- TABLE II:** Number of inoculated and diseased seedlings cv. IRAT 10, in different soil transmission experiments.

TABLE I

ALL VARIETIES	TOTAL	STANDARD GROWTH	IRREGULAR GROWTH
GERMINATION %	52±17	63±16 ^{***}	34±12 ^{***}
DISEASED %	9±12	9±13 ^{NS}	8±12 ^{NS}
cv. IRAT 10	TOTAL	STANDARD GROWTH	IRREGULAR GROWTH
GERMINATION %	53±10	62±10 ^{***}	39±20 ^{***}
DISEASED %	27±20	30±21 ^{NS}	21±19 ^{NS}

TABLE II

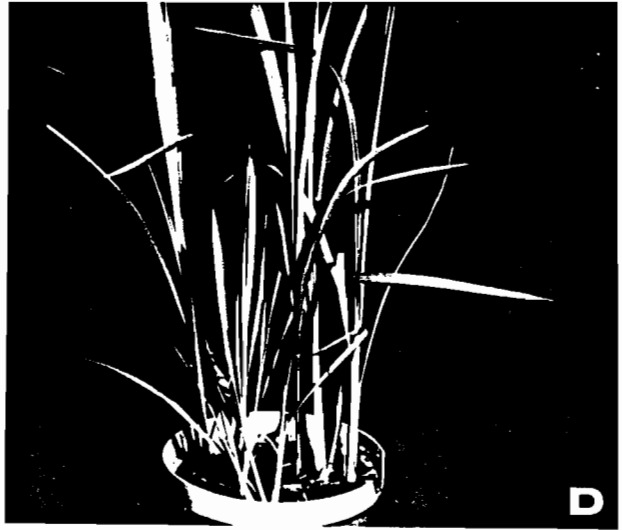
INOCULUM	NB. OF INOCULATED PLANTS	NB. OF DISEASED PLANTS
XIPHINEMA S	0	0
TOTAL NEMATOFUNA	60	0
HEALTHY ROOTS	320	8
DISEASED ROOTS	320	187
HEALTHY SOIL	160	14
DISEASED SOIL	160	72
DESHYDRATED SOIL	100	31
CENTRIFUGATION PELLETS	30	3



A



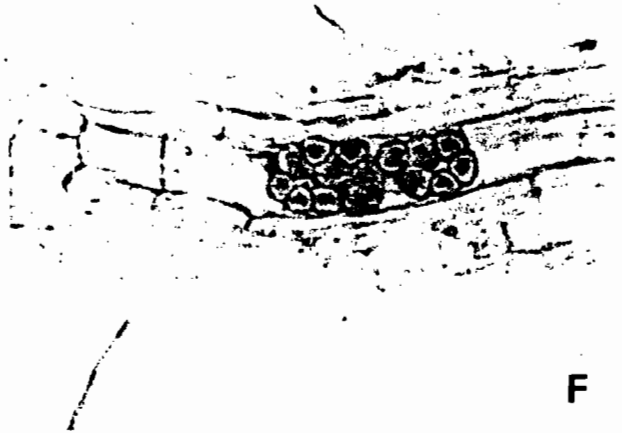
C



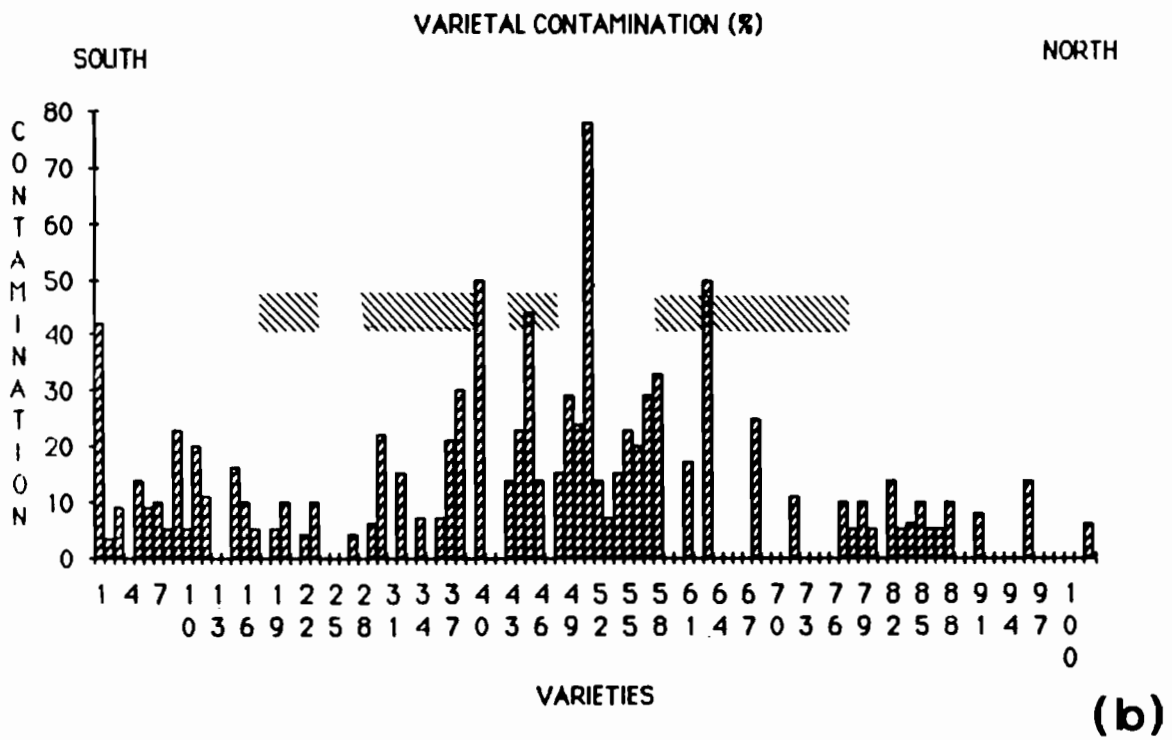
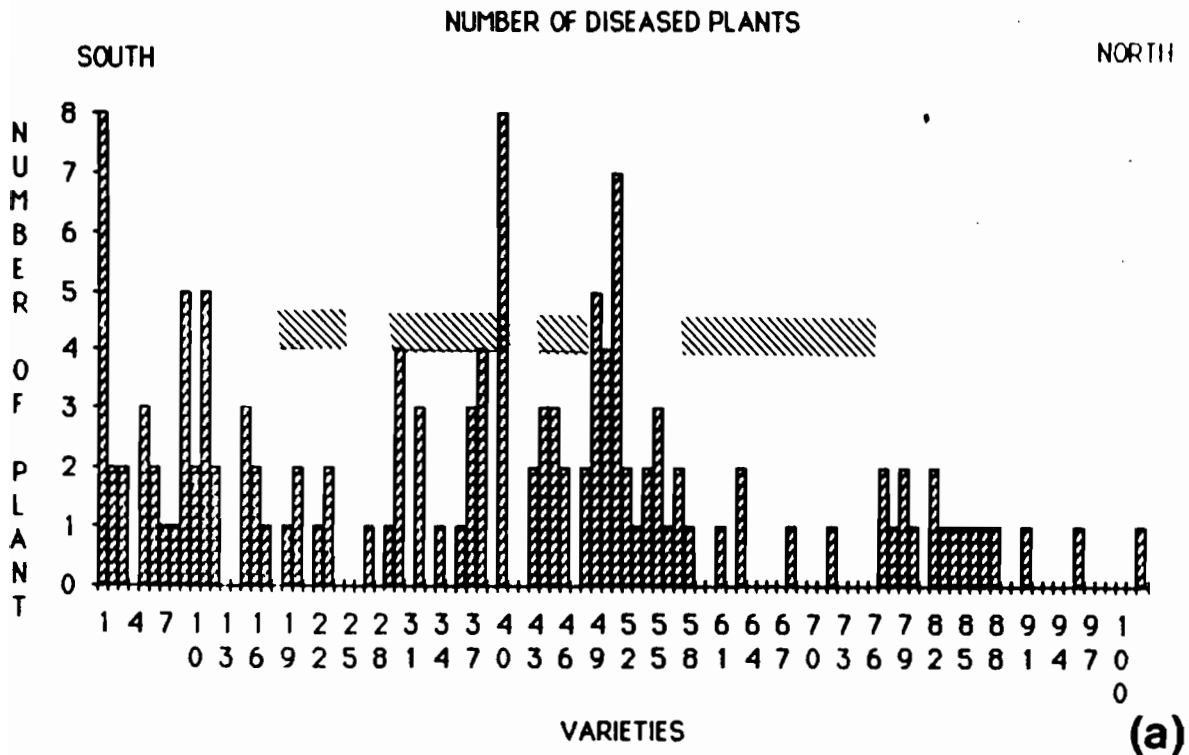
D

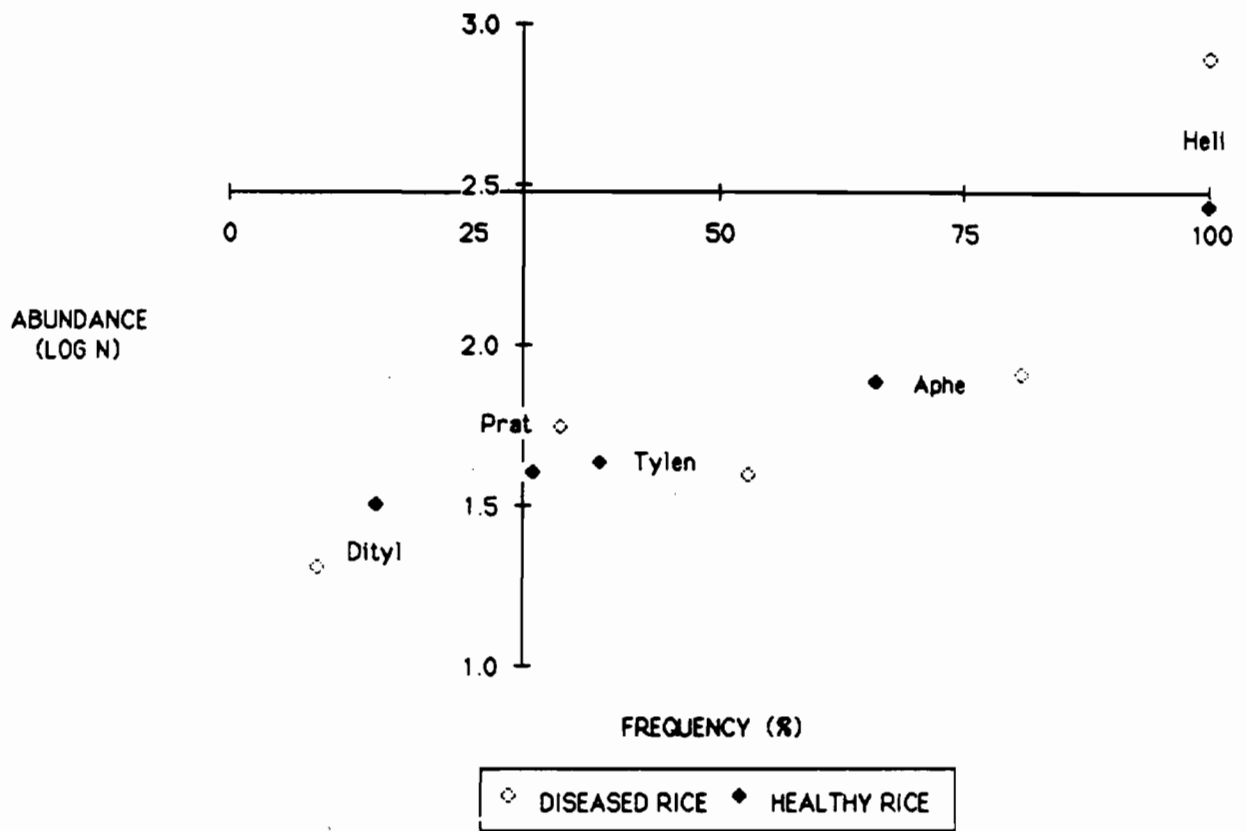


E



F





1.4.3.2. POTEXVIRUS

FAUQUET, C., THOUVENEL, J.-C. & FARGETTE, D. (1985). Une nouvelle maladie virale de l'arachide en Côte d'Ivoire : la maladie des taches chlorotiques de l'arachide. C. R. Acad. Sc. Paris, (sous presse).

VIROLOGIE - Une nouvelle maladie virale de l'arachide en Côte d'Ivoire : la maladie de la moucheture chlorotique de l'arachide.

Note de Claude FAUQUET, Jean-Claude THOUVENEL et Denis FARGETTE, présentée par Léon HIRTH.

Une nouvelle maladie virale de l'arachide a été identifiée en Côte d'Ivoire. Sa gamme d'hôtes, ses propriétés biologiques, une méthode de purification et quelques propriétés sont décrites. Il s'agit d'un virus filamenteux de 456 nm de longueur et de 13 nm de diamètre. Ce virus est très aisément transmissible par pucerons et par inoculation mécanique. Les symptômes qu'il provoque sur arachide, sa gamme d'hôtes, et ses caractéristiques morphologiques nous font penser qu'il s'agit du premier potexvirus isolé sur arachide et en Afrique. Nous proposons donc de le nommer: le virus de la moucheture chlorotique de l'arachide (groundnut chlorotic spotting virus - GCSV).

A new viral disease of groundnut in Ivory Coast, the Groundnut Chlorotic Spotting Virus.

A new viral disease of groundnut has been identified in Ivory Coast. Its host range, biological properties, transmission mode, purification method and some other properties are described. It is a filamentous virus of 456 nm in length and 13 nm in width. The virus is easily transmissible by aphids and by sap inoculation. the symptoms on groundnut, its host-range, its morphological properties leads us to conclude to the identification of the first potexvirus on groundnut and in Africa. We propose, because of the characteristics symptoms, to name it groundnut chlorotic spotting virus (GCSV).

INTRODUCTION

Depuis 1968, dans le cadre du programme du laboratoire de Phytovirologie de l'ORSTOM en Côte d'Ivoire: Inventaire des maladies virales des plantes cultivées en Côte d'Ivoire (1), nous avons été amenés à identifier plusieurs maladies virales de l'arachide (2), et nous en avons tout récemment identifié une nouvelle. Les symptômes caractéristiques de cette maladie sont les suivants: petites taches chlorotiques, chlorose, panachure, taches en anneaux, arabesques, et taches vert-foncé sur les vieilles feuilles. La plante malade a une taille légèrement réduite par rapport à une plante saine, mais en champs on peut facilement repérer les plantes virosées par leur aspect chlorotique. Pour le moment, bien que les symptômes soient assez forts et puissent induire des pertes importantes sur la production des plants atteints, il ne semble pas que cette maladie présente un caractère de gravité pour la la culture de l'arachide en raison de la faible fréquence de plantes virosées. Bien que la symptomatologie soit assez comparable à celle d'autres maladies virales décrites sur arachide, il apparait à l'étude des autres propriétés décrites dans cette note qu'il s'agit d'un nouveau virus du groupe des potexvirus que nous proposons de nommer: le virus de la moucheture chlorotique de l'arachide (groundnut chlorotic spotting virus - GCSV).

MATERIEL ET METHODES

L'inoculum originel provient d'arachides naturellement infectées et prélevées dans différentes régions du nord de la Côte d'Ivoire.

1- Transmission

a) Transmission mécanique - Les feuilles de plantes malades sont broyées dans différents tampons, à raison de 5ml de tampon pour 1g de feuilles: soit dans de l'eau distillée à pH 5,5, soit dans du tampon phosphate de potassium 0,01 M pH 7, contenant 0,01 M de chlorhydrate de cystéine, soit dans du tampon borate de sodium 0,05 M pH 8 contenant 0,4% de mercapto-éthanol. Le broyat est inoculé par frottement sur des feuilles de plantules de différentes espèces de plantes, préalablement saupoudrées de carborundum n° 400. Les plantes sont maintenues à l'abri des insectes dans des serres "insect-proof" et soumises aux conditions climatiques naturelles (température moyenne 32°C et humidité moyenne 90%).

b) Transmission par pucerons - Deux espèces de pucerons ont été utilisées: *Aphis spiraeicola* Patch (récolté sur *Eupatorium odoratum*) et *Aphis craccivora* Koch (récolté sur arachide). Après un jeûne de 2 h. et un repas d'acquisition variant de 5 mn à 24 h. sur des arachides malades, les pucerons sont transférés sur de jeunes plantules saines, à raison de 1; 5 ou 10 individus par plantule et ils sont éliminés par pulvérisation d'insecticide après 48 h.

2 - Propriétés biologiques

Les propriétés biologiques ont été déterminées à l'aide d'un broyat de feuilles d'arachides malades inoculées 10 jours auparavant, et présentant de très forts symptômes. Ce broyat est réalisé avec du tampon d'inoculation (phosphate de potassium 0,01 M pH 7) qui est ajouté aux feuilles d'arachide à raison de 1 ml/1 g de feuilles.

La détermination du pouvoir infectieux a été effectuée en inoculant de jeunes plantules d'arachide âgées de 10 jours. La méthode de Raymer et Diener (3) a été utilisée pour estimer le pouvoir pathogène.

Le point de dilution limite a été déterminé en diluant l'extrait brut dans de l'eau distillée (3).

Le point de thermo-inactivation a été déterminé en testant le pouvoir infectieux de 2 ml d'extrait brut dilué de moitié par du tampon d'inoculation (phosphate de potassium 0,01 M pH 7), après chauffage pendant 10 mn à différentes températures (3).

La conservation du pouvoir infectieux *in-vitro* a été déterminée en inoculant périodiquement de jeunes plantules d'arachide, avec de l'extrait brut dilué de moitié avec du tampon phosphate de potassium 0,01 M pH 7 et conservé dans différentes conditions; à la température ambiante (24°C), au réfrigérateur (4°C) ou au congélateur (-25°C).

3 - Purification

Les feuilles d'arachides ou de tabacs infectés sont broyées, à raison de 5 ml de tampon pour 1 g. de feuilles, dans du tampon borate de sodium 0,5 M pH 8 contenant 0,4% de mercapto-éthanol et 0,4% d'acide thioglycolique. Après 2 mn de broyage au froid (0°C), le mélange est clarifié par du chloroforme, à raison de 1 ml de chloroforme pour 2 ml de broyat. Après une centrifugation de 10 mn à 10 000 g, le surnageant est ultracentrifugé pendant 3 h à 78 000 g. Les culots sont repris dans du tampon borate de sodium 0,05 M pH 8, dans le dixième du volume de broyage. Après une courte centrifugation à 10 000 g, cette suspension est ultracentrifugée pendant 1 h à 160 000 g, les culots sont repris dans du tampon borate de sodium 0,05 M pH 8 et purifiés à l'aide d'un gradient de saccharose 10-40% (dans du tampon borate de sodium 0,05 M pH 8) pendant 3 h à 90 000 g, à la température de 4°C. Les tubes de gradient sont ensuite récoltés par fractionnement et les fractions correspondant à la bande opalescente ayant en ultra-violet une absorption caractéristique d'un virus, sont rassemblées, diluées 3 fois et concentrées par ultracentrifugation pendant 1 h à 160 000 g. Le culot de virus ainsi purifié est repris dans du tampon borate 0,05 M pH 8.

4 - Microscopie électronique

Une suspension de virus purifié, de 0,1 mg/ml est déposée sur une grille de microscopie électronique recouverte d'un film de Formvar et carbonée. Les particules sont ensuite colorées négativement avec de l'acétate d'uranyle 0,4%. Les observations ont été réalisées au GERME en Côte d'Ivoire (Groupement d'Etude et de Recherche en Microscopie Electronique) à l'aide d'un microscope Siemens Elmiskop 102.

5 - Sérologie

Un antisérum a été préparé en injectant du virus purifié à un lapin, à raison de 1 mg par semaine, pendant 3 semaines. Les deux premières injections ont été intraveineuses et la dernière intramusculaire. Le lapin est ensuite saigné 1 fois par semaine pendant 10 semaines et le sérum est récupéré après coagulation à température ambiante. Les tests sérologiques ont été effectués par microprécipitation sous huile de paraffine (4).

RESULTATS

1 - Transmission

a) Transmission mécanique - La maladie est très facilement transmissible mécaniquement à de jeunes plantules d'arachide, en reproduisant exactement les mêmes symptômes que ceux observés en champs, et ceci 7 jours après inoculation. Tous les tampons essayés donnent de bons résultats, même l'eau permet une bonne transmission. Les premiers symptômes sont de petites taches chlorotiques très nombreuses sur les très jeunes feuilles (fig.1), celles-ci sont comparables à celles provoquées par le groundnut chlorotic spot virus (5). Ces taches, par anastomose, provoquent une chlorose intense des premières feuilles virosées en ne laissant subsister que de petites taches vert-foncé (fig. 2). En vieillissant ces feuilles restent chlorotiques et présentent une panachure comparable à celle du peanut mottle virus (PMV)(6,7). Par la suite les nouvelles feuilles sont beaucoup moins chlorosées et

montrent des taches ocellées ou en anneaux (fig. 3) assez comparables à celles que provoque le groundnut eyespot virus (GEV)(8) ou le groundnut ringspot virus (9,10), mais avec des anneaux concentriques plus spécifiques qui, selon les taches, évoluent en arabesques (fig. 4) et enfin certaines feuilles montrent des taches vertes à la base des folioles (fig. 5) qui rappellent également certaines souches de GEV.

La maladie a pu être également transmise à quelques plantes des familles suivantes: Solanaceae: *Physalis floridana* (mosaïque verte), *Nicotiana megalosiphon* (moucheture, chlorose), *Nicotiana benthamiana* (déformation, prolifération); Chenopodiaceae: *Chenopodium amaranticolor* (lésions locales nécrotiques rouges).

Par contre les hôtes à réponse négative sont très nombreux : Apocynaceae: *Vinca rosea*; Cucurbitaceae: *Cucumis sativus*; Leguminosae: *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformis*, *Cassia occidentalis*, *Centrosema pubescens*, *Cyanopsis tetragonoloba*, *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris*, *Psophocarpus tetragonolobus*, *Vigna sinensis*, *Vigna unguiculata*, *Voandzeia subterranea*; Malvaceae: *Hibiscus esculentus*; Scrophulariaceae: *Torenia fournieri*; Solanaceae: *Capsicum annum*, *Capsicum frutescens*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana clelandii* x *N. glutinosa*, *N. glutinosa*, *N. sylvestris*, *N. tabacum Samsun NN*, *Xanthi et Xanthi nécroticum*.

b) Transmission par puceron - La maladie a pu être transmise à 100% par les deux espèces de pucerons testées, même avec seulement un repas d'acquisition de 5 mn et avec seulement 5 pucerons par plante. Il s'agit donc d'une transmission de type non persistant.

2 - Propriétés biologiques

Le point de dilution limite est entre 10^{-5} et 10^{-6} ; la température de thermo-inactivation se situe entre 55 et 60°C; à 24°C le virus résiste moins de 5 jours, à 4°C il est infectieux pendant 14 jours, et à -25°C le pouvoir infectieux se conserve plusieurs mois.

3 - Purifications

Le rendement de la méthode de purification varie entre 0,1 et 20 mg/kg de feuilles d'arachides, suivant l'âge des feuilles et les conditions de multiplication et entre 0,2 et 40 mg/kg de feuilles de tabac. Le virus est hautement infectieux, puisqu'une suspension virale de 0,08 unité de densité optique à 260 nm est encore très infectieuse sur arachide, *C. amaranticolor* et *N. benthamiana*. Il faut noter que sur gradient de saccharose, lorsque la purification est faite à partir d'arachide, il y a, de haut en bas, deux bandes correspondant à des acides nucléiques non infectieux, puis une bande énorme de phytoferritine et enfin une bande de virus, qui dans les conditions expérimentales définies ci-dessus à une R_f de 0,6 à partir du ménisque.

Le spectre d'absorption du virus présente un maximum à 260 nm et un minimum à 247 nm. Le rapport A_{260}/A_{280} est de 1,27 et le rapport A_{Max}/A_{min} est de 1,08. Ces rapports indiquent selon la méthode graphique de Paul (11) une teneur en acide nucléique de 7,5% et selon Gibbs et Harrison (12) un coefficient d'extinction de 3,0.

4 - Microscopie électronique

L'observation en microscopie électronique du virus purifié montre la présence de particules filamenteuses (fig. 7) de 456 ± 22 nm de longueur et de 13 ± 1 nm de diamètre. Ces paramètres ont été déterminés sur 719 particules mesurées. Il est à noter que ce virus a la particularité de se gonfler et il peut présenter de spectaculaires déformations (fig. 8) apparemment sans destruction de la structure hélicoïdale.

5 - Sérologie

Un antisérum de titre 1/512 a été préparé. Le virus a été testé contre les antisérum cités ci-dessous, le titre et l'origine sont donnés pour chaque antisérum entre parenthèses: Groundnut Eyespot Virus (1/2048; Dr Dubern), Groundnut Eyespot Virus souche B (1/1024; Dr Dubern), Peanut Mottle Virus (1/8192; Dr Bock), Peanut Mottle Virus souche M2 (1/256; Dr Bock), Peanut Mottle Virus souche Cassia (1/8192; Dr Bock), Peanut Mottle Virus souche Voandzeia (1/8192; Dr Bock), Peanut Mottle Virus souche Phaseolus (1/8192; Dr Bock), Peanut Mottle Virus souche India (1/800; Dr Reddy), Peanut Green Mottle Virus (1/300; Dr Reddy), Pepper Veinal Mottle Virus souche Ghana (1/4096; Dr De Wijs), Pepper Veinal Mottle Virus souche RCI (1/512; Dr Thouvenel), Cactus Virus X (1/1024; Dr Koenig), Clover Yellow Mosaic Virus (?; Dr Stace-Smith), Cymbidium Mosaic Virus (1/128; Dr Koenig), Dioscorea Latent Virus (1/4000; Dr Waterworth), Narcissus Mosaic Virus (1/1024; Dr Koenig), Papaya Mosaic Virus (1/512; Dr Koenig), Potato Virus X (1/512; Dr Koenig), White Clover Mosaic Virus (1/512; Dr Paul), White Clover Mosaic Virus (1/256; Dr Koenig). Aucune réaction sérologique spécifique n'a été obtenue entre ces antisérum et le virus isolé de l'arachide en Côte d'Ivoire.

CONCLUSION

Nous avons isolé un virus filamenteux sur arachide qui, par ses caractéristiques morphologiques ne peut être qu'un potexvirus (13). A ce jour aucun potexvirus n'a été décrit sur arachide, que ce soit comme hôte naturel ou artificiel (2,14). Parmi tous les membres du groupe des potexvirus aucun ne possède la gamme d'hôtes que nous avons établi, même sans considérer l'arachide (14). Ce virus isolé de l'arachide possède la majeure partie des caractéristiques du groupe des potexvirus, à savoir: morphologie (bien que ce soit un des virus les plus courts de ce groupe jamais décrits(15)), transmission mécanique aisée, gamme d'hôtes très peu étendue (5 espèces dans 3 familles), virus très infectieux et assez résistant aux conditions de conservation, virus en concentration relativement importante dans les feuilles, et caractéristiques spectrales. Par contre si tous les membres du groupe des potexvirus n'ont pas de vecteurs connus, ce virus de l'arachide est très facilement transmissible par pucerons sur le mode non persistant comme d'ailleurs plusieurs virus candidats pour le groupe des potexvirus (16,17,18 et 19). L'absence de relations sérologiques avec les potexvirus cités ci-dessus n'est pas non plus une exception dans ce groupe (15). Toutes les raisons énoncées ci-dessus nous portent à croire que nous avons identifié un nouveau virus du groupe des potexvirus et nous proposons de le nommer: virus de la moucheture chlorotique de l'arachide (groundnut chlorotic spotting virus - GCSV).

- (1) - C. FAUQUET & J-C. THOUVENEL, Initiations Documentations Techniques n° 46, 1980, ORSTOM, Paris, 128p.
- (2) - J. DUBERN, Phytopath. Z., 96, 1979, p. 193-207.
- (3) - W.B. RAYMER & T.O. DIENER, Virology, 37, 1968, p. 343-350.
- (4) - D.H.M. VAN SLOGTEREN, Proc. 2nd Conference Potato Virus Disease, Lisse-Wageningen, 1954, p. 51.
- (5) - T. HARAGOPAL & M.V. NAYUDU, Phytopath. Z., 71, 1971, p. 33-41.
- (6) - K.R. BOCK & C.W. KUHN, CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses, n° 141, 1975, 4p.
- (7) - D.V.R. REDDY, N. IZUKA, A.M. GHANEKAR, V.K. MURTHY, C.W. KUHN, R.W. GIBBONS, et J.S. CHOHAN, Plant Disease Repr., 62, 11, 1978, p. 978-982.
- (8) - J. DUBERN & M. DOLLET, Ann. appl. Biol., 96, 1980, p. 193-200.
- (9) - C.W. KUHN, R.O. HAMMONS, et G. SOWELL, Plant Disease Repr., 48, 1964, p. 729-732.
- (10) - P.J. KLESSER, South Afric. J. agric. Sci., 9, 1966, p. 711-720.
- (11) - H.L. PAUL, Z. Natur.forsch., 14b, 1959, p. 427.
- (12) - A.J. GIBBS & B.D. HARRISON, Plant Virology. The Principles, 1976, E. ARNOLD, éd. London, 292 p.
- (13) - R.E.F. MATTHEWS, Intervirology, 12, 1979, p. 132-296.
- (14) - D.E. PURCIFULL & J.R. EDWARDSON, Potexviruses in Handbook of Plant Virus Infections and Comparative Diagnosis, 1981, E. KURSTAK, éd., Amsterdam, p. 627-693.
- (15) - R. KOENIG & D.E. LESEMANN, CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses, n° 200, 1978, 4p.
- (16) - R.W. GOTH, Phytopathology, 52, 1962, p. 1228.
- (17) - R.J. VAN VELSEN & N.C. CROWLEY, Austr. J. Agric. Res., 13, 1962, p. 220-232.
- (18) - B. KASSANIS & D.A. GOVIER, CMI/AAB. Description of Plant Viruses, n° 98, 1972, 4p.
- (19) - J.A. FROWD & J.A. TOMLINSON, Ann. appl. Biol., 72, 1972, p. 177-188.

EXPLICATIONS DE LA PLANCHE

Fig. 1 - Symptômes systémiques de taches chlorotiques sur jeunes feuilles d'arachide, provoqués par le virus de la moucheture chlorotique de l'arachide.

Chlorotic spots systemic symptoms induced by the groundnut chlorotic spotting virus on young leaves of groundnut.

Fig. 2 - Symptômes systémiques de panachure sur jeunes feuilles d'arachide, provoqués par le virus de la moucheture chlorotique de l'arachide.

Mottle systemic symptoms induced by the groundnut chlorotic spotting virus on young leaves of groundnut.

Fig. 3 - Symptômes systémiques de taches en anneaux sur jeunes feuilles d'arachide, provoqués par le virus de la moucheture chlorotique de l'arachide.

Ringspot systemic symptoms induced by the groundnut chlorotic spotting virus on young leaves of groundnut.

Fig. 4 - Symptômes systémiques d'arabesques sur jeunes feuilles d'arachide, provoqués par le virus de la moucheture chlorotique de l'arachide.

Line pattern systemic symptoms induced by the groundnut chlorotic spotting virus on young leaves of groundnut.

Fig. 5 - Symptômes systémiques de taches vert-foncé sur vieilles feuilles d'arachide, provoqués par le virus de la moucheture chlorotique de l'arachide.

Green vein banding systemic symptoms induced by the groundnut chlorotic spotting virus on old leaves of groundnut.

Fig. 6 - Feuille saine d'arachide.

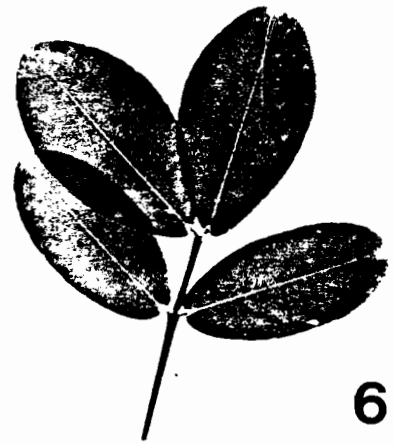
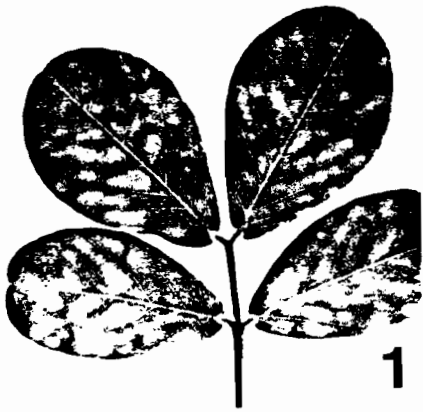
Healthy leaf of groundnut.

Fig. 7 - Aspect en microscopie électronique d'une préparation purifiée du virus de la moucheture chlorotique de l'arachide, après coloration négative à l'acétate d'uranyle (grandissement 75 000). La barre représente 100 nm.

Electron microscope preparation of purified groundnut chlorotic spotting virus, negatively stained with uranyl acetate (magnification 75 000). Bar represents 100 nm.

Fig. 8 - Aspect en microscopie électronique de particules gonflées du virus de la moucheture chlorotique de l'arachide, après coloration négative à l'acétate d'uranyle (grandissement 75 000). La barre représente 100 nm.

Electron microscope preparation of swollen particles of groundnut chlorotic spotting virus, negatively stained with uranyl acetate (magnification 75 000). Bar represents 100 nm.



1.4.3.3. CARLAVIRUS

Isolation of Cowpea Mild Mottle Virus from Diseased Soybeans in the Ivory Coast

J. C. THOUVENEL, A. MONSARRAT, and C. FAUQUET, Laboratoire de Virologie, Centre d'Adiopodoumé, Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, B.P. V 51, Abidjan, Côte d'Ivoire

ABSTRACT

Thouvenel, J. C., Monsarrat, A., and Fauquet, C. 1982. Isolation of cowpea mild mottle virus from diseased soybeans in the Ivory Coast. *Plant Disease* 66:336-337.

A virus isolated from soybeans showing severe mosaic was identified as an isolate of cowpea mild mottle virus.

Soybean (*Glycine max* L. Merr.) is a recent introduction in the Ivory Coast. Great development of this crop is planned and numerous cultivars have been tested since 1972. During summer 1978, plants showing mosaic and crinkling of leaves were observed in experimental plots of the Ecole Nationale Supérieure Agronomique near Abidjan (southern Ivory Coast); similar symptoms were observed in fields near Bouake (central Ivory Coast). Characterization of an associated virus that appears to be an isolate of cowpea mild mottle virus (2,3) is reported here.

MATERIALS AND METHODS

Inoculum for mechanical transmission tests was sap from leaves of diseased soybean that were ground in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.1, containing 0.02 M cystein hydrochloride. Test plants were grown in insect-proof glasshouses under local climatic conditions (mean temperature of 28 C, average relative humidity 90%).

The aphids *Aphis craccivora* Koch and *A. spiraecola* Patch were used in transmission tests. Insects were starved for 2-4 hr, then allowed an acquisition access of about 15 min on diseased leaves of soybean and an inoculation access period of 1-3 days on healthy seedlings of soybean (10 insects per plant).

Thermal inactivation point, dilution end point, and aging in vitro were determined according to the methods of Bos et al (1) using crude sap from diseased soybeans and soybean seedlings as test plants.

For purification of the virus, leaves of infected soybean were ground in 0.2 M potassium phosphate buffer, pH 7.8, containing 1% thioglycolic acid (1 g/2 ml); chloroform was added during the

grinding (1/2 vol). The moisture was centrifuged for 10 min at 10,000 g and the supernatant was centrifuged at 78,000 g for 120 min. Pellets were resuspended in 0.05 M borate buffer, pH 8, containing 0.2% Triton X 100 (1/10 of the initial volume). After removal of the insoluble material by centrifugation for 10 min at 10,000 g, the virus was sedimented through a 2-cm-deep layer of 20% sucrose in the SW 27 rotor (95,000 g for 150 min). The pellets were resuspended in the same borate buffer (2% of the initial volume) and further purified by sucrose density gradient centrifugation (10-40% in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.5). An opalescent virus band was collected, diluted with water, and centrifuged 150 min at 78,000 g before being resuspended in borate buffer, pH 8.

For electron microscopy, virus preparations were stained with 2% aqueous uranyl acetate and observed with a Siemens Elmiskop 102 at the Groupe d'Etude et de Recherches en Microscopie Electronique at Adiopodoumé.

The molecular weight of coat protein was determined by electrophoresis in 7.5, 10, and 12.5% polyacrylamide-sodium dodecyl sulfate gels using the procedure of Weber and Osborne (6). Phosphoglycerate kinase (mol wt 47,000), alcohol dehydrogenase (35,000), carbonic anhydrase (31,000), trypsin inhibitor from soybean (21,000), and lysozyme (14,300) were used as standards.

Antiserum was prepared in rabbits by six weekly intravenous injections of about 1 mg of purified virus. The microprecipitin reaction under paraffin oil in petri dishes was used for serologic tests (5).

RESULTS

Symptomatology and host range. Naturally infected soybeans were stunted and showed a light green mosaic. On inoculated soybean seedlings, vein-clearing evolving into yellow mosaic with occasional crinkling developed on youngest leaves 9-12 days after inoculation (Fig. 1); inoculated plants were reduced in size compared with healthy plants.

The virus was readily transmitted by mechanical inoculation as follows: Amaranthaceae: *Gomphrena globosa* L. (mottle); Chenopodiaceae: *Beta vulgaris* L., *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn., *C. quinoa* Willd., and *C. foetidum* Schrad. (chlorotic local lesions); Leguminosae: *Arachis hypogaea* L. (mild crinkling), *Cajanus cajan* Millsp. (chlorosis), *Canavalia ensiformis* DC. (mosaic and crinkling), *Crotalaria usaramoensis* Bak. (chlorosis), *Glycine max* (mosaic), *Phaseolus lathyroides* L. (mosaic), *P. lunatus* L. (chlorosis), *P. mungo* L. (chlorosis), *P. vulgaris* L. (chlorotic spots), *Pisum sativum* L. (chlorosis), *Psophocarpus tetragonolobus* DC. (mottle), *Vigna cylindrica* Skeels (mosaic), *V. sinensis* Savi (mosaic), *V. unguiculata* Walp. (mosaic), and *Voandzeia subtterranea* Thouars (light mosaic); Pedaliaceae: *Sesamum indicum* L. (chlorotic spots); Scrophulariaceae: *Penstemon hirsutus* Willd. (chlorosis); Solanaceae: *Browallia demissa* L. (chlorosis), *B. speciosa* Hook. (chlorosis), *Nicotiana clevelandii* Gray (chlorosis), *N. megalosiphon* Arg. (mottle), and *Solanum carolinense* L. (chlorosis).

Transmission. The virus was not transmitted by *A. craccivora* (0/100) nor by *A. spiraecola* (0/100) from soybean to soybean.

The virus was seedborne in *G. max* cvs. Jupiter (1/200) and Santa Rosa (5/60).

In vitro properties. The dilution end point of the virus was between 10^{-4} and 10^{-5} ; the thermal inactivation point was between 65 and 70 C; and infectivity was retained for 2 days at 25 C, 28 days at 4 C, and more than 2 mo at -20 C.

Purification and virus properties. Based on the extinction coefficient $E_{260}^{0.1\%}$



Fig. 1. Symptoms of mosaic on soybean leaf.

Accepted for publication 26 November 1981.

The publication costs of this article were defrayed in part by page charge payment. This article must therefore be hereby marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. § 1734 solely to indicate this fact.

0191-2917/82/04033602/\$03.00/0
©1982 American Phytopathological Society

336 Plant Disease/Vol. 66 No. 4

= 2.1 for cowpea mild mottle virus (2), average yields of purified virus were 15–20 mg/kg of leaf tissue. When the previously described procedure (2) was used, yields were less than 5 mg/kg of leaf tissue. Ultraviolet absorption spectrum of purified virus showed a maximum at 260 nm and a minimum at 247 nm, with an A_{260}/A_{280} ratio of 1.15 (without correction for light scattering).

Electron micrographs of purified virus preparations showed rod-shaped particles 635 ± 20 nm in length (based on 260 particles). Preparations of virus protein gave a single component with estimated molecular weight of $33,000 \pm 1,000$.

Serology. Antiserum against the virus reacted with purified virus to a titre of 1,024. Purified virus reacted with two antisera to cowpea mild mottle virus (homologous titres 1/2,048 and 1/4,096) at dilutions to 1/1,024 and 1/2,048 (respectively) and with an antiserum to

groundnut crinkle virus (titre unknown) (4) to 1/128.

DISCUSSION

Based on similarities in host range, symptomatology, virus properties, and serologic relationships, the virus isolated from soybean in the Ivory Coast appeared to be an isolate of the cowpea mild mottle virus described in Ghana by Brunt and Kenten (2,3).

The soybean isolate infected *Nicotiana megalosiphon*, which was not infected by the cowpea isolate from Ghana (2). Other new hosts were *Browallia demissa*, *B. speciosa*, *Solanum carolinense*, *Sesamum indicum*, and *Penstemon hirsutus*.

The method of purification developed for the soybean isolate yielded 15–20 mg of virus, which is considerably higher than yields obtained using previously described methods (2).

ACKNOWLEDGMENTS

We are indebted to A. A. Brunt and K. R. Bock for providing antisera. We thank I. Hirth for suggestions during this work.

LITERATURE CITED

1. Bos, L., Hagedorn, D. J., and Quantz, L. 1960. Suggested procedures for international identification of legume virus. Tijdschr. Plantenziekten, 66:328-343.
2. Brunt, A. A., and Kenten, E. H. 1973. Cowpea mild mottle—A newly recognized virus infecting cowpeas (*Vigna unguiculata*) in Ghana. Ann. Appl. Biol. 74:67-74.
3. Brunt, A. A., and Kenten, R. H. 1974. Cowpea mild mottle virus. Descriptions of Plant Viruses, No. 140. Commonw. Mycol. Inst. Assoc. Appl. Biol. Kew, Surrey, England, 4 pp.
4. Dubern, J., and Dollet, M. 1979. Groundnut crinkle, a new virus disease observed in Ivory Coast. Phytopathol. Z. 95:279-283.
5. Van Slogteren, D. H. M. 1955. Serologic microreactions with plant viruses under paraffin oil. Pages 51-54 in: Proc. Conf. Potato Virus Dis., 2nd. Lisse-Wageningen, 1954.
6. Weber, K., and Osborn, M. 1969. The reliability of molecular weight determination by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. J. Biol. Chem. 244:4406-4412.

1.4.3.4. POTYVIRUS

VIROLOGIE. — Une mosaïque de l'igname (*Dioscorea cayenensis*) causée par un virus filamenteux en Côte-d'Ivoire. Note (*) de **Jean-Claude Thouvenel** et **Claude Fauquet**, présentée par M. Roger Gautheret.

Un virus filamenteux est à l'origine d'une mosaïque de l'igname qui affecte la presque totalité des *Dioscorea cayenensis* en Côte-d'Ivoire. Ce virus n'a pu être transmis qu'à des Dioscoreacées. La présente Note rapporte les propriétés biologiques de ce virus, les essais de purification, les observations en microscopie électronique de l'agent causal, ainsi que la transmission par aphides. Ce virus semble être un nouveau virus.

A filamentous virus causes a yam mosaic that attacks almost all Dioscorea cayenensis in Ivory Coast. It was possible to transmit this virus only to Dioscoreaceae. This paper reports the biological properties of the virus, the clarification and purification tests, the electron microscope observations and the aphid transmission. This virus seems to be a new virus.

INTRODUCTION. — L'igname est une plante vivrière largement cultivée dans toute la Côte-d'Ivoire. Depuis très longtemps, plusieurs types de symptômes attribués à des viroses y avaient été signalés [(¹), (²)]. L'espèce la plus atteinte est *Dioscorea cayenensis* dont certaines variétés sont en voie de disparition totale, les pieds atteints ne produisant plus que de petits tubercules inutilisables pour la multiplication.

Suivant la localisation géographique, l'espèce, la variété et l'état physiologique des Ignames malades, les symptômes sont extrêmement variables : éclaircissement le long des nervures, cloques, mosaïque ou tacheture, déformation des feuilles et parfois rabougrissement de la plante (*fig. 1*).

Nous avons cherché à déterminer la nature de l'agent pathogène. L'ensemble des observations et des faits suggère que ce dernier pourrait être un virus. Nous apportons la preuve dans cette Note que c'est bien le cas.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — Toutes les expériences sont effectuées à partir de feuilles de *D. cayenensis* présentant des symptômes et prélevées sur des plantes cultivées dans la basse Côte-d'Ivoire. Les expériences de transmission sont réalisées sur des plantules de *Dioscorea sp.* âgées de 6 semaines obtenues à partir de graines et cultivées en serre à l'abri des Insectes (température moyenne 28°C et humidité moyenne 90 %).

1° Transmission végétative.

(a) Transmission par le tubercule : les tubercules, provenant de 50 plants d'igname inoculés mécaniquement et ayant montré les symptômes caractéristiques, sont plantés en terre stérile et conservés en serre, à l'abri des Insectes.

(b) Transmission par la graine : les graines, prélevées en champ sur des *D. cayenensis* malades, sont mises à germer dans de la terre stérile, en serre.

2° Transmission par les Insectes.

Les expériences de transmission ont été réalisées avec plusieurs espèces d'Insectes, de plantule malade à plantules saines, suivant la méthode de Swenson (³). Les plantules sont ensuite isolées sous des cages pour éviter toute contamination ultérieure.

3° Transmission mécanique.

Le broyat de feuilles de *D. cayenensis* malades dans du tampon phosphate de potassium 0,1 M; pH 7,1 contenant 0,01 M de chlorhydrate de cystéine, 0,5 % de charbon actif et 0,25 % de bentonite (10 ml de tampon par gramme de feuilles), est inoculé sur de jeunes feuilles de plantules d'igname préalablement saupoudrées de carborundum.

4° Propriétés biologiques des extraits infectieux.

Elles sont déterminées sur plantule d'Igname obtenue à partir de graine et âgée de 6 semaines.

Le point de dilution limite a été effectué en diluant l'extrait brut dans le tampon utilisé pour les inoculations.

Le point de thermo-inactivation a été déterminé en éprouvant le pouvoir infectieux de 2 ml de l'extrait brut utilisé pour les inoculations, après chauffage pendant 10 mn à différentes températures.

La conservation du pouvoir infectieux *in vitro* a été déterminée en éprouvant périodiquement l'infectivité de l'extrait brut conservé dans différentes conditions; à la température ambiante (25°C), au réfrigérateur (4°C), au congélateur (-20°C).

5° Purification partielle.

Les feuilles d'Igname malade sont congelées et broyées dans du tampon phosphate 0,1 M; pH 7,1 contenant 0,01 M de chlorhydrate de cystéine, 0,5 % de charbon actif, 0,25 % de bentonite et 1 % d'ovalbumine. Le broyage se fait à raison de 20 ml de tampon pour 1 g de feuilles.

Après passage sur étamine, l'extrait est centrifugé 10 mn à 3 000 g. Le surnageant est additionné d'un volume de chloroforme, et, après agitation, l'émulsion est centrifugée 10 mn à 3 000 g.

6° Microscopie électronique.

Des grilles de microscopie électronique sont préparées avec de l'extrait purifié, colorées négativement avec de l'acétate d'uranyle 0,5 %, tamponné à pH 7, et observées à l'aide d'un microscope « Siemens Elmiskop 101 ».

7° Sérologie.

L'extrait clarifié a été éprouvé contre certains antisérum suivant la méthode de Van Slogteren (*), utilisant la microprécipitation sous huile de paraffine.

RÉSULTATS. — (a) Transmission mécanique : la transmission a été effectuée avec succès vers différentes variétés de *D. cayenensis* (Krenglé, Sopolé, B 8, A 11, B 6, B 6 HT, Bondoukou, 149 ex Dschang 106) ainsi que vers *D. preusii* et *D. liebrechtsiana*. Elle n'a pu être effectuée vers *D. bulbifera*, *D. composita* et *D. floribunda*. Elle a également échoué vers les plantes d'autres familles que les Dioscoracées.

Les symptômes qui apparaissent sur les plantes inoculées mécaniquement sont extrêmement variés sur une même plante, forte mosaïque, taches vertes, cloques, boursouffures et panachures (fig. 2).

(b) Transmission par le tubercule : les 50 tubercules provenant de plants malades ont tous produit des plantules malades présentant les symptômes caractéristiques de la virose.

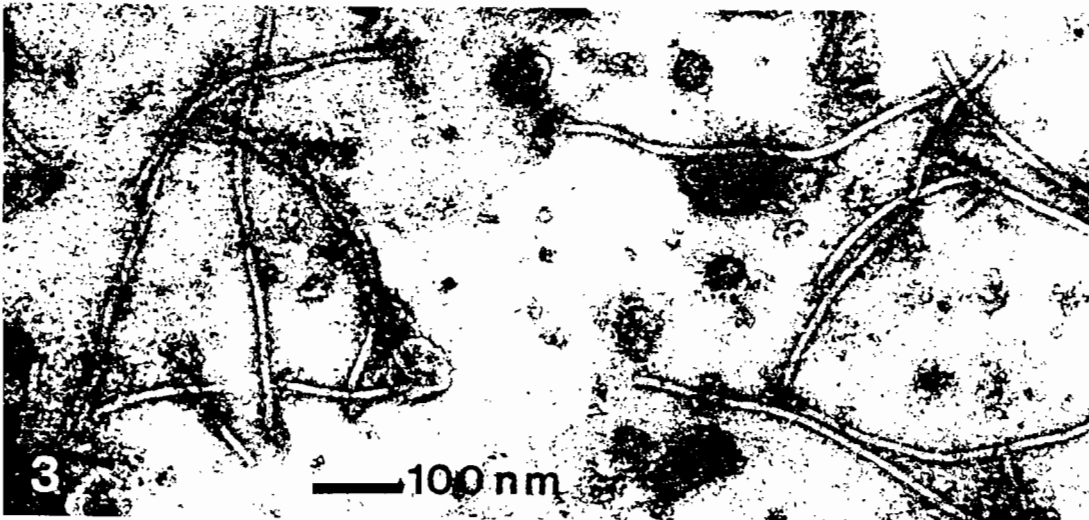
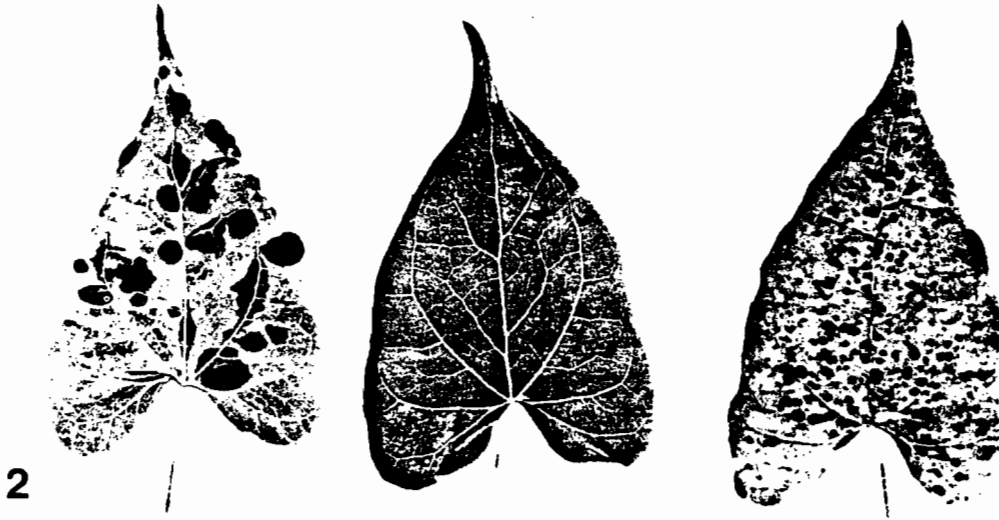
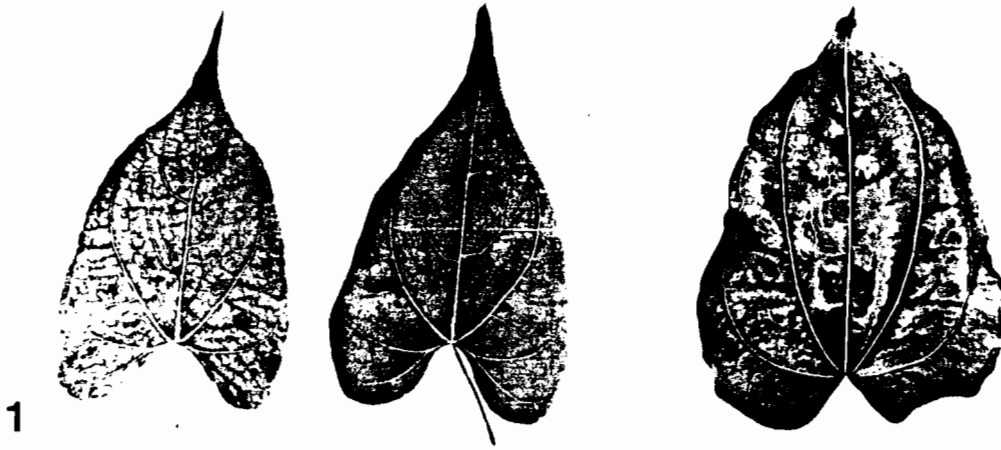
(c) Transmission par la graine : aucune des 2 700 plantules produites à partir des graines mises à germer dans les conditions décrites ci-dessus, n'a montré de symptôme.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Fig. 1. — Symptômes de la maladie sur feuilles d'Igname, récoltées en champs, au centre feuille saine.

Fig. 2. — Symptômes obtenus après inoculation mécanique de la maladie; au centre, feuille saine.

Fig. 3. — Particules filamenteuses observées en microscopie électronique, à partir d'un extrait partiellement purifié (photo P. Pfeiffer).



(d) Transmission par Insectes : aucune transmission n'a pu être obtenue avec les Thrips ou les Cochenilles trouvés parfois en colonies sur les Ignames en champs. Les essais effectués avec des Aphides ont été, par contre, positifs. Une durée de 5 mn est suffisante pour le repas d'acquisition et le Puceron est aussitôt apte à transmettre la maladie.

Aphis gossypii, *Toxoptera citricidus* et *Rhopalosiphum maidis* se sont révélés vecteurs.

(e) Propriétés de l'extrait brut : l'extrait brut de feuilles de *D. cayenensis* n'est pas infectieux, aussi toutes les propriétés biologiques ont elles été étudiées sur un extrait brut dilué 10 fois avec du tampon d'inoculation.

La dilution 10^{-2} est infectieuse alors que la dilution 10^{-3} ne l'est pas. La température d'inactivation est comprise entre 55 et 60°C. Le pouvoir infectieux se conserve plus de 150 jours à -20°C , 40 jours à 4°C et moins de 24 h à 25°C .

(f) Purification partielle : l'extrait clarifié est infectieux, mais le virus ne peut être obtenu purifié, par la suite, en raison de la présence de mucco-polysaccharides qui semblent difficiles à éliminer.

(g) Microscopie électronique : l'observation des grilles réalisées à partir d'extrait clarifié infectieux a mis en évidence la présence de particules filamenteuses (fig. 3). Les mesures effectuées ont montré que la majorité de ces particules avaient une longueur comprise entre 750 et 800 nm.

(h) Sérologie : le virus a été éprouvé contre les antisérums suivants : Potato Virus X (titre 1/512), Cactus Virus X (titre 1/1 024), Clover Yellow Mosaic Virus (titre 1/1 024), White Clover Mosaic Virus (titre 1/256), Narcissus Mosaic Virus (titre 1/1 024), Papaya Mosaic Virus (titre 1/512), tous ces antisérums étant fournis par le Dr R. Koenig. Il a également été éprouvé contre l'antisérum préparé avec le Dioscorea Latent Virus (titre 1/8 000) fourni par le Dr H. E. Waterworth. Aucune relation n'a été trouvée avec ces antisérums.

CONCLUSION. — Un virus filamenteux de 750 à 800 nm de longueur est à l'origine d'une mosaïque de l'Igname qui affecte la presque totalité des *D. cayenensis* en Côte-d'Ivoire. Ce virus ne se transmet qu'à des Dioscoréacées et il est transmis par Aphides sur le mode non persistant. Parmi tous les virus signalés comme affectant l'Igname, le seul comparable est le Dioscorea Green-Banding Virus (DGBV) découvert sur *D. floribunda* à Porto-Rico (*). Le DGBV est transmissible à *Crotalaria striata* et à *Nicotiana glutinosa*, alors que le virus de Côte-d'Ivoire ne se transmet pas à d'autres familles que les Dioscoréacées. De plus nous n'avons pas réussi à infecter *D. composita* et *D. floribunda* qui sont les hôtes naturels du DGBV. Par conséquent il est vraisemblable que le virus filamenteux isolé de *D. cayenensis* est un nouveau virus.

(*) Séance du 28 février 1977.

(¹) J. MIEGE, *J. Agric. trop. et Botan. appl.*, IV, n° 7-8, 1957, p. 315.

(²) A. W. WAITT, *Field Crop Abstracts*, 16, 1953, p. 145.

(³) K. G. SWENSON, in *Methods in Virology*, K. Maramorosch et H. Koprowsky, Academic press, New York et Londres, I, 1967, p. 286.

(⁴) D. H. M. VAN SLOGTEREN, *Proc. of the second conference on Potato virus diseases*, Lisse, Wageningen, June 1954.

(⁵) E. G. RUPPEL, H. DELPIN et F. W. MARTIN, *J. Agric. Univ. Puerto Rico*, 50, 1966, p. 151.

Laboratoire de Virologie,
Centre O.R.S.T.O.M. d'Adiopodoumé,
B. P. V 51,
Abidjan,
Côte-d'Ivoire.

Yam mosaic, a new potyvirus infecting *Dioscorea cayenensis* in the Ivory Coast

By J.-C. THOUVENEL AND C. FAUQUET

Laboratoire de Virologie, Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer (ORSTOM), B.P. V 51, Abidjan, République de Côte d'Ivoire

(Accepted 25 June 1979)

SUMMARY

The major disease affecting *Dioscorea cayenensis* in the Ivory Coast is caused by a virus which was transmitted by mechanical inoculation to some *Dioscorea* spp. and *Nicotiana benthamiana*. In extracts of *D. cayenensis* leaves infectivity was lost after 10 min at 60 °C but not 55 °C and after dilution to 10⁻³ but not 10⁻². A purification procedure is described. The virus particles are flexuous filaments c. 785 nm long. The virus was transmitted by four aphid species in the non-persistent manner, and is serologically related to four African potyviruses. The name yam mosaic virus is proposed; the present cryptogram is: */* :*/6 :E/E :S/Ve/Ap, potyvirus group.

INTRODUCTION

Yams are staple food crops widely cultivated in tropical areas. In the Ivory Coast, production of tubers was 1 880 000 t in 1975, and is planned to reach 2 170 000 t in 1980 and 2 550 000 t in 1985. Yam plants are relatively resistant to pests and diseases when compared with many other tropical crops; nevertheless serious virus diseases have been reported, mainly from West Africa and Puerto Rico (Coursey, 1967) and from the Caribbean (Harrison & Roberts, 1973; Migliori & Cadilhac, 1976). Miège (1957) reported symptoms, mainly stunting of plants and mosaic on leaves, on *Dioscorea cayenensis* and *D. alata* growing in many localities of the Ivory Coast. Recently, the most common disease was shown to be caused by a virus, which was named yam mosaic virus (YMV) (Thouvenel & Fauquet, 1977). This paper describes the transmission, host range, purification and some properties of YMV.

MATERIALS AND METHODS

Unless otherwise stated, methods of growing test plants, studying *in vitro* properties, electron microscopy, and serology were as described previously (Thouvenel, Dollet & Fauquet, 1976).

The original inoculum consisted of naturally infected leaves collected from an infected *Dioscorea cayenensis* plant growing at Adiopodoume near Abidjan. For mechanical transmission, fresh leaves of yam were ground in 0.1 M potassium phosphate buffer, pH 7.1 (10 ml/g of tissue) containing 0.02 M cysteine hydrochloride, 2.5 mg/ml bentonite and 5 mg/ml activated charcoal. Young seedlings of *Dioscorea* spp. were used as test plants. Isoelectric-focusing of virus particles was done as follows: an LKB column was loaded with 110 ml ampholyte (to give a gradient of pH 3.5-10) and about 1 mg of purified virus, and a potential difference of 300 V applied for 72 h to establish the pH gradient. The pH and optical density of the column contents were recorded with the flow cell of a Tacussel ISIS 20 000 pH-meter and the 3 mm flow cell of a LKB Uvicord absorptiometer.

The molecular weight of the capsid polypeptide was determined by electrophoresis in 7.5, 10

and 12.5% polyacrylamide-SDS gels, using the procedure of Weber & Osborn (1969). Phosphoglycerate kinase (mol. wt 47 000), alcohol dehydrogenase (35 000), carbonic anhydrase (31 000), trypsin inhibitor from soybean (21 000) and lysozyme (14 300) were used as standards.

RESULTS

Host range and symptomatology

Dioscorea cayenensis was easily infected by mechanical inoculation with sap from diseased *D. cayenensis*, developing in 4 to 6 wk systemic symptoms that are similar to those observed in the field. The symptoms were apt to differ considerably in different leaves of one plant: mosaic, vein-banding, green spotting or flecking, curling and mottling (Plate, figs 1, 2, 3, 4, 5). Similar symptoms appeared in inoculated *D. liebrechtsiana*, *D. praehensilis* and *D. preussii* plants; but *D. bulbifera*, *D. composita* and *D. floribunda* were not infected by mechanical inoculation, no symptoms occurred and no virus detected by back inoculation to *D. cayenensis*.

Similar isolates were likewise transmitted from naturally infected *D. alata* to *D. cayenensis*.

Nicotiana benthamiana was the only host found in families other than the Dioscoreaceae; symptoms are vein-clearing, followed by systemic mottle.

No virus was detected by inoculating sap from inoculated and non-inoculated leaves of the following species to *D. cayenensis*:

Aizoaceae: *Tetragonia expansa*; Amaranthaceae: *Gomphrena globosa*; Apocynaceae: *Vinca rosea*; Chenopodiaceae: *Beta vulgaris*, *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa*; Cruciferae: *Brassica oleracea*; Cucurbitaceae: *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*; Malvaceae: *Hibiscus esculentus*; Leguminosae: *Crotalaria striata*, *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, *Vigna unguiculata*; Solanaceae: *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens*, *Datura stramonium*, *Nicotiana clevelandii*, *N. glutinosa*, *N. megalosiphon*, *N. rustica*, *N. suaveolens*, *N. tabacum* 'Samsun', *N. tabacum* 'Xanthi-nc', *Petunia hybrida*, *Physalis floridana*.

Tuber and seed transmission

Fifty tubers produced by diseased *D. cayenensis* plants, planted in a sterilised soil in an insect-free glasshouse, all gave diseased yam plants.

Symptoms of YMV were detected in none of c. 2700 plants grown from seed collected from naturally infected *D. cayenensis*.

Properties in sap

Crude sap from diseased *D. cayenensis* leaves was not infective, so properties of YMV were studied using leaf extracts obtained as described in Methods, with phosphate buffer containing cysteine hydrochloride, bentonite and activated charcoal (10 ml buffer/1 g leaf = dilution 10^{-1}). Yam seedlings inoculated with leaf extracts diluted in water up to 10^{-2} but not 10^{-3} became systemically infected. The extracts were infective after heating for 10 min at 55 °C but not at 60 °C. Sap stored at 25 °C remained infective for 12 but not 24 h, and when stored at 4 °C it lost its infectivity after 40 days. Extracts frozen for 150 days were still infective.

Purification

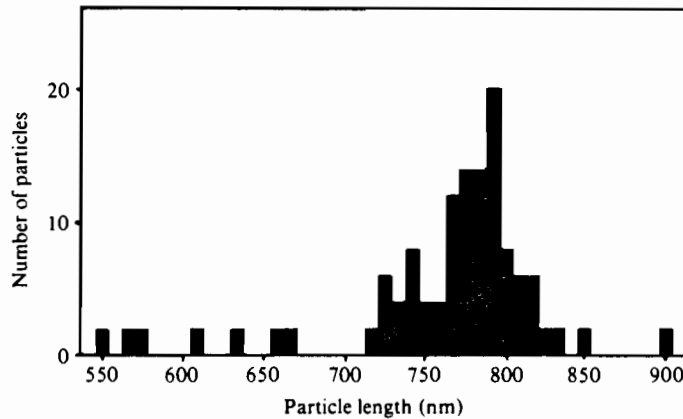
The presence of mucilaginous substances in yam leaves made the purification of the virus difficult. Good results were obtained by the following method. Fresh leaves of diseased *D. cayenensis* were ground (1 g/4 to 5 ml) with 0.2 M potassium phosphate buffer (pH 8) containing 0.4% mercaptoethanol for 3 min in a Waring Blender, cold chloroform (2 ml/1 g leaf) was added and the blender run again for 1 min. The extract was centrifuged for at least 10 min at 6000 g. The pellets were discarded and ammonium sulphate was added to the supernatant fluid (20 g/100

ml). The mixture was left 30 min at 4 °C, centrifuged for 10 min at 10 000 g and the supernatant fluid discarded. The pellets were resuspended in water (1/10 of the initial volume). After removal of the insoluble material by centrifugation at 8000 g, the virus was sedimented by ultracentrifugation at 78 000 g for 135 min. It was then resuspended overnight in 0.05 M borate buffer (pH 8) (2% of the initial volume), and the suspension clarified by centrifugation for 10 min at 10 000 g. The virus was then sedimented through a sucrose density gradient column (10–40% sucrose in 0.05 M potassium borate buffer, pH 8) for 3 h at 27 000 rev/min in a Beckman SW 27 rotor. At the end of the centrifugation, a single opalescent band was apparent in the middle of the column. The band was removed, diluted three-fold in 0.05 M potassium borate buffer, pH 8, and concentrated by sedimentation at 78 000 g for 150 min.

Taking $A_{260}^{0.1}$, 1 cm = 3.0, an extinction coefficient close to that found for morphologically similar viruses, virus yields were estimated to be 15–25 mg/kg leaf.

Properties of purified preparations

Ultraviolet absorption. The u.v. absorption spectrum of purified virus preparations was characteristic of that of a nucleoprotein and showed a maximum at 262 and a minimum at 247 nm. The $A_{262/247}$ ratio was 1.13 ± 0.01 , and the $A_{260/280}$ ratio was 1.20 ± 0.01 , indicating a nucleic acid content of c. 6% (Layne, 1954).



Text-fig. 1. Length distribution of YMV particles from a purified virus suspension observed by electron microscopy.

Particle morphology. Purified virus suspensions were negatively stained with 1% uranyl acetate, at pH 7. Particles of YMV appeared in the electron microscope as flexuous filaments of about 13 nm diameter (Plate, fig. 7). Of 130 particles measured, 60 were 785 ± 15 nm long (Text-fig. 1).

Behaviour in isoelectric focusing. When submitted to electro-focusing, the virus particles migrated to form a single band at $\text{pH } 4.3 \pm 0.3$. Some of the particles were aggregated, but the virus remained infective after isoelectric focusing.

Molecular weight of coat protein. Preparations of YMV protein gave a major component with estimated mol. wt 34 000, and two minor bands with mol. wts 32 000 and 29 000.

Serological properties. Serological studies were performed using the microprecipitin technique under paraffin oil. As crude chloroform clarified extracts of healthy *D. cayenensis* leaves produce abundant precipitates caused by the presence of mucilaginous substances, purified suspensions of YMV with OD_{260} of 0.1 or 0.03 were used for the tests. The antiserum produced to YMV had a homologous titre of 1/2048. A slight reaction up to an antiserum dilution of 1/4 was produced with normal plant proteins prepared with healthy leaves of *D. cayenensis* following

the purification method. A positive reaction was obtained between this antiserum and the following purified viruses at $OD_{260} = 0.1$: groundnut eyespot (Dubern & Dollet, 1978) up to an antiserum dilution of 1/32, and pepper veinal mottle up to a dilution of 1/32. A reaction occurred between YMV and antisera to the following viruses (homologous titres in parentheses): guinea-grass mosaic strain A (1/1024) up to an antiserum dilution of 1/128, groundnut eyespot (1/2048) up to a dilution of 1/64, and passionfruit ringspot (1/4096) up to a dilution of 1/16.

Transmission by aphids

YMV was transmitted from diseased *D. cayenensis* to healthy *D. cayenensis* and *D. preussii* seedlings, in the non-persistent manner, by all four aphid species tested. A period of 5 min was sufficient for the acquisition of the virus, and a time of less than 15 min for the inoculation access period. Using 10 aphids per test plant, it was transmitted by *Aphis gossypii* to 38 of 92 plants, by *Toxoptera citricidus* (21/30), by *Aphis craccivora* (13/24) and by *Rhopalosiphum maidis* (1/20). It was not transmitted by *Aphis gossypii* from *D. cayenensis* to *D. bulbifera* (0/20), *D. composita* (0/24) or *D. floribunda* (0/24) seedlings.

Attempt at heat therapy

The effect of heat treatment was tested by exposing tuber fragments (weight ranging from 50 to 150 g) from diseased *D. cayenensis* for 15 to 60 min at 45 to 60 °C, in hot-water bath. The treatment greatly decreased the sprouting ability of the tubers, but all the tuber fragments that grow produced diseased plants.

DISCUSSION

The mosaic of *D. cayenensis* in the Ivory Coast is caused by a virus with flexuous particles 785 nm long, and mechanically transmissible to some species of *Dioscorea* and to *Nicotiana benthamiana*. The virus is transmitted by aphids in the non-persistent manner and is serologically related to the potyviruses like pepper veinal mottle, guinea-grass mosaic and groundnut eyespot viruses. These properties place YMV in the potyvirus group.

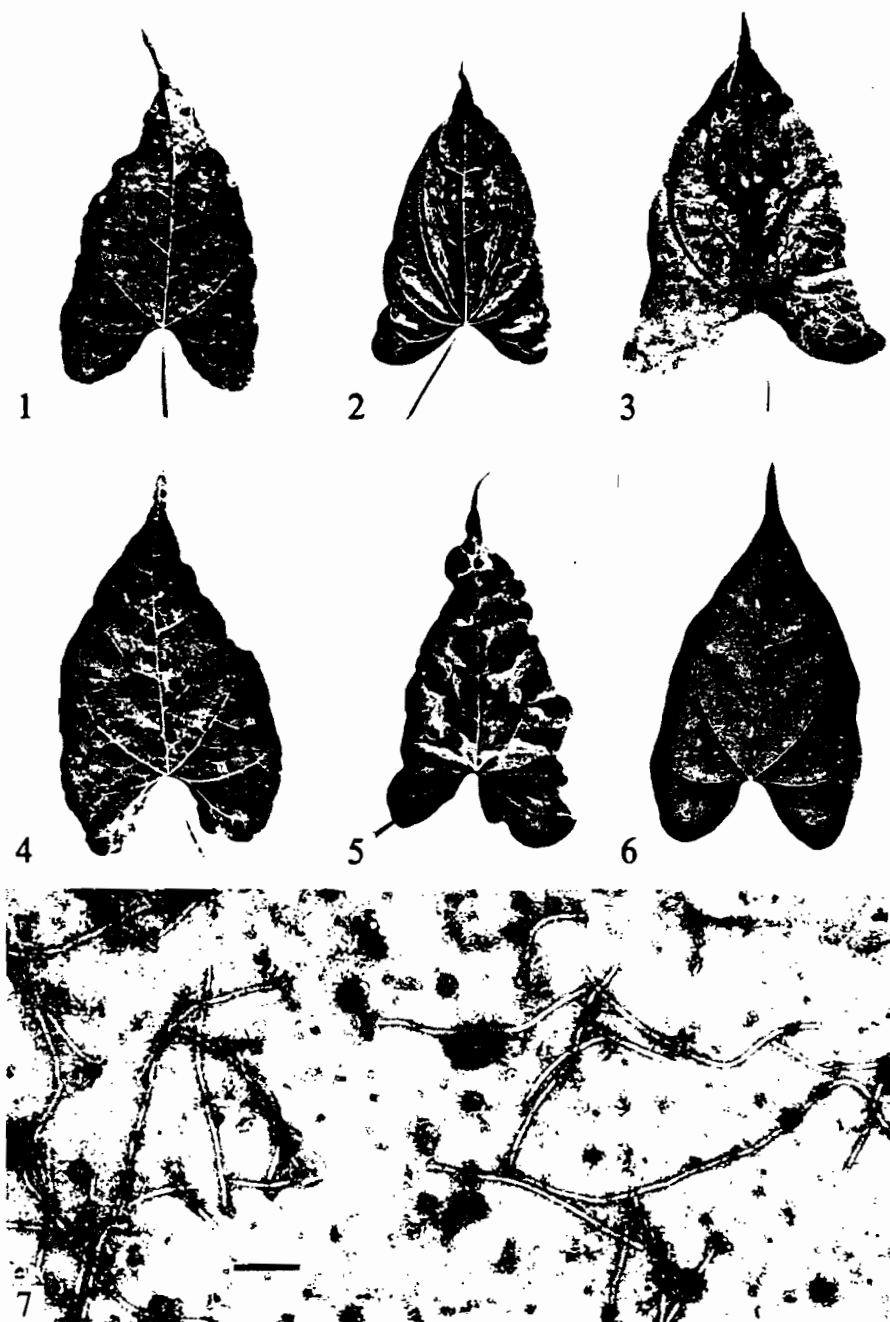
Some of the viruses reported from yams in other countries have similar particle morphology. Of these, dioscorea green-banding virus (DGBV), found in *D. floribunda* in Puerto Rico (Ruppel, Delpin & Martin, 1966; Lawson, Hearon, Smith & Kahn, 1973), is mechanically transmissible to *Crotalaria striata* and *Nicotiana glutinosa*, whereas YMV is not. Moreover, YMV did not infect *D. composita* and *D. floribunda* which are natural hosts of DGBV. Other viruses with filamentous particles are recorded in the Caribbean area on *D. alata*, *D. trifida*, *D. cayenensis*, *D. esculenta* and *D. rotundata* (Mohamed & Mantell, 1976; Migliori & Cadilhac, 1976) but there is little information on these viruses. There is also a report from Nigeria on a disease of *D. rotundata* associated with a mechanically and aphid transmissible virus that has properties in leaf extracts similar to those of YMV (Terry, 1976), but no further information about it is available.

We therefore consider the Ivory Coast isolates to be of a previously uncharacterised virus, which we name yam mosaic virus, and which has the cryptogram $*/*:*/(6):E/E:S/Ve/Ap$, potyvirus group.

The authors thank Dr B. D. Harrison and Professor L. Hirth for their suggestions in the criticism of this manuscript.

REFERENCES

- COURSEY, D. G. (1967). *Yams*. London: Longmans, 230 pp.
 DUBERN, J. & DOLLET, M. (1978). Observation of a new virus disease in the Ivory Coast: groundnut eyespot disease. *Oléagineux* 33, 175-177.



J.-C. THOUVENEL AND C. FAUQUET

(Facing p. 283)

- HARRISON, B. D. & ROBERTS, I. M. (1973). Association of virus-like particles with brown spot of yam (*D. alata*). *Tropical Agriculture, Trinidad* **50**, 335–340.
- LAWSON, R. H., HEARON, S. S., SMITH, F. F. & KAHN, R. P. (1973). Electron microscopy and separation of viruses in *D. floribunda*. *Phytopathology* **63**, 1435.
- LAYNE, E. (1954). Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. In *Methods in Enzymology*. [Ed. S. P. Colowick & N. O. Kaplan], **3**, 447–454. New York: Academic Press.
- MIEGE, J. (1957). Influence de quelques caractères des tubercules semences sur la levée et le rendement des ignames cultivées. *Journal d'Agriculture Tropicale et de Botanique Appliquée* **4**, 315–342.
- MIGLIORI, A. & CADILHAC, B. (1976). Contribution à l'étude de la maladie à virus de l'igname *Dioscorea trifida* en Guadeloupe. *Annales de Phytopathologie* **8**, 73–78.
- MOHAMED, N. A. & MANTELL, S. H. (1976). Incidence of virus symptoms in yam (*Dioscorea* sp.) foliage in the Commonwealth Caribbean. *Tropical Agriculture, Trinidad* **53**, 255–261.
- RUPPEL, E. R., DELPHIN, H. & MARTIN, F. W. (1966). Preliminary studies on a virus disease of sapogenin producing *Dioscorea* species in Puerto Rico. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* **50**, 151–157.
- TERRY, E. R. (1976). Incidence, symptomatology, and transmission of a yam virus in Nigeria. In *Proceedings of the 4th Symposium of the International Society for Tropical Root Crops, Cali, Columbia, August 1976* (Ed. J. Cock, R. McIntyre & M. Graham).
- THOUVENEL, J.-C., DOLLET, M. & FAUQUET, C. (1976). Some properties of peanut clump, a newly discovered virus. *Annals of Applied Biology* **84**, 311–320.
- THOUVENEL, J.-C. & FAUQUET, C. (1977). Une mosaïque de l'igname (*Dioscorea cayenensis*) causée par un virus filamenteux en Côte d'Ivoire. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences* **284**, 1947–1949.
- WEBER, K. & OSBORN, M. (1969). The reliability of molecular weight determination by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Biological Chemistry* **244**, 4406–4412.

(Received 19 March 1979)

EXPLANATION OF PLATE

- Figs 1, 2, 3, 4, 5. Different types of symptoms in leaves of infected *Dioscorea cayenensis*.
Fig. 6. Healthy leaf of *D. cayenensis*.
Fig. 7. Electron micrograph of purified YMV, stained with 1% uranyl acetate, at pH 7. Micrograph by P. Pfeiffer. Bar represents 200 nm.

GUINEA GRASS MOSAIC VIRUS

Guinea grass mosaic virus */*:*/6:E/E:S/*, potyvirus group

Described by Thouvenel, Givord & Pfeiffer (1976).

A virus with flexuous, filamentous particles c. 815 nm long. It is readily transmitted by inoculation of sap to plants in a few tribes of Gramineae. It is probably restricted to tropical areas in Africa. No vector is known.

MAIN DISEASES: Causes dwarfing and light-green mosaic in *Panicum maximum* (Guinea grass) (Fig. 1) cultivated as a forage crop.

GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION: Widespread wherever Guinea grass is grown in Ivory Coast.

HOST RANGE AND SYMPTOMATOLOGY: Host range restricted to the Paniceae, Maydeae and Bromaceae tribes of the family Gramineae. Mechanically transmissible to the following:

Diagnostic species

Panicum maximum (Guinea grass). General dwarfing and light green mosaic. On some cultivars e.g. K189, light green eyespots are the first systemic symptom; later, they anastomose to form a striped mosaic (Fig. 2). Other cultivars e.g. K187 seem to be tolerant.

Setaria italica (Italian ryegrass). Systemic chlorotic elongated spots one week after inoculation, followed by mottle.

Zea mays (maize). Dwarfing; light green mosaic appearing on the new leaves.

Propagation species

S. italica is a useful host for maintaining cultures. *P. maximum* cv. K 189 is a good source of virus for purification.

Assay species

S. italica is a good systemic assay host. No local lesion host is known.

STRAINS: A strain from maize differs somewhat from Guinea grass strains in host range and is serologically distinguishable (D. Lamy, unpublished data).

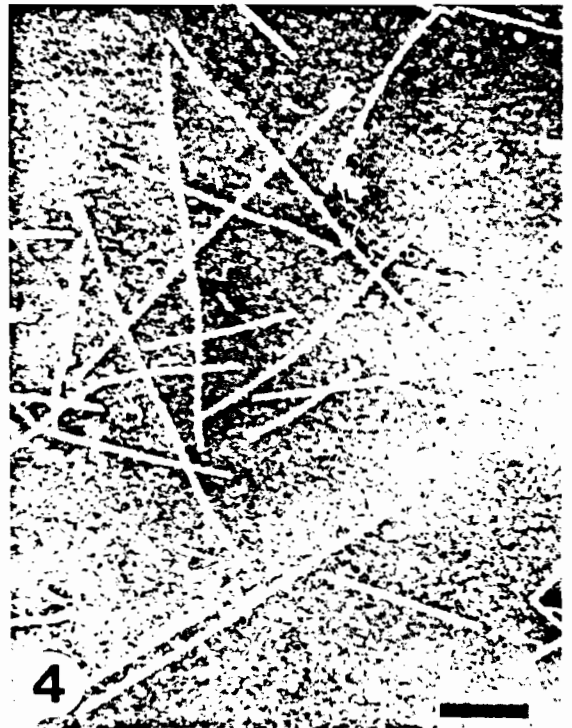
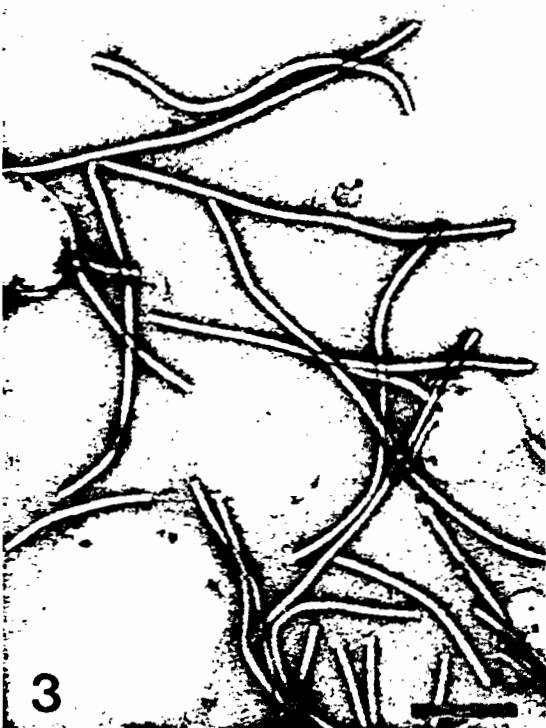
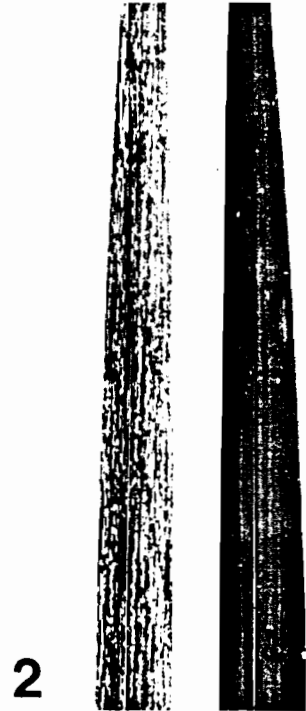
TRANSMISSION BY VECTORS: Aphid transmission suspected but not established. No transmission to *Panicum maximum*, *Setaria italica* or *Zea mays* was obtained using *Rhopalosiphum maidis*, *Hysteroneura setariae*, *Aphis spiricola* or *A. gossypii*.

TRANSMISSION THROUGH SEED: Not seed-borne in *P. maximum* or *S. italica*.

TRANSMISSION BY DODDER: Dodder (*Cuscuta subinclusa*) did not parasitize Guinea grass.

SEROLOGY: The virus is moderately immunogenic. Rabbit antisera with titres of 1/2 048 were obtained after six intramuscular injections of purified virus emulsified with Freund's incomplete adjuvant. Micro-precipitin tests were used, because intact virus particles do not diffuse in agar gel.

RELATIONSHIPS: Serologically moderately closely related to pepper vein mottle virus (Ivory Coast and Ghana strains), to dioscorea mosaic virus (Thouvenel & Fauquet, 1977 and unpublished results) and a tobacco virus from Kenya (E. J. Guthrie, personal comm.). Not related to sugarcane mosaic virus.



STABILITY IN SAP: Infectivity in Guinea grass sap is lost after 10 min at 50 C; dilution end-point is 10^{-3} . Sap stored at 24 C lost infectivity within a few h; it remained infective at 4 C for 24 h. Frozen diseased leaves of Guinea grass remained infective for 2 weeks.

PURIFICATION: A combination of the methods described by Damirdagh & Shepherd (1970) and Van Oosten (1972) is useful. Grind Guinea grass leaves in phosphate buffer (pH 7.5) containing 1M urea and 1% sodium bisulphite and clarify by treating with 5% Triton X-100 for 30 min.

Purified virus is obtained after one cycle of high and low speed centrifugation, followed by ultracentrifugation through 8 ml of 20% sucrose. Finally resuspend the pellet in 0.05M borate buffer (pH 8.2). Preparations can be further purified by centrifuging in 10–40% sucrose density gradients in which the virus forms a single light-scattering zone. Infected *P. maximum* leaves yield c. 25 mg virus per kg.

PROPERTIES OF PARTICLES:

Isoelectric point: about pH 4.7; the virus is precipitated at this point (unpublished data).

A₂₆₀/A₂₈₀: 1.22 ± 0.02 (not corrected for light-scattering).

A max(260)/A min(247): 1.10 ± 0.02 .

PARTICLE STRUCTURE: Particles are flexuous filaments about 815 nm long and 15 nm in diameter (Fig. 3). After exposure to 0.05M MgCl₂ the particles become straighter (Fig. 4), a feature characteristic of several viruses in the potyvirus group (Govier & Woods, 1971).

PARTICLE COMPOSITION:

Nucleic acid: comprises c. 6% of particle weight (estimated spectrophotometrically).

Protein: A major protein of M.Wt 35,000, estimated by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis, with a minor component of M.Wt 32,000 (unpublished results). Probably the second component is a degradation product as observed for other potyviruses (Huttinga, 1975).

RELATIONS WITH CELLS AND TISSUES: No information.

NOTES: Although no aphid vector has been found, Guinea grass mosaic virus has been classified in the potyvirus group on the basis of the size and morphology of its particles and its serological relationship to pepper vein mottle virus and other members of the potyvirus group.

REFERENCES: Damirdagh & Shepherd, *Phytopathology* **60**: 132, 1970; Govier & Woods, *J. gen. Virol.* **13**: 127, 1971; Huttinga, *Neth. J. Pl. Path.* **81**: 58, 1975; Thouvenel & Fauquet, *C.r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris* **284**: 1947, 1977; Thouvenel, Givord & Pfeiffer, *Phytopathology* **66**: 954, 1976; Van Oosten, *Neth. J. Pl. Path.* **78**: 33, 1972.

J.-C. Thouvenel
C. Fauquet
D. Lamy
Laboratoire de Virologie
ORSTOM-Adiopodoumé
B.P. V 51-Abidjan
Côte d'Ivoire

Fig. 1 Naturally infected Guinea grass (*Panicum maximum*) cv. K 189.

Fig. 2 (Left) Infected leaf of Guinea grass cv. K 189 showing the characteristic mosaic. (Right) Healthy leaf.

Fig. 3 Particles from a purified preparation, negatively stained with 1% uranyl acetate. Bar represents 200 nm.

Fig. 4 Particles in 0.05 M MgCl₂, stained with 1% uranyl acetate. Bar represents 200 nm.

A strain of guinea grass mosaic virus naturally occurring on maize in the Ivory Coast

By D. LAMY, J.-C. THOUVENEL AND C. FAUQUET

Laboratoire de Virologie, Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer (ORSTOM), B.P. V 51, Abidjan, République de Côte d'Ivoire

(Accepted 10 April 1979)

SUMMARY

During a survey of cereal crops in Ivory Coast, a virus with flexuous filamentous particles c. 825 nm long was isolated from diseased maize. Its host range, biological properties, morphology and aphid transmission place it in the potyvirus group. Antigenically it is closely related to guinea grass mosaic virus, from which it differs in host range, aphid transmissibility and behaviour on isoelectric focusing. It is named guinea grass mosaic virus strain B.

INTRODUCTION

Maize (*Zea mays* L.) is now widely grown in the Ivory Coast and, as a twofold increase in production by 1985 is planned, special attention is now being paid to its pests and diseases. Several virus diseases have been detected during recent surveys (Lamy, Fauquet & Thouvenel, 1978): we here describe one which is induced by a potyvirus similar to, but distinguishable from, guinea grass mosaic virus (GGMV).

MATERIALS AND METHODS

The original virus isolate came from naturally infected maize, growing near Divo (South Ivory Coast), and was first transmitted mechanically to maize seedlings.

The maize virus was maintained and propagated on *Zea mays* cultivar IRAT CJB. For host range studies, young leaves of 25-day-old diseased maize plants were crushed in a mortar with 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.1) containing 0.35% cysteine hydrochloride. The leaves to be inoculated were first dusted with Carborundum. At least 20 seedlings of each species were inoculated at the two- to three-leaf stage, and back-inoculations to maize were made routinely to detect symptomless infections. For determination of *in vitro* properties sap, obtained from the leaves of plants inoculated 15 days previously, was diluted with distilled water (1 g 10 ml). The thermal inactivation point was determined as described earlier (Thouvenel, Givord & Pfeiffer, 1976).

The maize virus and guinea grass mosaic virus were purified by the following method: mince 400 g of leaves with 1 litre of 0.5 M K_2HPO_4 buffer (pH 7.5) containing 1% sodium bisulphite and 1 M urea. Express sap through cheesecloth then add chloroform to 20%. Centrifuge at 6000 g for 5 min and then 2 h at 78 000 g. Resuspend the pellets overnight in 10 ml of 0.05 M sodium borate buffer (pH 8.2), then centrifuge the suspension on a 20% sucrose cushion for 3 h at 78 000 g. Allow the pellets to resuspend for 6 h and purify the virus further by density gradient centrifugation using a Beckman rotor SW27 for 2.5 h on columns of 10-40% (w/v) sucrose diluted in 0.05 M sodium borate buffer (pH 8.2). Remove the virus band, dilute with the above buffer and store at 4 °C.

The optical density of fractionated gradients was recorded using the 3 mm flow cell of a LKB Uvicord absorptiometer. Ultraviolet absorption spectra were determined with a Zeiss PMQ II spectrophotometer.

Purified virus preparations were mounted in 3% uranyl acetate, and micrographs were taken with a Philips EM 300 electron microscope at $\times 14\ 000$. Length measurements were made from prints at a final magnification of $\times 40\ 000$.

For insect transmission studies, aphids (probably *Rhopalosiphum maidis* Fitch) were starved for 1 h, then allowed to feed on young diseased leaves of maize for 3 min before transfer to healthy 10-day-old maize plants at the rate of 5 insects/plant. After 1 h the aphids were killed with insecticide.

Antiserum to the virus was prepared by injecting rabbits intramuscularly with 3 OD_{260nm} units of purified virus in 1 ml, emulsified with an equal volume of Freund's incomplete adjuvant (Difco), once a week for 4 wk. Serological tests were made by microprecipitation method under paraffin oil in Petri dishes (Slogteren, 1955): for antigens, purified virus suspensions were normally used at 0.3 OD_{260nm} units. For control tests, sap of healthy maize plants was submitted to the usual extraction procedure, except that the sedimentation on sucrose gradients was omitted.

Electro-focusing of virus particles was as follows: an LKB column, containing 110 ml ampholyte designated to give a gradient of pH 3.5–10 was filled with 3 OD_{260nm} units of purified virus, and a potential difference of 300 V applied during 12 h for establishing the pH gradient. The pH and optical density of the column contents were recorded with the flow cell of a Tacussel ISIS 20 000 pH-meter and the 3 mm flow cell of an LKB Uvicord absorptiometer.

RESULTS

Host range and symptomatology. Naturally infected *Zea mays* plants showed a slight green leaf mosaic (Plate fig. 1) and they were slightly stunted. Symptoms on old leaves were almost imperceptible. On young experimentally infected plants, light green spots appeared after inoculation on new leaves and finally coalesced to form a mild mosaic.

The following species in the Gramineae showed a light green leaf mosaic and yielded infective sap after inoculation with the maize virus:

Avena sativa, *A. paniculata*, *A. strigosa*, *Bracharia deflexa*, *Bromus commutatus*, *B. racemosus*, *B. sterilis*, *Coix lacryma-jobi*, *Echinochloa crus-galli*, *Eleusine coracana*, *E. tocussa*, *Lolium multiflorum*, *Panicum bulbosum*, *P. capillare*, *Paspalum racemosum*, *Setaria glauca*, *S. italica*, *S. macrochaeta*, *S. verticillata*, *Sorghum sudanense*, *S. vulgare* and *Zea mays*.

No symptoms or symptomless infection was detected after inoculation of the following species (the number of plants tested of each species is given in parentheses):

Amaranthaceae: *Gomphrena globosa* (23). Cucurbitaceae: *Cucumis sativus* (10). Gramineae: *Bromus macrostachys* (28), *B. unioloides* (12), *Dactylis glomerata* (18), *Digitaria sanguinalis* (20), *Eleusine indica* (20), *Hordeum murinum* (27), *H. vulgare* (16), *Oryza sativa* 'IR 8' (30), *Panicum maximum* 'K 187' (90), *Paspalum distychem* (17), *Saccharum officinarum* (24). Leguminosae: *Vigna cylindrica* (14), *V. unguiculata* (15). Solanaceae: *Lycopersicon esculentum* (9), *Solanum melongena* (16).

Attempts failed to detect viral antigen with homologous antiserum in sap of inoculated *Panicum maximum* 'K 187'.

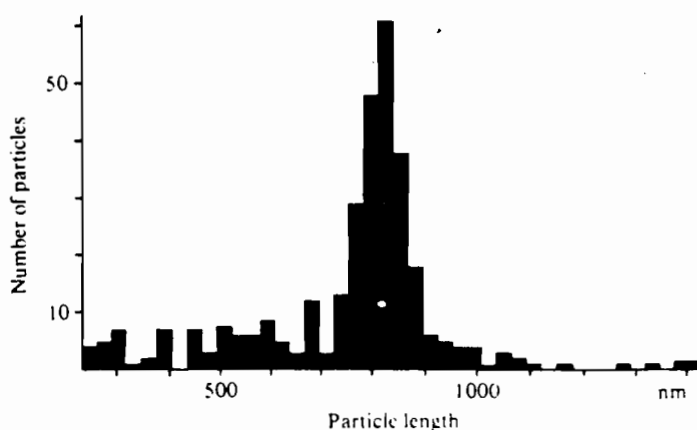
In vitro properties. Sap was infective after dilution to 10^{-2} but not 10^{-3} , after heating for 10 min at 50° but not 55 °C, and after storage at 24 °C for 5 but not 8 h, and at 4 °C for 3 but not 4 days. Dehydrated leaves remained infective for at least 3 months at 4 °C but infectivity of sap was abolished by freezing.

Ultraviolet absorption. The u.v. absorption spectrum of purified virus preparations showed a

maximum at 260 nm and a minimum at 248 nm. The $A_{260:248}$ ratio was 1.09 ± 0.01 and the $A_{260:280}$ ratio was 1.22 ± 0.02 indicating a nucleic acid content of about 6.0% (Layne, 1954).

Particle morphology. The virus has flexuous filamentous particles c. 15 nm in diameter (Plate, fig. 2). Of 326 particles measured, 62 (20%) were 825 ± 15 nm long (Text-fig. 1).

Behaviour on isoelectric focusing. When submitted to electrofocusing, the virus migrated to form a single band at pH 5.3 ± 0.2 . In the same conditions, GGMV particles banded at pH 4.7 ± 0.2 . Neither virus was infective after banding in the ampholine column and some of the particles were precipitated.



Text-fig. 1. Length distribution of particles from purified virus suspension observed by electron microscopy.

Serological properties. The antiserum produced to the maize virus had an homologous titre of 1/1024, and reacted with GGMV up to a dilution of 1/512. When tested with purified maize virus, GGMV antiserum (homologous titre 1/1024) reacted up to a dilution of 1/512 and pepper vein mottle virus antiserum (homologous titre 1/4096) up to a dilution of 1/256. No reaction occurred between the maize virus and antisera to the following viruses (homologous titres in parentheses): bean common mosaic (1/2048), bean yellow mosaic (1/512), henbane mosaic (1/8000), maize dwarf mosaic, strain A (titre unknown), passionfruit ringspot (1/2048), peanut mottle (1/256), potato A (1/4096), potato Y (1/2048), sugarcane mosaic, strains H (1/100) and J (1/100), tobacco etch (1/152), turnip mosaic (1/64).

Insect transmission. The virus was transmitted by aphids to nine of 28 plants tested. Transmission after brief acquisition and test feeding periods suggest that transmission is of the non-persistent type. However, in similar tests, GGMV was not transmitted.

DISCUSSION

The maize virus is barely distinguishable from GGMV on the basis of symptoms induced in maize, *in vitro* properties, and particle size and morphology. Host range, aphid transmission, behaviour on electro-focusing and serological properties are however sufficiently different to justify a taxonomic distinction between the two isolates.

Of 33 graminaceous species tested, the following 10 react differently to the two viruses: *Avena fatua*, *A. paniculata*, *A. strigosa*, *Bromus macrostachys*, *Eleusine coracana*, *E. tucussa*, *Lolium multiflorum*, *Panicum capillare*, *P. maximum* 'K 187' and *Sorghum vulgare*.

Although the virus was transmitted by aphids, GGMV was not. Banding upon isoelectric focusing differs significantly between the two viruses, although the measured values cannot be taken as the isoelectric point of native particles because infectivity is lost during focusing in the

ampholine column. GGMV and maize virus antisera each reacted to a dilution close to their homologous titres with the heterologous antigen. Nevertheless, the maize virus appears to be more closely related to pepper vein mottle virus than is GGMV, which reacted with the same pepper vein mottle antiserum up to a dilution of only 1/64.

On the basis of the above similarities and differences between the maize virus and GGMV, we conclude that they are closely related though distinguishable. The differences in host range, serological and isoelectric focusing properties are of kinds characteristic of different strains, although the difference in transmissibility by aphids might suggest a greater difference. However, lack of aphid transmissibility occurs in strain C of potato virus Y and need not suggest a greater taxonomic divergence than of strains (Delgado-Sanchez & Grogan, 1970). So we propose to name the maize virus: GGMV strain B (GGMV-B), and consequently to rename the virus described by Thouvenel *et al.* (1976) as GGMV strain A (GGMV-A).

GGMV-B is a newly recorded naturally occurring virus on maize. Sugarcane mosaic virus was previously the only potyvirus to have been recorded infecting maize crops in Africa (Von Wechmar & Hahn, 1967; Kulkarni, 1973). Though producing identical symptoms on Gramineae, GGMV-B can be readily distinguished from sugarcane mosaic virus on the basis of host range and serological properties; particle size is also different (750 nm for sugarcane mosaic virus); however the length of particles of several potyviruses (including GGMV) differ according to the suspending medium and it is not known how the two viruses would be affected. Further work is planned to study the incidence of GGMV-B in Ivory Coast and its effect on yield and quality of maize.

We thank Dr Dollet (IRHO, station de pathologie comparée INRA-CNRS de St Christol-les-Alès) for help with electron microscopy, and Dr B. D. Harrison and Professor L. Hirth for their criticisms of this manuscript.

REFERENCES

- DELGADO SANCHEZ, S. & GROGAN, R. G. (1970). Potato virus Y. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses* No. 37, 4 pp.
- KULKARNI, H. Y. (1973). Notes on East African plant virus diseases. 5. Identification and economic importance of sugarcane mosaic virus in maize in East Africa. *East African Agricultural and Forestry Journal* **39**, 158-164.
- LAMY, D., FAUQUET, C. & THOUVENEL, J. C. (1978). Quelques viroses du maïs en Côte d'Ivoire. *Agronomie Tropicale* (in press).
- LAYNE, E. (1954). Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. In *Methods in Enzymology* 3, pp. 447-454. Eds S. P. Colowick and N. O. Kaplan. New York: Academic Press.
- THOUVENEL, J. C., GIVORD, L. & PFEIFFER, P. (1976). Guinea grass mosaic virus, a new member of the Potato Virus Y group. *Phytopathology* **66**, 954-957.
- VAN SLOGTEREN, D. H. M. (1955). Serological microreactions with plant viruses under paraffin oil. *Proceedings of the 2nd Conference on Potato Virus Disease, Lisse-Wageningen, 1954*, pp. 51-54.
- VON WECHMAR, M. B. & HAHN, J. S. (1967). Virus diseases of cereals in South Africa. II. Identification of two elongated plant viruses as strains of sugarcane mosaic virus. *South African Journal of Agricultural Science* **10**, 241-252.

(Received 15 December 1978)

EXPLANATION OF PLATE

Fig. 1. Plant of maize naturally infected with the maize virus.

Fig. 2. Particles of purified maize virus stained with 3% uranyl acetate. Micrograph by M. Dollet. Bar represents 200 nm (some particles are the underside of the support film).



D. LAMY, J.-C. THOUVENEL AND C. FAUQUET

(Facing p. 40)

*From the Virology Laboratory, Adiopodoumé Research Station,
Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer,
Abidjan, Ivory Coast*

A Strain of Guinea Grass Mosaic Virus from Pearl Millet in the Ivory Coast

By

B. KUKLA, J.-C. THOUVENEL and C. FAUQUET

With 6 figures

Received January 7, 1982

Abstract

A virus disease of pearl millet (*Pennisetum americanum*) in the Ivory Coast has symptoms consisting of a light-green mosaic of variable severity, followed by dwarfing. The causal virus is mechanically transmissible and aphid-borne, but not seed-borne. It was purified, has flexuous filamentous particles about 820 nm long, and is a member of the potyvirus group. Its host range, and biological, physico-chemical and serological properties indicate that it is a strain of guinea grass mosaic virus.

Zusammenfassung

Ein Stamm des Guinea Gras Mosaik Virus von Perlhirse in der Elfenbeinküste

Eine Viruserkrankung der Perlhirse (*Pennisetum americanum*) in der Elfenbeinküste hat Symptome, die aus einem hellgrünen Mosaik unterschiedlicher Schwere bestehen, gefolgt von Zwergwuchs. Das ursächliche Virus ist mechanisch und von Läusen übertragbar, nicht jedoch samenübertragbar. Es wurde gereinigt, besitzt gedreht filamentöse etwa 820 nm lange Partikel und ist Mitglied der Potyvirus-Gruppe. Sein Wirtsspektrum, seine biologischen, physikalisch-chemischen und serologischen Eigenschaften weisen darauf hin, daß es ein Stamm des Guinea Gras Mosaik-Virus ist.

Pearl millet (*Pennisetum americanum*) is an important crop in sahelian and sub-sahelian countries. It is grown in the northern part of the Ivory Coast and is the subject of a crop improvement programme. To this end, efforts are

being made to find cultivars resistant to diseases and to insect pests and this necessitates research to identify the causes of virus-like disease occurring in the region.

In two experimental areas, one near Adiopodoumé (South) and the other near Ferkessedougou (North) plants showing mosaic symptoms were observed and were suspected to be affected by a virus disease. We describe here this disease and its causal agent.

Materials and Methods

Virus isolate

The virus was isolated from *P. americanum* grown at the ORSTOM Centre of Adiopodoumé (Ivory Coast). A stock isolate cultured in *P. americanum* provided inoculum for all the tests.

Host range tests

For host range studies, at least 20 seedlings of each species at the 2–3 leaf stage were mechanically inoculated either with purified virus, or with crude sap diluted (5 to 10 ml per g leaf) in 0.1 M potassium phosphate buffer, pH 7.1, containing 0.02 M cysteine hydrochloride and 0.02 % bentonite. Back inoculations were made on *P. americanum* to detect symptomless infection. Serological tests were also done using crude sap clarified by treatment with chloroform (v/v).

Aphid transmission

Aphids (*Hysteroneura setariae* Thomas or *Rhopalosiphum maidis* Fitch) cultured on healthy *Setaria italica* and on healthy *Zea mays* were starved for 1 or 2 h, then allowed to feed on young diseased leaves of pearl millet for 5–10 min before being transferred to healthy seedlings (10 aphids per seedling), during 2 days. Then they were killed by insecticide.

Determination of properties *in vitro*

Crude sap diluted in 0.1 M phosphate buffer pH 7.1, was used for the studies of the following properties: dilution end-point, thermal inactivation point, and longevity *in vitro* at 24 °C, 4 °C and –20 °C. The methods described by NOORDAM (1973) were used.

Virus purification

Virus particles were purified as described by THOUVENEL *et al.* (1978) for GGMV-A and LAMY *et al.* (1979) for GGMV-B. However in some experiments the virus containing pellets were resuspended in 0.01 M potassium phosphate buffer, pH 8.4.

UV absorption spectrum

Ultraviolet absorption spectra of purified virus preparation were determined with a Beckman-U.V.-5230 spectrophotometer. The correction for light-scattering was obtained by the graphical method described by NOORDAM (1973).

Isoelectric point

The isoelectric point of the virus particles was determined as described by LAMY *et al.* (1979) for the GGMV-B. The optical density (OD 260 nm) and pH values of the fractions were respectively recorded with the 3 mm flow cell of an LKB Uvicord absorptiometer and an ORION 701 A pH-meter.

Polyacrylamide gel electrophoresis of virus coat protein

The molecular weight of the virus coat protein was determined by the method of WEBER and OSBORN (1969) using gels containing 5% to 12% acrylamide, and sodium dodecyl sulphate as described by VAN REGENMORTEL *et al.* (1972).

Electron microscopy

To examine the morphology of virus particles purified preparations, or crude sap clarified with chloroform, were stained with 2% uranyl acetate for 1 min. Micrographs were taken with the Siemens Elmiskop 102 of the GERME (Groupement d'Etude et de Recherche en Microscopie Electronique) at Adiopodoumé (Ivory Coast). Length measurements were made on photographs with a final magnification of $\times 90,000$. To study the cytopathological aspects of the virus, pieces of leaf tissues were processed as described by MORGAN and ROSE (1967) and were sectioned with a Sorvall MT₂-B ultra Microtome. Sections were stained by floating the grids on 3% uranyl acetate for 10–15 min and then post-stained with lead citrate (REYNOLDS 1963) for 3 min before examination in the electron microscope.

Serology

An antiserum to pearl millet mosaic was prepared by injecting a rabbit with 1 mg of purified particles of pearl millet mosaic virus in 1 ml, once a week for 5 weeks (NOORDAM 1973). Microprecipitin droplet tests were performed under paraffin oil (VAN SLOGTEREN 1955).

Results

Host range and symptomatology

Young diseased *P. americanum* plants show lines of lightgreen eye spots or a pale green mosaic, depending on the cultivar. These symptoms develop into a striped mosaic by elongation and anastomosis of the eye-spots (Plate Fig. 2). Some *P. americanum* plants show severe symptoms with dwarfing (Plate Fig. 1). Mechanical transmission of the causal agent is easy, and symptoms appear about 8 or 10 days after inoculation of 2–3 leaf seedling with infective sap. The virus was also transmitted by mechanical inoculation to the following species of Graminae, in which it induced a light green mosaic: *Bromus commutatus*, *B. macrostachys*, *Panicum crusgalli*, *P. maximum* (K 187), *Sorghum arundinaceum*, *Zea mays*.

No transmission was obtained to the following species: *Avena fatua*, *A. sativa* cv. Maris Tabard, *Briza maxima*, *Bromus uniloides*, *Dactylis glomerata*, *Digitaria sanguinalis*, *Eleusine coracana*, *E. tocussa*, *Oryza sativa* cv. IRAT 13 and Iguape Cateto, *Saccharum officinarum*, *Triticum durum* cv. Hardi.

Seed transmission

About 1000 seeds harvested from diseased pearl millet plants were sown but none of the 428 seedlings obtained showed symptoms of the disease, moreover negative back-inoculations exclude symptomless infection.

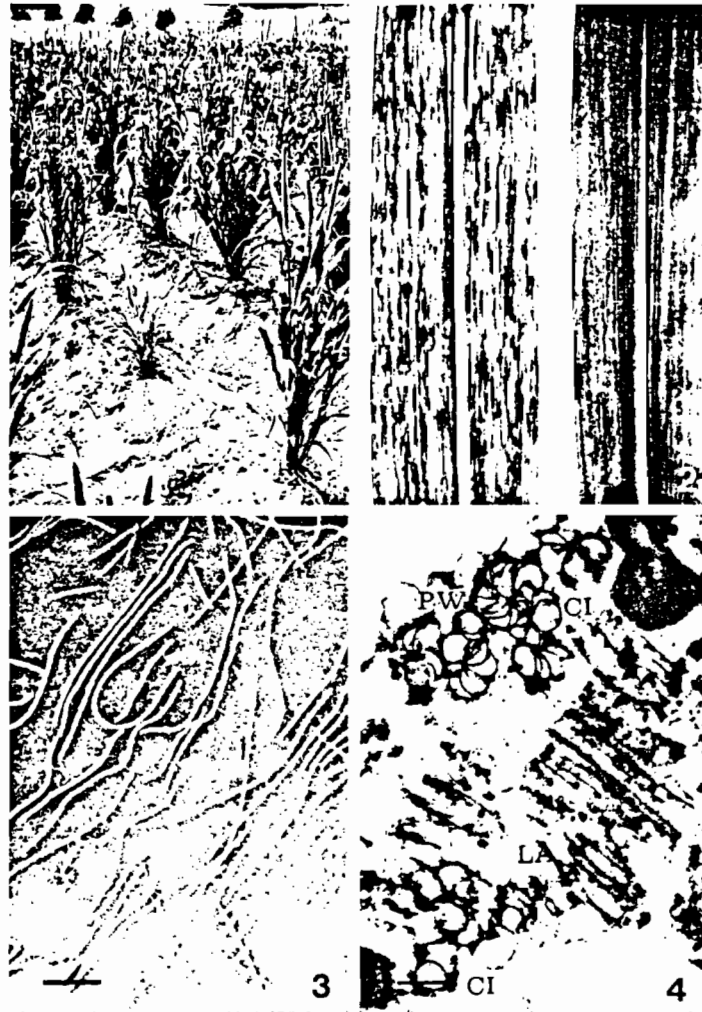


Fig. 1. Dwarfing induced by the pearl millet mosaic virus in *P. americanum*, observed in the field. • Fig. 2. Symptoms of pearl millet mosaic in (left) leaf of infected *P. americanum*; (right healthy leaf). Separate eye spots occur at the leaf margins, but have anastomosed at the middle. • Fig. 3. Electron micrograph of a purified preparation of pearl millet mosaic virus showing particles stained with 2% uranyl acetate. (Bar represents 200 nm). • Fig. 4. Electron micrographs of virus-induced inclusions in *P. americanum* cells. LA = Laminate aggregates; CI = Cylindrical inclusions; CR = Circular inclusions; PW = Pinwheels. (Bar represents 300 nm)

Transmission by aphids

The virus was transmitted by *Hysteroneura setariae* to pearl millet seedlings. Four out of 19 seedlings showed the symptoms of the disease and serological tests revealed that additional three symptomless plants were infected. The virus was also transmitted from *P. americanum* to *Panicum maximum* by

Rhopalosiphum maidis. Six out of 20 seedlings showed pale symptoms of mosaic. Transmission following an acquisition access time of 5 to 10 min suggests it is of the non persistent type.

Properties *in vitro*

Crude sap was still infective after dilution to 10^{-2} but not to 10^{-3} and after heating for 10 min at 50°C but not at 55°C . Crude sap diluted to 10^{-1} remained infective for a few hours (less than 4 h in our experiments) at about 24°C , but inoculum extracted from leaves previously stored 6 days at room temperature in a humid atmosphere was infective. Crude sap diluted to 10^{-1} was infective after 24 h but not 48 h at 4°C , and was also infective after storage for 2 months at -20°C . However, infectivity was abolished by repeated freezing and thawing.

Biophysical and biochemical properties

The UV absorption spectrum of purified suspension of virus particles (Text Fig. 1) shows an absorption maximum at 260 nm and a minimum at 247 nm. The $\frac{A_{260}}{A_{247}}$ ratio is 1.09 ± 0.03 and the $\frac{A_{280}}{A_{260}}$ ratio is 1.22 ± 0.02 (about 12 determinations) indicating a nucleic acid content of 6% (LAYNE 1954). When corrected for light scattering, the absorption maximum is at 265 nm while the minimum stays at 247 nm (Text Fig. 1). The corrected ratios are: $\frac{A_{265}}{A_{247}} = 1.37$; $\frac{A_{260}}{A_{280}} = 1.15$.

When submitted to electrofocusing, the virus particles migrated as a single band at $\text{pH } 4.7 \pm 0.2$. Three out of nine *P. americanum* plants developed mosaic symptoms after mechanical inoculation with the virus preparation which has been submitted to electrofocusing (3 experiments).

The apparent molecular weight of the virus coat protein, determined by polyacrylamide gel electrophoresis (Text Fig. 2) was $32\,500 \pm 500$ d (average of 9 experiments) for both the pearl millet mosaic virus and GGMV-A, and $34\,500 \pm 500$ d for GGMV-B (KUKLA 1981).

Electron microscopy studies

Virus preparations contained flexuous filaments particles (Plate Fig. 3) about 15 nm in diameter and 820 ± 10 nm in length (126 of the 258 particles measured) (Text Fig. 3).

Two types of inclusion were observed in ultrathin sections of diseased leaves, one with a circular and the other with a laminate structure. Using the nomenclature of EDWARDSON *et al.* (1968), the micrographs show cylindrical inclusions, pinwheels, circular inclusions, tubes and bundles (Plate Fig. 4).

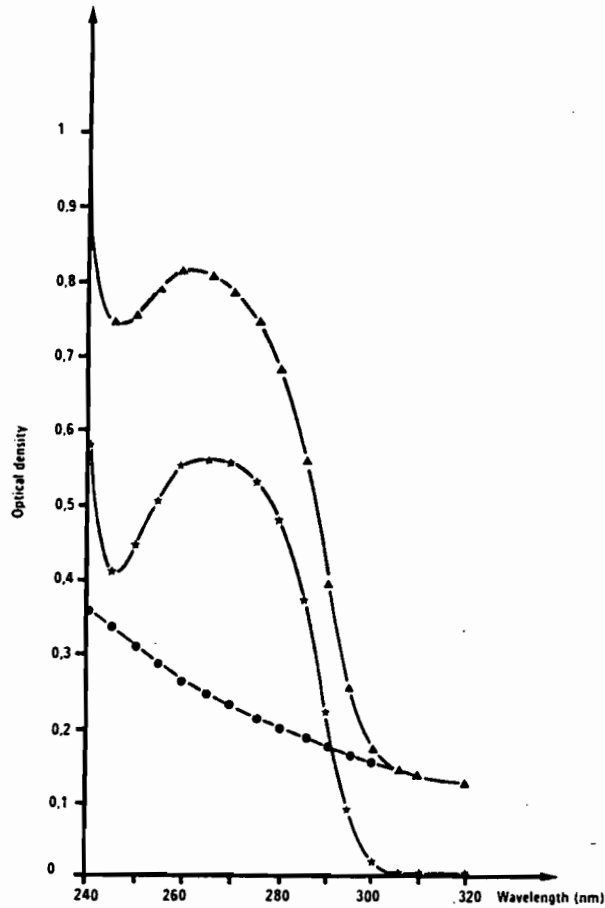


Fig. 1. UV absorption spectrum of a purified preparation of pearl millet mosaic virus before (—▲—▲—) and after (—*—*—) correction for light-scattering. The calculated correction (—●—●—) is also plotted.

Serology

Purified particles of the pearl millet mosaic virus reacted with homologous antiserum up to a dilution of 1/1024.

When tested against GGMV-A antiserum, homologous titre 1/2048 (THOUVENEL *et al.* 1976), the virus reacted up to a dilution of 1/1024 (SDI = 1), and when tested against GGMV-B, antiserum homologous titre 1/1024 (LAMY *et al.* 1979), it reacted up to a dilution of 1/128 (SDI = 3). GGMV-A reacted up to a dilution of 1/512 (SDI = 1) and GGMV-B up to a dilution of 1/1024 (SDI = 0) when tested against pearl millet mosaic virus antiserum (homologous titre 1/1024).

Pearl millet mosaic virus also tested for ability to react with antisera to several potyviruses (homologous titre in parentheses). Antiserum to pepper veinal mottle virus (1/8192) reacted up to a dilution of 1/256 (SDI = 5), and antisera to maize dwarf mosaic viruses A or B reacted at dilutions < 1/8:

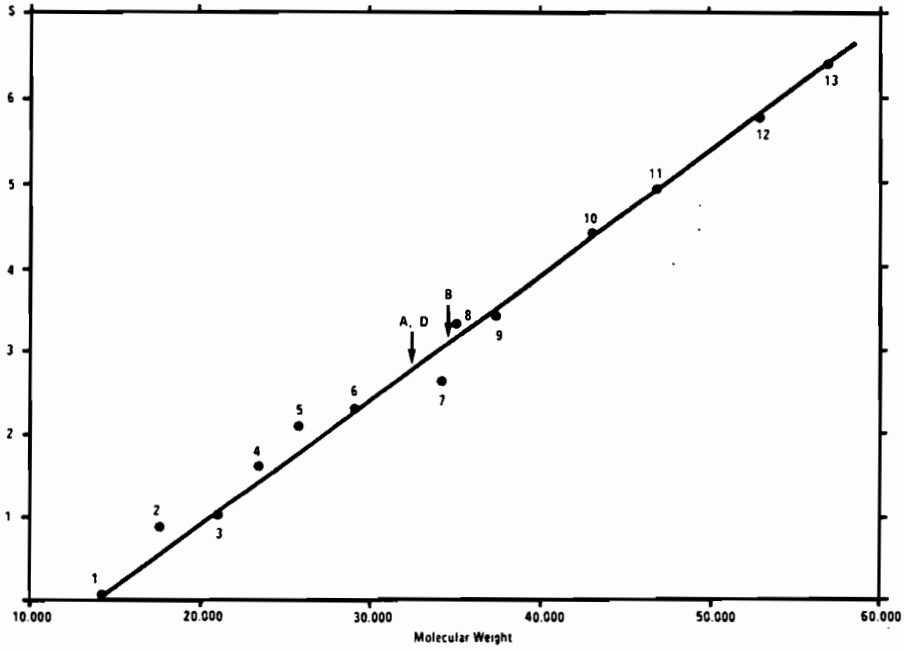


Fig. 2. Determination of the molecular weight of the coat protein of pearl millet mosaic virus from the plot of $S = \frac{\Delta \log RF}{\Delta \text{acrylamide concentration}}$ against the molecular weight. The markers, and their molecular weights in parenthesis are: 1. Lysozyme (14,000). 2. Tobacco mosaic virus coat protein (17,500). 3. Trypsin inhibitor from soybean (21,000). 4. Trypsin (23,300). 5. α -Chymotrypsinogen (25,700). 6. Carbonic anhydrase (29,000). 7. Carboxypeptidase (34,300). 8. Pepsin (35,000). 9. Alcohol dehydrogenase from yeast (37,500). 10. Ovalbumin (43,000). 11. 3-Phosphoglyceratekinase (47,000). 12. Glutamate dehydrogenase (53,000). 13. Pyruvate kinase (57,000)

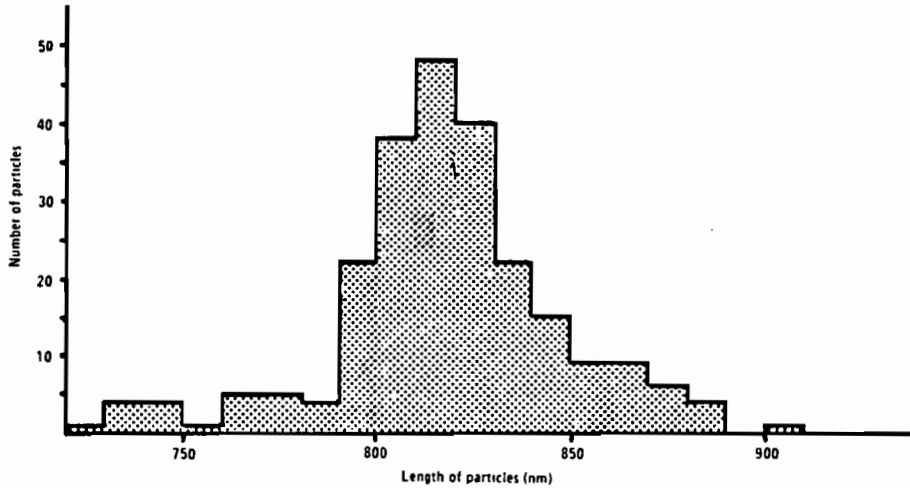


Fig. 3. Length distribution of particles from purified virus suspension observed by electron microscopy

The following antisera did not react with pearl-millet mosaic virus: bean common mosaic (1/512), bean yellow mosaic (1/1024), henbane mosaic (1/8192), passiflora ringspot (1/2048), peanut mottle (1/4096), potato A (1/160), potato Y (titre unknown), and sugarcane mosaic (titre unknown) virus antisera.

Discussion

Its biological and physico-chemical properties, the aphid transmissibility, inclusion bodies and serological properties indicate that pearl millet mosaic virus is a member of the potyvirus group. On the basis of the types of inclusions produced, pearl millet mosaic virus would be included in EDWARDSON'S (1974) subdivision III of the potyvirus group, because all the characteristic inclusions (pinwheels, bundles, scrolls, tubes and laminated aggregates) typical of this subgroup, were observed. The serologically related pepper vein mottle virus also belongs to subdivision III (EDWARDSON 1974).

The properties (host-range, physico-chemical properties and serology) of pearl millet mosaic virus are, however, closest to those of guinea grass mosaic virus strain A (THOUVENEL *et al.* 1976) and strain B (LAMY *et al.* 1979). According to the host-range, among 21 gramineous species tested, 5 non-hosts and 5 hosts are common for the 3 viruses. Two species (*Bromus macrostachys* and *Panicum maximum*) which are host for GGMV-A and pearl-millet mosaic virus are non-hosts for GGMV-B. On the other hand 7 species which are non-hosts for GGMV-A and pearl millet mosaic virus are hosts for GGMV-B. Nevertheless two plants (*Bromus sterilis* and *Setaria italica*) are systemic hosts for GGMV-A and GGMV-B and negative hosts for pearl millet mosaic virus. Moreover we can notice that we have not found any common host for only GGMV-B and pearl millet mosaic virus. In this host-range composed of 21 gramineous species 7 are host for pearl-millet mosaic virus, 9 for GGMV-A and 13 for GGMV-B. Considering the natural hosts, the transmission is easiest and each virus causes strongest symptoms in its natural host than in the other. Pearl millet mosaic virus induces dwarfing in pearl millet and a mild mosaic in guinea grass and maize. GGMV-A can infect pearl millet and maize but with difficulty, and GGMV-B cannot infect guinea grass. For all these results we think that there is an adaptation to the natural host of each strain and we consider that pearl millet mosaic virus is closer to GGMV-A than GGMV-B.

The coat protein of pearl-millet mosaic virus has the same molecular weight as that of GGMV-A, but the degradation bands in gel electrophoresis are typically different for GGMV-A, GGMV-B and pearl millet mosaic virus. However an important difference between GGMV-A and pearl-millet mosaic virus is that only the pearl-millet virus could be transmitted by aphids. We therefore consider pearl millet mosaic virus to be an aphid-transmissible strain of guinea grass mosaic virus and we propose to name it GGMV-D.

We thank Mrs. CECILE N'GATTA and Mr. TANO KOFFI of GERME (Groupement d'Etude et de Recherche en Microscopie Electronique) at Adiopodoumé (Ivory Coast) for technical collaboration in the electron microscopy studies. The authors acknowledge Dr. B. D. HARRISON and Professor L. HIRTH for their suggestions and comments on this manuscript.

Literature

- EDWARDSON, J. R., D. E. PURCIFULL, and R. G. CHRISTIE, 1968: Structure of cytoplasmic inclusions in plants infected with rod-shaped viruses. *Virology* 34, 250—263.
- —, 1974: Some properties of the Potato Virus Y-Group: Florida Agricultural Experiment Stations Monograph, No. 4, Institute of food and Agricultural Sciences. University of Florida — Gainesville.
- LAMY, D., J.-C. THOUVENEL, and C. FAUQUET, 1979: A strain of guinea grass mosaic virus naturally occurring on maize in the Ivory Coast. *Ann. Appl. Biol.* 93, 37—40.
- LAYNE, E., 1954: Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. In: S. P. COLOWICK and N. O. KAPLAN (Eds.), *Methods in Enzymology*. III. 447—454. Academic Press, New York.
- KUKLA, B., 1981: Étude d'une mosaïque du Mil (*Pennisetum americanum*) en Côte d'Ivoire. Rapport ORSTOM, 12 pp., 5 photos.
- MORGAN, C., and H. M. ROSE, 1967: The application of thin sectioning. In: K. MARAMOROSCH and M. KOPKOWSKI (Eds.), *Method in Virology*. III. 575—616. Academic Press, New York.
- NOORDAM, D., 1973: Identification of plant viruses. Centre for Agricultural Publishing and Documentation. Wageningen 1973, 50—56 and 88—102.
- REGENMORTEL VAN, M. V., D. A. HENDRY, and T. BALTZ, 1972: A reexamination of the molecular size of cucumber mosaic virus and its coat protein. *Virology* 49, 647—653.
- REYNOLDS, E. S., 1963: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17, 208—212.
- SLOGTEREN, D. H. M., 1955: Serological microreactions with plant viruses under paraffin oil. *Proc. 2nd. Conf. Potato Virus Diseases*. Lisse — Wageningen, 1954, 51—54.
- THOUVENEL, J.-C., L. GIVORD, and P. PFEIFFER, 1976: Guinea grass mosaic virus, a new member of the Potato Virus Y Group. *Phytopathology* 66, 954—957.
- —, C. FAUQUET and D. LAMY, 1978: Guinea Grass Mosaic Virus. *Descriptions of Plant Viruses* — CMI/AAB No. 190.
- WEBER, K., and M. OSBORN, 1969: The reliability of molecular weight determinations by dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 224, 4406—4412.

Authors' address: B. KUKLA, J.-C. THOUVENEL, and C. FAUQUET, Orstom, BP. V. SI., Abidjan (Côte d'Ivoire).

VIROLOGIE. — *Un nouveau Potyvirus : Le Virus de la Marbrure d'Asystasia gangetica.*
Note (*) de Jean-Claude Thouvenel, Claude Fauquet et Annie Monsarrat, présentée par
Léon Hirth.

Un nouveau Potyvirus a été isolé de *Asystasia gangetica* (Acanthaceae) en Côte-d'Ivoire. Sa gamme d'hôtes, une méthode de purification et ses propriétés sont décrites. Ce virus qui a une longueur de 750 nm induit des inclusions circulaires dans les cellules des plantes malades.

VIROLOGY. — *Asystasia gangetica* Mottle, a New Potyvirus.

A new potyvirus was isolated from Asystasia gangetica (Acanthaceae) in the Ivory Coast. This paper reports the host range, a method of purification and its properties. This virus of 750 nm in length induces pinwheel inclusions in diseased plant cells.

INTRODUCTION. — Depuis 1968, le laboratoire de Virologie de l'O.R.S.T.O.M. en Côte-d'Ivoire effectue l'inventaire des maladies à virus atteignant les plantes cultivées en Afrique tropicale [1]. Lors de la recherche des plantes réservoirs parmi les adventices, une maladie a été décelée sur *Asystasia gangetica* (L.) T. Anders (Acanthaceae); cette plante pousse fréquemment en bordure de chemin ou de champs. La maladie qui affecte *A. gangetica* provoque une marbrure jaune (fig. 1); cette maladie n'avait pu jusqu'ici être attribuée à un agent pathogène connu. La présente Note fait le point des résultats obtenus dans l'identification d'un virus qui semble être un nouveau membre du groupe des Potyvirus.

MATÉRIELS ET MÉTHODES. — L'inoculum initial provient d'une plante d'*A. gangetica* récoltée en bordure de champs cultivés à Adiopodoumé (Sud de la Côte-d'Ivoire).

1. **Transmission.** — (a) *Transmission mécanique.* — Les feuilles de plantes malades sont broyées dans du tampon phosphate de potassium 0,05 M pH 7,1 contenant 0,01 M de chlorhydrate de cystéine; l'extrait est inoculé par frottement à des plantules ou à des plantes de genres ou espèces variés (cf. résultats), préalablement saupoudrées de carborundum. Les plantes sont soumises aux conditions climatiques naturelles (température moyenne 28°C, humidité moyenne 90%) et maintenues à l'abri des Insectes dans des serres étanches à ceux-ci.

(b) *Transmission par Pucerons.* — Deux espèces de Pucerons ont été utilisées : *Aphis craccivora* (élevé sur Arachide) et *Aphis spiraeola* (récolté sur *Eupatorium odoratum*). Après un jeûne de 2 h et un repas d'acquisition de 5 à 30 mn sur des plantes malades, les Pucerons sont transférés sur des plantules saines d'*A. gangetica*, de *Nicotiana benthamiana* et de *N. megalosiphon*, à raison de 10 individus par plante. Ils sont éliminés par pulvérisation d'un insecticide systémique (méthyl-parathion) après 48 h.

2. **Propriétés biologiques et titrage.** — Les propriétés biologiques ont été déterminées sur un extrait brut, obtenu en broyant des feuilles de *Nicotiana benthamiana* inoculé 1 semaine auparavant, et présentant les symptômes de la maladie.

La détermination de la nature et la concentration en entités infectieuses de l'agent pathogène a été effectuée en inoculant des plants de *Chenopodium amaranticolor* (hôte à réaction hypersensible) et en comptant les lésions locales induites; ou en inoculant des plantes de *N. benthamiana* (hôte à mosaïque systémique) et en évaluant le pouvoir pathogène par la méthode de Raymer et Diener [2].

Le point de dilution limite a été estimé en diluant l'extrait brut dans de l'eau distillée [3].

Le point d'inactivation thermique a été déterminé en évaluant le pouvoir infectieux de 2 ml de l'extrait brut après chauffage de celui-ci pendant 10 mn à différentes températures [3].

L'évolution, en fonction du temps de conservation, du pouvoir infectieux des extraits bruts a été déterminée en évaluant périodiquement le pouvoir pathogène de cet extrait conservé dans différentes conditions; à la température ambiante (25°C), au réfrigérateur (4°C), au congélateur (-30°C).

3. *Purification.* — La purification du virus supposé être l'agent pathogène a été effectuée à partir d'un hôte systémique: *N. benthamiana*. Les feuilles présentant des symptômes sont broyées dans un tampon phosphate de potassium 0,2 M pH 7,8 contenant 1% d'acide thioglycolique, en présence de chloroforme (1 g de feuille/1 ml de chloroforme/2 ml de tampon). Après une centrifugation de 10 mn à 10 000 × g, le surnageant est ultracentrifugé pendant 3 h à 78 000 × g. Les culots sont repris dans du tampon borate de potassium 0,05 M pH 8 et soumis à un nouveau cycle de centrifugation et d'ultra-centrifugation; puis la suspension finale est fractionnée sur gradient de saccharose 10-40% pendant 3 h à 90 000 × g. La bande opalescente parfaitement visible est récoltée, diluée, puis le virus qu'elle contient concentré par une ultra-centrifugation de 3 h à 78 000 × g.

4. *Microscopie électronique.* — Des grilles de microscopie électronique, recouvertes d'un film de « Formvar » et carbonées, ont été préparées pour examiner le virus purifié; une coloration négative avec de l'acétate d'uranyle 0,5% a été effectuée.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Fig. 1. — Symptômes systémiques provoqués par le virus de la Marbrure sur un plant spontané d'*Asystasia gangetica*.

Fig. 1. — Systemic symptoms induced by *Asystasia mottle virus* on *Asystasia gangetica* volunteer.

Fig. 2. — Symptômes systémiques provoqués sur une feuille d'*Asystasia gangetica*, après inoculation mécanique du virus de la Marbrure; à droite feuille saine.

Fig. 2. — Systemic symptoms induced on *Asystasia gangetica* leaf, after mechanical inoculation of *Asystasia mottle virus*; healthy leaf on the right.

Fig. 3. — Lésions locales nécrotiques provoquées par inoculation du virus de la Marbrure d'*Asystasia*, sur une feuille de *Chenopodium amaranticolor*.

Fig. 3. — Necrotic local lesions induced by inoculation of *Asystasia mottle virus* on a leaf of *Chenopodium amaranticolor*.

Fig. 4. — Symptômes systémiques de gaufrage et de mosaïque provoqués sur un plant de *Nicotiana benthamiana*, après inoculation mécanique du virus de la Marbrure d'*Asystasia*.

Fig. 4. — Systemic symptoms of crinkling and mosaic induced on *Nicotiana benthamiana*, after mechanical inoculation of *Asystasia mottle virus*.

Fig. 5. — Aspect en microscopie électronique d'une préparation purifiée du virus de la Marbrure d'*Asystasia*, après coloration négative à l'acétate d'uranyle (G × 50 000). La barre représente 200 nm.

Fig. 5. — Electron microscope aspect of a purified preparation of *Asystasia mottle virus*, after negative staining with uranyl acetate (magnification 50,000). The bar represents 200 nm.

Fig. 6. — Observation en microscopie électronique des inclusions circulaires induites par le virus de la Marbrure d'*Asystasia* dans des cellules de feuille de *N. benthamiana* (G × 35 000).

Fig. 6. — Electron microscope observation of pinwheel inclusions induced by *Asystasia mottle virus* in cells of *N. benthamiana* leaves (magnification 35,000).



Pour l'étude ultra-structurale, des échantillons de feuilles malades ont été préparés par la méthode de Morgan et Rose [4]. Les coupes ont été réalisées au moyen d'un ultra-microtome « Sorvall MT2 B »; elles ont été colorées à l'acétate d'uranyle puis au citrate de plomb [5].

Les observations ont été réalisées au G.E.R.M.E. (Groupement d'Études et de Recherches en Microscopie Électronique) à l'aide d'un microscope « Siemens Elmiskop 102 ».

5. *Sérologie*. — Un antisérum a été préparé en injectant à 1 lapin environ 0,5 mg de virus purifié chaque semaine pendant 6 semaines. Les tests sérologiques ont été effectués par microprécipitation sous huile de paraffine [6].

RÉSULTATS. — 1. *Transmission*. — (a) *Transmission mécanique*. — La maladie a pu être transmise aisément par inoculation mécanique à de jeunes plantules d'*A. gangetica* et à différentes plantes de plusieurs familles : Acanthaceae : *A. gangetica* (marbrure liée aux nervures) (fig. 2), *Crossandra flava* (marbrure diffuse); Aizoaceae : *Tetragonia expansa* (lésions locales chlorotiques); Chenopodiaceae : *Chenopodium amaranticolor* (lésions locales nécrotiques) (fig. 3); Leguminosae : *Phaseolus mungo* (chlorose), *Phaseolus vulgaris* (chlorose); Pedaliaceae : *Sesamum indicum* (spots chlorotiques); Scrophulariaceae : *Antirrhinum majus* (chlorose), *Penstemon hirsutus* (chlorose); Solanaceae : *Browallia speciosa* (chlorose), *Nicotiana benthamiana* (mosaïque et gaufrage) (fig. 4), *N. clevelandii* (marbrure), *N. megalosiphon* (marbrure), *N. tabacum* Samsun NN et Xanthi n.c. (lésions locales, spots concentriques nécrotiques).

(b) *Transmission par Pucerons*. — La maladie n'a pu être transmise par les deux espèces de Pucerons utilisées malgré plusieurs centaines de plantes éprouvées; et cela à partir d'*A. gangetica*, de *N. benthamiana* ou de *N. megalosiphon* infectés.

2. *Propriétés biologiques*. — Le point de dilution limite est compris entre 10^{-3} et 10^{-4} ; la température de thermo-inactivation se situe entre 70 et 75°C. La durée de conservation du pouvoir infectieux à température ambiante est de 3 jours, elle est de plus de 4 mois à 4°C et à -30°C.

3. *Purification*. — L'examen au spectrophotomètre de la suspension virale purifiée montre un maximum d'absorption à 260 nm et un minimum à 247 nm; le rapport A_{260}/A_{280} est de 1,20. En utilisant un coefficient d'absorption A 0,1%/1 cm, $260 = 2,9$ [7], le rendement de la purification est d'environ 15 mg de virus par kilogramme de feuilles. Le pouvoir pathogène de la suspension de virus purifié a été comparée, après dilution, au pouvoir pathogène de l'extrait brut; les résultats obtenus ont montré que ceux-ci étaient identiques pour un nombre de particules considérées du même ordre de grandeur.

4. *Microscopie électronique*. — L'examen en microscopie électronique du virus purifié a montré la présence de particules filamenteuses de 750 ± 15 nm de longueur, pour une largeur de 13 ± 1 nm (fig. 5).

L'observation des coupes effectuées dans les échantillons de feuilles de *N. benthamiana* et de *N. megalosiphon* malades a montré la présence d'inclusions circulaires de type « pinwheel » (fig. 6) [8].

5. *Sérologie*. — Un antisérum a été obtenu avec du virus purifié de titre 1/1024.

Ce dernier a été éprouvé contre les antisérums spécifiques des virus cités ci-dessous, le titre et l'origine étant donné pour chaque antisérum entre parenthèses : Aneilema Mosaic Virus (titre 1/8 192; Dr Bock), Bean Common Mosaic Virus (1/256; Dr Bos), Bean Yellow Mosaic Virus (1/1024; Dr Bos), Clover Yellow Vein Virus (1/2048; Dr Barnett),

Columbia Datura Virus (?; Dr Bartels), Cowpea Aphid-borne Mosaic Virus (1/4 000; Dr Bock), Henbane Mosaic Virus (1/8 000; Dr Bartels), Hippeastrum Mosaic Virus (1/1 024; Dr Brunt), Iris Fulva Mosaic Virus (1/256; Dr Barnett), Parsnip Mosaic Virus (1/64; Dr Murant), Passionfruit Woodiness Virus (?; Dr Smith), Pea Seed-borne Mosaic Virus (1/400; Dr Mink), Peanut Mottle Virus (1/4 000; Dr Bock), Peanut Mottle Virus souche M2 (1/256; Dr Bock), Potato Virus A (1/160; Dr Bartels), Potato Virus Y (1/512; Dr Bartels), Soybean Mosaic Virus (1/128; Dr Barnett), Sugarcane Mosaic Virus (?; Dr Gillaspie), Tobacco Etch Virus (?; Dr Bartels), Tobacco Virus 3 (1/16 000; Dr Guthrie), Turnip Mosaic Virus (1/64; Dr Tomlinson), Wisteria Vein Mosaic Virus (1/1 024; Dr Luisoni). Aucune réaction n'a été observée avec ces différents antisérums.

De même aucune réaction n'a été obtenue avec les antisérums préparés par nous contre les virus suivants trouvés en Côte-d'Ivoire : Canavalia Mosaic Virus (1/2 000), Yam Mosaic Virus (1/500), Groundnut Eyespot Virus souche A (1/2 048), Groundnut Eyespot Virus souche B (1/256), Guinea Grass Mosaic Virus souche A (1/1 024), Guinea Grass Mosaic Virus souche B (1/2 048), Passionfruit Ringspot Virus (1/2 048), Pepper Veinal Mottle Virus (1/4 096), Voandzeia Distortion Mosaic Virus (1/1 000).

CONCLUSION. — Par sa morphologie (virus filamenteux de 750 nm de longueur) [7], et par le type caractéristique des inclusions induites dans les cellules des plantes infectées [8], le virus responsable de la Marbrure d'*Asystasia gangetica* semble bien appartenir au groupe des Potyvirus [7], bien qu'il n'ait pu être transmis par les deux espèces de Puceron utilisées.

Ce virus est à notre connaissance le premier Potyvirus trouvé sur une Acanthacée, mais il possède une gamme d'hôtes assez large puisqu'elle comporte sept familles différentes; ce virus atteint des plantes cultivées comme le Haricot (*Phaseolus vulgaris*) et le Sésame (*Sesamum indicum*).

Aucune relation sérologique n'a pu être établie avec un autre membre du groupe, malgré les tests effectués avec plus de 30 antisérums préparés contre des virus différents. Le Virus de la Marbrure d'*Asystasia gangetica* semble donc être un nouveau membre du groupe des Potyvirus.

(*) Remise le 26 avril 1982, acceptée le 14 juin 1982.

[1] C. FAUQUET et J. C. THOUVENEL, *Initiations-Documentations Techniques* n° 46, 1980, O.R.S.T.O.M., Paris, 128 p.

[2] W. B. RAYMER et T. O. DIENER, *Virology*, 37, 1968, p. 343-350.

[3] D. NOORDAM, *Identification of Plant Viruses*, 1973, Wageningen, 207 p.

[4] C. MORGAN et H. M. ROSE, *Methods in Virology*, K. MARAMOROSCH et H. KOPROWSKI, éd., Academic Press, New York et Londres, 3, 1967, p. 576.

[5] E. S. REYNOLDS, *J. Cell Biol.*, 17, 1963, p. 208-212.

[6] D. H. M. VAN SLOGTEREN, *Proc. of the Second Conference on Potato Virus Diseases*, Lisse, Wageningen, juin 1954.

[7] M. HOLLINGS et A. A. BRUNT, *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*, n° 245, 1981, 7 p.

[8] J. R. EDWARDS et G. R. CHRISTIE, *Ann. Rev. Phytopathol.*, 16, 1978, p. 31-55.

Laboratoire de Virologie, Centre O.R.S.T.O.M. d'Adiopodoumé,
B.P. n° V-51, Abidjan, Côte-d'Ivoire.

1.4.4. CONCLUSION

Les virus que nous venons de décrire constituent seulement une partie des virus que nous avons identifiés (voir chapitre 1.3.), et qui en fait correspond à la partie déjà publiée de ce travail. Nous n'avons exposé ici que les résultats sur les virus typiquement africains, c'est à dire isolés et largement présents sur le continent africain. Si l'on considère la population totale des phytovirus isolés en Côte d'Ivoire (voir chapitre 1.3.), les virus africains constituent la majorité des virus isolés (29 sur 42). Cependant il est intéressant de noter que certains de ces virus se retrouvent également aux Indes ou en Thaïlande. C'est le cas du Cowpea mild mottle virus (IWAKI et al., 1982 ; IIZUKA et al., 1983) ou encore du Peanut clump virus (REDDY et al., 1983). Par ailleurs d'autres maladies virales considérées comme africaines : la Mosaïque Africaine du Manioc, le Maïze streak virus ou le Cowpea golden mosaic virus ont été également décrites aux Indes, mais dans ces cas là nous n'avons pas encore de véritables preuves. Par contre il n'existe pour le moment aucun virus commun, en dehors des virus universellement répandus, aux continents africain et américain.

A ces réalités s'ajoute la preuve apportée par BOCK et al. (1981) selon laquelle il existe une souche Est et une souche Ouest de la Mosaïque Africaine du Manioc, séparées par la Rift Valley. Les introductions de manioc se seraient faites par voies maritimes, dans une première phase de l'Amérique à l'Afrique de l'Ouest et à l'Afrique Centrale, dans une seconde phase de ces 2 points (GUINEE et ANGOLA) vers l'Afrique de l'Est et dans une troisième phase des échanges auraient eu lieu entre l'Afrique de l'Est et les Indes. Ce matériel, sain à l'origine, aurait été contaminé sur place par les mouches blanches avec la souche de virus locale. Les tribus nomades emportant avec elles leurs boutures il serait possible de trouver un endroit où les 2 souches seraient présentes. Ce fut exactement la démarche de BOCK qui retrouva ainsi sur les pentes du Mont Kenya les 2 souches d'African cassava mosaic virus alors que le vecteur ne peut vivre à cette altitude.

De la même façon, nous avons pu montrer (FAUQUET & THOUVENEL, 1977) qu'il existe au moins 2 souches pour le Rice yellow mottle virus, une isolée au Kenya et une seconde en Afrique de l'Ouest.

Tout ceci montre la relation étroite existant entre la géographie et la biologie et peut-être aussi le rôle de la dérive des continents dans l'évolution des virus de plantes.

On peut également ajouter à ceci le fait que pratiquement tous les potyvirus isolés en Côte d'Ivoire sont reliés sérologiquement entre eux, par au moins une liaison, alors que nous n'avons pu mettre en évidence de relations avec les autres potyvirus ou alors tellement faible que l'on ne peut vraiment parler de relation. Est-ce que ce résultat signifie qu'il existe une phylogénie entre ces virus africains ? C'est à nouveau une faible argumentation pour étayer une telle théorie mais c'est encore un argument à prendre en compte. Ce ne sont que des éléments indicatifs, mais en ce qui concerne la paleophytovirologie nous avons si peu d'indications, surtout pour l'Afrique, que chaque renseignement est en soi intéressant.

1.5.

CONCLUSION GENERALE

1.5. CONCLUSION

Les phytovirus de Côte d'Ivoire ont été décrits sous trois aspects :

- d'un point de vue thématique; afin d'avoir une vue d'ensemble sur la population des phytovirus ou sur des sous-populations infectant telle ou telle plante. Vue d'ensemble également au niveau de leurs vecteurs, ou de la structure de leurs particules virales,
- du point de vue plante-hôte naturelle; afin de mieux connaître les maladies provoquées par un virus (ou une souche de virus) donné,
- enfin du point de vue du virus; afin de mieux caractériser les virus eux-mêmes.

Parmi les 47 maladies virales décrites dans le chapitre 1.3., 42 sont provoquées par des agents viraux bien identifiés et 5 maladies sont encore inconnues. De plus, sans aucun doute, des viroses n'ont pas encore été observées, ou bien elles ont été confondues avec des maladies déjà identifiées ou avec d'autres maladies.

Parmi ces 47 viroses, nous pouvons dire avec certitude que 25 d'entre elles sont aussi présentes dans d'autres pays de l'Afrique de l'Ouest ou de l'Afrique Centrale. Par ailleurs une grande partie des viroses décrites en Afrique de l'Est est également présente en Afrique de l'Ouest avec seulement quelques maladies particulières qui n'y ont pas encore été isolées. Par conséquent on peut dire que chaque zone géographique qui reflète une zone climatique et donc une zone écologique, contient une population de phytovirus dont une partie est commune à toute l'Afrique Tropicale alors qu'une seconde partie lui est propre. Ceci est manifeste par exemple au Nigeria, où climatiquement, puis traditionnellement, l'on cultive en grande quantité de nombreuses légumineuses à graine. Le nombre de coléoptères vecteurs est par conséquent également important, il est donc naturel que les viroses transmises par coléoptères y soient plus nombreuses qu'ailleurs. Cette notion de zone géographique se retrouve également dans l'importance des maladies au cours du temps. Nous n'avons pas de mesures mais il semble cependant évident que certaines maladies comme le Maize streak virus sont beaucoup plus importantes et fréquentes en Afrique de l'Est ou au Nigeria, qu'en Afrique de l'Ouest ou en zone forestière. Cela est sans aucun doute étroitement lié avec la dispersion des vecteurs et leur équilibre dans la culture considérée dans un endroit donné.

En ce qui concerne les plantes-hôtes naturelles des virus de Côte d'Ivoire, nous avons décrit des maladies virales sur :

- les plantes à racines et à tubercules,
- les céréales,
- les plantes maraîchères,
- les légumineuses,
- les plantes industrielles,
- les plantes fourragères,
- les plantes ornementales,
- et les plantes adventices.

Il semble donc que toutes les plantes cultivées soient plus ou moins atteintes de viroses, mais à des degrés divers en nombre de maladies et en fréquence. L'effort de recherche a surtout porté sur les plantes vivrières, ce qui explique le petit nombre de viroses étudiées sur les autres plantes. Notamment en ce qui concerne les plantes adventices, il faut reconnaître que nous ne les avons pratiquement pas abordées, ce qui d'un point de vue écologique est sans doute assez regrettable. Dans cette dernière catégorie nous n'avons pas non plus décrit les maladies induites par des virus isolés précédemment sur des plantes cultivées: on connaît par exemple 11 réservoirs potentiels de l'African cassava mosaic virus, 1 réservoir pour le Pepper vein mottle virus, 1 pour le Groundnut crinkle virus, 4 pour l'Okra mosaic virus, 1 pour le Rice yellow mottle virus... Ces réservoirs sont presque tous mentionnés dans le chapitre 1.3.

D'un point de vue botanique les plantes-hôtes cultivées représentent les familles suivantes :

- Convolvulaceæ
- Cucurbitaceæ
- Euphorbiaceæ
- Graminæ
- Leguminosæ
- Malvaceæ
- Musaceæ
- Passifloraceæ
- Solanaceæ

ce qui constitue un éventail important des plantes cultivées en Afrique. D'un point de vue professionnel cette diversité nous a procuré une expérience inestimable qui nous a permis dans certains cas d'aboutir : c'est l'expérience conjuguée obtenue avec le Clump de l'arachide et avec le riz (*Oryza sativa*) qui nous a permis de découvrir le Rice stripe necrosis virus ! De la même façon certaines plantes, comme l'igname, contiennent de grandes quantités de mucilage qui constituent un obstacle à la purification des virus de plantes. A nouveau l'expérience acquise avec l'igname nous a permis de purifier partiellement le géminivirus provoquant l'enroulement du gombo.

Pour étudier les maladies virales de Côte d'Ivoire nous avons dû manipuler :

- des pucerons,
- des aleurodes,
- des cicadelles,
- des chrysomelles,
- des acariens,
- des cochenilles,
- des nématodes,
- et des champignons de racines.

ce qui constitue une diversité enrichissante et nous a permis d'acquérir une grande expérience.

Comme nous l'avons exposé au chapitre 1.2, nous retrouvons en Afrique la quasi totalité des vecteurs connus de virus de plantes avec une particularité tropicale quant à leurs importances respectives. Si les pucerons sont vecteurs du plus grand nombre de viroses, les aleurodes sont probablement les plus efficaces en nombres de plantes infectées. Ceci est d'ailleurs vrai pour d'autres régions tropicales comme l'Asie, l'Amérique Centrale et l'Amérique du Sud. Les mouches blanches sont véritablement les vecteurs des viroses tropicales. Ceci explique probablement qu'elles aient été très peu étudiées et que les viroses qu'elles transmettent, qui ne sont généralement pas mécaniquement transmissibles, soient donc aussi peu étudiées et mal connues.

Il faut retenir également le rôle majeur des coléoptères qui transmettent, en Afrique, par rapport aux autres parties du monde, un nombre important de virus. Enfin il faut noter la présence de deux virus transmis par des champignons de racines: les plasmodiophorales (*Polymyxa graminis*), ce qui est assez peu courant pour les virus de plantes.

La connaissance des modes de transmission végétatifs : boutures, semenceaux, graines... avec la connaissance des vecteurs actifs permet de mieux comprendre la dispersion des virus dans les plantes-hôtes sur ce continent. On peut comprendre que tous les ignames soient virosés par le Yam mosaic virus, étant donné qu'il est transmis par les semenceaux, alors qu'on ne peut jamais trouver un seul puceron sur cette plante et qu'il est impossible d'y faire un élevage. De la même façon pour le Voandzeia mosaic virus, qui est un carlavirus transmis par mouche blanche, il est possible dans une même région de trouver des parcelles entièrement virosées et des parcelles totalement saines. Après enquête il s'avère que les paysans se procurent les graines chaque année de la même façon, or ce virus étant transmis à 20 % par les graines, le paysan apporte l'inoculum primaire qui diffuse rapidement dans son champ lorsque le vecteur y est largement présent.

Par contre dans de nombreux cas la simple connaissance des modes de transmission ne suffit pas pour comprendre la situation actuelle dans laquelle se trouve une maladie virale.

L'exemple le plus évident est la Mosaïque Africaine du Manioc. Le manioc fut introduit en Afrique au XVIème siècle, par les bateaux portugais, probablement sous forme de graines, car les viroses américaines n'ont pas encore été décrites (avec certitude) en Afrique et les autres maladies sont apparemment d'introduction récente.

La Mosaïque du manioc est typiquement africaine, ou du moins elle n'existe pas sur le continent américain. Actuellement on peut considérer que tous les maniocs plantés en Afrique sont virosés. Il y a donc eu simultanément transmission du virus, par les aleurodes, des réservoirs naturels au manioc et diffusion par l'homme du virus dans les boutures, sans que l'on sache quel est le mode de propagation le plus actif dans le temps.

Dans ce cas il faut développer un important programme de recherche pour évaluer chacune des voies de diffusion de la maladie, afin de savoir quelle méthode de lutte employer (FAUQUET et al., 1983).

Maintenant en ce qui concerne les virus eux-mêmes, le fait le plus frappant est leur originalité : ils sont presque tous typiquement africains ou, du moins, ils n'ont pas été décrits dans d'autres parties du monde (exception faite de quelques points communs avec les Indes). Sur 42 virus identifiés en Côte d'Ivoire, 29 sont "Africains" et ce fait serait confirmé si l'on faisait le même calcul pour toute la zone tropicale de l'Afrique. Ceci n'est en réalité pas très surprenant, pour trois raisons :

- la première est mathématique : comme il n'y a pas eu beaucoup de virus précédemment décrits il est normal d'en découvrir de nouveaux ;
- la seconde touche à la particularité tropicale (plante-hôte, climat) de cette zone qui lui confère une certaine originalité en matière de virus;
- la troisième est due au caractère de virginité de ce continent : en dehors d'importations spécifiques de plantes domestiques il n'y a pas eu, en raison des faibles populations africaines, d'échanges importants en quantités de matériel végétal. Phénomène qui commence à prendre de l'importance avec le développement de plantations.

Les virus identifiés appartiennent à 11 groupes de virus :

- Cucumovirus
- Geminivirus
- Luteovirus
- Sobemovirus
- Tymovirus
- Furovirus
- Tobamovirus
- Carlavirus
- Potexvirus
- Potyvirus
- Rhabdovirus

ce qui est une faible représentation des 26 groupes de la classification des virus de plantes, mais une représentation presque normale pour une région donnée, d'autant que nombre de groupes de la classification ne contiennent qu'un seul individu.

La spécificité africaine des phytovirus peut s'exprimer par le fait que les virus isolés sont nouveaux mais aussi par le fait que tous les virus d'un groupe donné se marginalisent par rapport à d'autres membres de ce même groupe, isolés ailleurs. C'est le cas des potyvirus identifiés en Côte d'Ivoire. Ils sont presque tous sérologiquement reliés entre eux, par au moins une relation (voir chapitre 1.2.), mais pas ou extrêmement peu reliés avec d'autres potyvirus. Ceci est confirmé par le fait que les potyvirus universellement répandus que nous avons isolés en Côte d'Ivoire ne sont pas reliés à ces potyvirus africains (comme le Maize dwarf mosaic virus) et tout récemment nous avons montré que l'Asystasia mottle virus (virus d'une adventice) n'était pas non plus relié au sous-groupe des potyvirus "Africains". Une des hypothèses que l'on peut avancer est que ces potyvirus africains sont les descendants d'un phylum Africain de potyvirus ?

Une seconde remarque intéressante pour les potyvirus de Côte d'Ivoire concerne le fait que ces potyvirus ont rempli une "niche écologique". En effet nous n'avons pas isolé des potyvirus universellement répandus comme le Potato virus Y, le Tobacco etch virus, le Bean yellow mosaic virus.. ou bien alors ils sont encore marginalisés comme le Maize dwarf mosaic virus ; d'autres virus occupent leur plante-hôte habituelle. Il sera d'ailleurs très intéressant de voir, au cours du temps, comment va évoluer cette situation, si ces virus resteront les parasites "privilégiés" de ces plantes, ou s'ils seront supplantés par des virus étrangers plus performants qui finiront par être importés.

Ceci nous amène à la notion d'équilibre entre le milieu, les plantes, les pathogènes et leurs vecteurs. Pour illustrer cette notion qui est forte en Afrique nous pouvons relater les résultats de nos travaux faits sur le Rice yellow mottle virus. Ce sobemovirus typiquement africain (BAKKER, 1974; FAUQUET & THOUVENEL, 1976 ; 1977) infecte le riz et quelques graminées dont le riz sauvage *Oryza barthii* et il est transmissible par plusieurs espèces de chrysomelles (BAKKER, 1974).

Le pouvoir infectieux de ce virus est phénoménal, puisque nous avons calculé qu'un seul plant de riz virosé contient suffisamment de particules virales pour infecter toutes les rizières de Côte d'Ivoire (FAUQUET & THOUVENEL, 1976). Actuellement ce virus est présent dans toute l'Afrique Tropicale (Kenya, Ouganda, Nigéria, Haute-Volta, Mali, Côte d'Ivoire, Libéria, Sierra Leone...), dans de nombreuses rizières mais à l'état ponctuel. C'est donc un virus africain endémique, présent partout, avec un potentiel extraordinaire mais qui pourtant n'explose pas.

Pendant deux années successives nous avons suivi la contamination d'une rizière de Côte d'Ivoire. Pendant la saison sèche le virus est présent en très faible quantité dans les plants d'*Oryza barthii* qui subsistent sur les talus. Aux premières pluies ces talles repoussent, le virus se multiplie, les

vecteurs également. Les paysans plantent le riz dans la rizière et lorsqu'il est au bon stade de développement les vecteurs volent des talles d'*Oryza barthii* vers les jeunes talles d'*Oryza sativa*, fondant ainsi des foyers primaires dans la rizière. Ces chrysomelles bougent peu, la dissémination se fait alors par contact de feuille à feuille. Donc toute la dynamique de la virose repose sur la dynamique du vecteur. Si, une année, les conditions sont favorables à l'insecte, la rizière est totalement envahie, sinon il y a seulement quelques taches de plantes virosées, sans conséquence. La seconde année de notre observation nous avons éradiqué tous les *Oryza barthii* des talus et l'épidémie n'a pas eu lieu.

Par conséquent chaque maladie a atteint un équilibre, il peut être de 100 % comme pour la Mosaïque du manioc ou de quelques plantes seulement comme pour la panachure du riz.

Nous sommes conscients que les connaissances sur les virus de plantes africains sont encore précaires et qu'il est nécessaire de poursuivre leur étude, néanmoins que ce soit au niveau des plantes-hôtes infectées, des vecteurs ou des virus, le catalogue est relativement complet maintenant et nous pouvons commencer à parler des viroses, des virus et des vecteurs africains dans leur ensemble.

En conclusion nous pouvons dire que nous connaissons actuellement une population phytovirale typiquement africaine, transmise par des vecteurs ayant des spécificités tropicales, qui est encore dans une phase d'équilibre naturel. Nous pouvons souhaiter qu'elle le demeure.

1.6.

BIBLIOGRAPHIE

1.6. BIBLIOGRAPHIE

- A'BROOK, J. (1964). The effect of planting date and spacing on the incidence of groundnut rosette disease and the vector, *Aphis craccivora*, at Moken, Northern Nigeria. *Ann. appl. Biol.*, 54 : 194-208.
- ADEGBOLA, M.O.K. (1965). The relative efficiency of *Planococcoides* (= *Pseudococcus*) *njalensis* (Laing) and *Ferrisia virgata* (Ck11) in the transmission of CSSV. *Ann. Rep. Cocoa Res. Inst., Nigeria, 1963-64* : 43-44.
- ALLEN, D.J., THOTTAPPILLY, G. & ROSSELL, H.W. (1982). Cowpea mottle virus : field resistance and seed transmission in virus-tolerant cowpea. *Ann. appl. Biol.*, 100 : 331-336.
- ANNO-NYAKO, F.O., VETTEN, H.J., ALLEN, D.J. & THOTTAPPILLY, G. (1983). The relation between Cowpea golden mosaic and its vector, *Bemisia tabaci*. *Ann. appl. Biol.*, 102 : 319-323.
- Anon. (1984). Le point de la recherche. Institut International d'Agriculture Tropicale, 1983, Ibadan, Nigeria, pp. 123.
- ATTAFUAH, A. & TINSLEY, T.W. (1958). Virus diseases of *Adansonia digitata* (Bombacaceae) and their relation to cocoa in Ghana. *Ann. appl. Biol.*, 46 : 20-22.
- ATTERE, A.F. & FATOKUN, C.A. (1983). Reaction of *Oryza glaberrima* accessions to rice yellow mottle virus. *Plant Disease* 67 : 420-421.
- BAKKER, W. (1974). Characterization and ecological aspects of rice yellow mottle virus in Kenya. *Agric. Res. Rept. 829, Wageningen*, pp. 152.
- BEIJERINCK, M.W. (1898). *Verhand Kon. Akad. Wetten. Amsterdam* 6 : 3 (Phytopathological Classic 7 : 33).
- BINK, F.A. (1973). Nouvelle contribution à l'étude de la mosaïque du cotonnier au Tchad. I. Symptômes, transmission par *Bemisia tabaci* Genn. II. Observations sur *B. tabaci* III. Autres maladies virales. *Cot. Fib. trop.*, 28 : 365-378.
- BINK, F.A. (1975). Leaf-curl and mosaic disease of cotton in Central Africa. *Cott. grow. Rev.*, 52 : 233-241.
- BLENCOWE, J.W. (1962). Future plans for cocoa breeding in Ghana. *Rep. Cocoa Conf. London 1961*, 141-145.
- BLENCOWE, J.W. & ATTAFUAH, A. (1959). Resistance and tolerance. *Ann. Rep. W. Afr. Cocoa Res. Inst. 1957-58*, 24-25.
- BOCK, K.R. (1971). Legume viruses. *E. Afric. Agric. For. J.*, 37 : 60-64.
- BOCK, K.R. (1973). East African strains of cowpea aphid-borne mosaic virus. *Ann. appl. Biol.*, 74 : 75-83.
- BOCK, K.R. (1973). Peanut mottle in East Africa M. *Ann. appl. Biol.*, 74 : 171-179.
- BOCK, K.R. (1980). Cassava mosaic disease in Kenya : associated viruses and field control. *Seconde Conférence Internationale sur l'Impact des maladies à virus sur le Développement des pays Africains et du Moyen-Orient. 1-6 décembre 1980, Nairobi, Kenya.*
- BOCK, K.R. (1982). Geminivirus diseases. *Plant Dis.*, 66, 266-270.
- BOCK, K.R. (1983). Epidemiology of Cassava mosaic disease in Kenya. In R.T. PLUMB & J.M. TRESH. *Plant virus epidemiology. Blackwell Sci. Pub., Oxford*, 337-347.
- BOCK, K.R. & GUTHRIE, E.J. (1977). African mosaic disease in Kenya. *Proc. Cassava Protection Workshop. CIAT, Cali, COLUMBIA*, 41-44.
- BOCK, K.R. & GUTHRIE, E.J. (1978). Transmission of African cassava mosaic by mechanical inoculation. *Plant Disease* 62 : 580-581.
- BOCK, K.R. & GUTHRIE, E.J. (1982). Control of cassava mosaic disease in Kenya. *Trop. Pest. Manag.*, 28 : 219-222.
- BOCK, K.R. & WOODS, R.D. (1983). Etiology of African cassava mosaic disease. *Plant Disease* 67 : 994-995.
- BOCK, K.R., GUTHRIE, E.J. & FIGUEIREDO, G. (1981). A strain of cassava latent virus occurring in coastal districts of Kenya. *Ann. appl. Biol.*, 99 : 151-159.
- BOCK, K.R., GUTHRIE, E.J. & MEREDITH, G. (1977). Clitoria yellow vein virus, a tymovirus from Kenya. *Ann. appl. Biol.*, 85 : 97-103.
- BOCK, K.R., GUTHRIE, E.J. & MEREDITH, G. (1978). Distribution, host range, properties and purification of cassava latent virus, a geminivirus. *Ann. appl. Biol.*, 90 : 361-367.

- BOCK, K.R., GUTHRIE, E.J. & MEREDITH, G. (1978). Viruses occurring in East Africa that are related to Peanut mottle virus. *Ann. appl. Biol.*, 89 : 423-428.
- BOCK, K.R., GUTHRIE, E.J. & WOODS, R.D. (1974). Purification of maize streak virus and its relationship to viruses associated with streak diseases of sugarcane and *Panicum maximum*. *Ann. appl. Biol.*, 77 : 289-296.
- BOCK, K.R., GUTHRIE, E.J., FIGUEIREDO, G. & WOODS, R.D. (1981). Purification and some properties of *Tephrosia* symptomless virus. *Ann. appl. Biol.*, 97 : 277-283.
- BOCK, K.R., GUTHRIE, E.J., MEREDITH, G.C. & NJUGUNA, J.M.G. (1975). Groundnut viruses. *Ann. Rept. East Afric. Agric. For. Res. Org. for 1974*, 120.
- BOOKER, R.H. (1963). The effect of sowing date and spacing on rosette disease of groundnut in Northern Nigeria, with observations on the vector, *Aphis craccivora*. *Ann. appl. Biol.*, 52 : 125-131.
- BOUGHEY, A.S. (1947). The causes of variation in the incidence of cotton leaf curl in the Sudan Gezira. *Imp. Mycol. Inst., Mycol. Paper 22* : 1-9.
- BOURIQUET, G. (1946). Les maladies des plantes cultivées à Madagascar. Ed. by Paul Lechevalier. *Encycl. mycol.*, 12, pp. 545. (*Rev. appl. Mycol.*, 27 : 79).
- BOX, H.M. (1945). Insect transmission of the "swollen-shoot" virus in West Africa. *Nature, London* 155 : 608-609.
- BOZARTH, R.F., LANA, A.O., KOENIG, R. & REESE, J. (1976). Properties of the Nigerian and Ivory Coast strains of the Okra mosaic virus. *Phytopathology* 67 : 735-737.
- BRADER, L. & ATGER, P. (1971). Quelques réflexions sur une nouvelle maladie épidémique des cotonniers au Tchad. *Cot. Fib. trop.*, 26 : 225-228.
- BRUNT, A.A. (1970). Cocoa swollen-shoot. CMI/AAB, Descriptions of Plant Viruses, N° 10, 4 p.
- BRUNT, A.A. & KENTEN, R.H. (1960). Mechanical transmission of cocoa swollen-shoot virus. *Virology* 12 : 328-330.
- BRUNT, A.A. & KENTEN, R.H. (1971). Pepper veinal mottle virus - a new member of the potato virus Y group from pepper (*Capsicum annum* L. and *C. frutescens* L.) in Ghana. *Ann. appl. Biol.*, 69 : 235-243.
- BRUNT, A.A. & KENTEN, R.H. (1973). Cowpea mild mottle, a newly recognized virus infecting cowpeas (*Vigna unguiculata*) in Ghana. *Ann. appl. Biol.*, 74 : 67-74.
- BRUNT, A.A. & PHILLIPS, S. (1981). "Fuzzy vein" a disease of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in Western Nigeria induced by Cowpea mild mottle virus. *Trop. Agric. Trin.*, 58 : 177-180.
- BRUNT, A.A., ATKEY, P.T. & WOODS, R.D. (1983). Intracellular occurrence of Cowpea mild mottle virus in two unrelated plant species. *Intervirology* 20 : 137-142.
- BRUNT, A.A., BARTON, R.J. & PHILLIPS, S. (1980). Hibiscus latent ringspot virus, a newly recognized virus from *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae) in Western Nigeria. *Ann. appl. Biol.*, 96 : 37-43.
- CATELAND, B. (1971). Transmission par greffage d'une nouvelle maladie épidémique des cotonniers au Tchad. *Cot. Fib. trop.*, 26 : 363-365.
- CATELAND, B. (1973). Etude de la résistance variétale des cotonniers à la mosaïque du Tchad. I. Choix d'un crible de sélection. *Cot. Fib. trop.*, 28 : 301-305.
- CATELAND, B. & BINK, F.A. (1974). Etude de la résistance variétale des cotonniers à la mosaïque du Tchad. *Cot. Fib. trop.*, 25 : 405-407.
- CAUQUIL, J. (1977). Etudes sur une nouvelle maladie d'origine virale du cotonnier : la maladie bleue. *Cot. Fib. trop.*, 32 : 259-278.
- CAUQUIL, J. & VAISSAYRE, M. (1971). La maladie bleue du cotonnier en Afrique : transmission de cotonnier à cotonnier par *Aphis gossypii* Glover. *Cot. Fib. trop.*, 26 : 463-466.
- CHANT, S.R. (1958). Studies on the transmission of Cassava mosaic virus by *Bemisia* spp. (Aleyrodidae). *Ann. appl. Biol.*, 46 : 210-215.
- CHANT, S.R. (1959). Viruses of cowpea, *Vigna unguiculata* L (WALP) in Nigeria. *Ann. appl. Biol.*, 47 : 565-572.
- COURS, G. (1951). Le manioc à Madagascar. *Mem. Inst. Sci. Madagascar, sér. B, Biol. Vég.*, 3 : 203-416.
- COUTEAUX, L., LEFORT, P.L. & KUAKUVI, E. (1968). Quelques observations sur le "leaf curl" du cotonnier chez *G. barbadense* à la station d'Anié-Mono (Togo). *Cot. Fib. trop.*, 23 : 506-507.

- DADE, H. A. (1931). Cassava mosaic. Gold Coast Dept. Agric., Year Book, 23 : 245-247. (In Rev. appl. Mycol., 11 : 762).
- DALE, W.T. (1955a). Optimum conditions for transmission. Ann. Rep. W. Afr. Cocoa Res. Inst., 1954-55, 33-35.
- DALE, W.T. (1957). Insect transmission studies. Ann. Rep. W. Afr. Cocoa Res. Inst., 1955-56, 30-31.
- DALE, W.T. (1958). Insect transmission studies. Ann. Rep. W. Afr. Cocoa Res. Inst., 1956-57, 22-24.
- DENECHERE, M. (1981). Note sur la distribution et l'évaluation des populations d'*Aphis gossypii* Glover. (Hyménoptère, Aphididae) sur cotonniers en République centrafricaine. Cot. Fib. trop., 36 : 271-280.
- DOKU, E.V. (1965). Breeding for yield in cassava. 1°. Indices of yield. Ghana. J. Sci., 5 : 42-52.
- DOUGHTY, L.R. (1958). Cassava breeding for resistance to mosaic and brown streak viruses. Ann. Rept. East Afric. Agric. Fores. Res. Org., 48-51.
- DUBERN, J. & DOLLET, M. (1981). Groundnut crinkle virus, a new member of the carlavirus group. Pytopath. Z., 101 : 337-347.
- DYCK, J.M. (1979). La maladie bleue du cotonnier au Tchad. Cot. Fib. trop., 34 : 229-238.
- ESENAM, E.U. (1966). Some observations on the maize streak disease in Western Nigeria. Nigerian Agric. J., 3 : 38-41.
- FARGETTE, D., FAUQUET, C. & THOUVENEL, J-C. (1985). Field studies on the spread of African Cassava Mosaic. Ann. appl. Biol., 106 : 285-294.
- FARGETTE, D., FAUQUET, C. & THOUVENEL, J-C. (1986d). Epidémiologie de la Mosaïque Africaine du Manioc : méthodes d'études et difficultés rencontrées. Proc. Colloque d'Epidémiologie de la Société Française de Phytopathologie, 14-15 Mai 1985, Versailles, FRANCE.
- FARGETTE, D., FAUQUET, C. & THOUVENEL, J-C. (1986f). Epidémiologie de la Mosaïque Africaine du Manioc : Développement de la maladie dans l'espace. Proc. Colloque d'Epidémiologie de la Société Française de Phytopathologie, 14-15 Mai 1985, Versailles, FRANCE.
- FARGETTE, D., FAUQUET, C., LAVILLE, J. & THOUVENEL, J-C. (1986b). Cassava crop losses due to the African Cassava Mosaic Virus. (Soumis à Tropical Pest Management).
- FARGETTE, D., FAUQUET, C., LAVILLE, J. & THOUVENEL, J-C. (1986c). Patterns of spread of African Cassava Mosaic Virus. (Soumis à Ann. appl. Biol.).
- FARGETTE, D., FAUQUET, C., LAVILLE, J. & THOUVENEL, J-C. (1986g). Epidémiologie de la Mosaïque Africaine du Manioc : 1) Contamination primaire et secondaire. 2) Développement de la maladie dans le temps. Proc. Colloque d'Epidémiologie de la Société Française de Phytopathologie, 14-15 Mai 1985, Versailles, FRANCE.
- FARGETTE, D., FAUQUET, C., RAVEN, P., LAVILLE, J. & THOUVENEL, J-C. (1986e). Epidémiologie de la Mosaïque Africaine du Manioc : 1) Ecologie. 2) Sources d'infections. Proc. Colloque d'Epidémiologie de la Société Française de Phytopathologie, 14-15 Mai 1985, Versailles, FRANCE.
- FARGETTE, D., THOUVENEL, J-C. & FAUQUET, C. (1986a). Virus content and symptom expression of cassava leaves infected by African Cassava Mosaic Virus. (Soumis à Phytopathology).
- FARQHASON, C.O. (1912). Rep. Mycologist. Dep. Agric. Nigeria. (in TARR, 1951).
- FAUQUET, C. & THOUVENEL, J-C. (1977). Isolation of the Rice yellow mottle virus in Ivory Coast. Plant Dis. Repr., 61 : 443-446.
- FAUQUET, C. & THOUVENEL, J-C. (1978). Identification of Rice yellow mottle virus in Ivory Coast. In Rice in Africa. Ed. by I.W. BUDDENHAGEN & G.I. PERSLEY, Academic Press, New-York, 307-310.
- FAUQUET, C. & THOUVENEL, J.C. (1980). Inventaire des maladies virales des plantes cultivées en Côte d'Ivoire. Ed. by ORSTOM, Paris, Init. Doc. Tech., 46, pp. 128.
- FAUQUET, C. & THOUVENEL, J.C. (1986). Maladies Virales des Plantes en Côte d'Ivoire. Ed. by ORSTOM, Paris, Init. Doc. Tech., ?, pp. 228.
- FAUQUET, C., FARGETTE, D. & THOUVENEL, J-C. (1986d). Epidemiology of the African Cassava Mosaic, forecasting and perspectives of control. Proc. Seminar on "the role of agro-meteorology and biogeography in forecasting pest and disease outbreaks", Slough, 24-28 June 1985, ENGLAND.
- FAUQUET, C., DE WIJS, J.J., DUBERN, J., GIVORD, L. & THOUVENEL, J-C. (1976). Maladies d'Origine Virale des Plantes Cultivées en Zone Tropicale Etudiées à l'ORSTOM. Ed. by ORSTOM, Paris, Init. Doc. Tech., N°31, pp. 29.

- FAUQUET, C., FARGETTE, D., DEJARDIN, J., COLON, L., RAVEN, P. & THOUVENEL, J.-C. (1986c). Epidémiologie de la Mosaïque Africaine du Manioc : Etude des composantes de la résistance du manioc à la mosaïque africaine du manioc. Proc. Colloque d'Epidémiologie
- FAUQUET, C., FARGETTE, D., LAVILLE, J. & THOUVENEL, J.-C. (1986a). Some aspects of the epidemiology of African Cassava Mosaic Virus in the Ivory-Coast. (Soumis à Ann. appl. Biol).
- FAUQUET, C., FARGETTE, D., LAVILLE, J. & THOUVENEL, J.-C. (1986b). Epidémiologie de la Mosaïque Africaine du Manioc : Essai multilocal. Proc. Colloque d'Epidémiologie de la Société Française de Phytopathologie, 14-15 Mai 1985, Versailles, FRANCE.
- FAUQUET, C., FARGETTE, D., THOUVENEL, J.-C. & MONSARRAT, A. (1983). Etude de la Mosaïque Africaine du Manioc. Rapport multigr. ORSTOM, pp. 32, 5 photos.
- FIELDING, W.L. (1949). Research provides answer to streak virus in maize, mixed hybrid shows strong resistance to virulent disease in Barberton area. Farm Wkly., 76 : 50-51.
- FOURNIER, J. & CATELAND, B. (1971). Etude du comportement de deux variétés de cotonniers cultivés au Tchad en présence d'une mosaïque, peut-être nouvelle. Cot. Fib. trop., 26 : 229-233.
- FULLER, C. (1901). "Mealie variegation". First Rep. Gov. Entomol. Natal., 1899-1900, 17-19.
- GHESQUIERE, J. (1932). Sur la mycophærellose des feuilles de manioc. Inst. Col. Belg. Bull., 3 : 160-178. (In Rev. appl. Mycol., 12 : 137).
- GIHA, O.H. & NOUR, M.A. (1969). Epidemiology of cotton leaf curl in the Sudan. Cott. grow. Rev., 46 : 105-118.
- GILLIER, P. (1978). Nouvelles limites des cultures d'arachides résistantes à la sécheresse et à la Rosette. Oléagineux 33 : 25-28.
- GIVORD, L. & KOENIG, R. (1974). Okra mosaic virus. CMI/AAB, Descriptions of Plant Viruses, N° 128, 4 p.
- GOLDING, F.D. (1930). A vector of leaf curl of cotton in Southern Nigeria. Emp. Cott. grow. Rev., 7 : 120-126.
- GOLDING, F.D. (1936). Cassava mosaic in southern Nigeria. Eleventh. Bull. Dep. Nigeria, 1-10. (In. Rev. appl. Mycol., 15 : 701).
- GORTER, G.J.M.A. (1951). Streak disease of maize - helpful measures for its prevention. Farm. S. Afr., 26 : 361-362.
- GORTER, G.J.M.A. (1953). Studies on the spread and control of the streak disease of maize. Union S. Afr. Dep. Agric. For. Sci. Bull., 341 : 1-20.
- GORTER, G.J.M.A. (1959). Breeding maize for resistance to streak. Euphytica 8 : 234-240.
- HAHN, S.K. (1978). Breeding of cassava for resistance to cassava mosaic disease (CMD) and bacterial blight (BB) in Africa. In. Diseases of Tropical Food Crops. Ed by H. MARAITE & J.A. MEYER. Proc. Inter. Symp., LOUVAIN LA NEUVE, 211-219.
- HAHN, S.K., HOWLAND, A.K. & TERRY, E.R. (1980). Correlated resistance of cassava to mosaic and bacterial blight diseases. Euphytica 29 : 305-311.
- HAHN, S.K., TERRY, E.R. & LEUSCHNER, K. (1980). Breeding cassava for resistance to Cassava mosaic disease. Euphytica 29 : 673-683.
- HAYES, T.R. (1932). Groundnut rosette disease in Gambia. Trop. Agric. Trin., 9 : 211-217.
- HEDIN, L. (1931). Culture du Manioc en Côte d'Ivoire : observations complémentaires sur la mosaïque. Rev. Bot. Appl., 11 : 558-563.
- HOLLINGS, M., STONE, O.M. & BOCK, K.R. (1976). Purification and properties of sweet potato mild mottle a whitefly borne virus from sweet potato (*Ipomea batatas*) in East Africa. Ann. appl. Biol., 22 : 511-528.
- HOPKINS, J.C. (1935). Suspected "streak" disease of maize. Notice to growers. Rhodesia Agric. J., 32 : 234-236.
- HULL, R. & ADAMS, A.N. (1968) Groundnut rosette and its assistor virus. Ann. appl. Biol., 62 : 139-145.
- HUTCHINSON, J.B., KNIGHT, R.H. & PEARSON, E.O. (1950). Response of cotton to lear curl disease. J. Genet., 50 : 100-111.
- IGWEGBE, E.C.K. (1966a). The preferences shown by *Planococcoides njalensis* (Laing) and *Ferrisia virginata* (Ck 11) for different feeding sites and its effect on their efficiency as vectors. Ann. Rep., Cocoa Res. Inst. Nigeria, 1964-65, 60-62.
- IGWEGBE, E.C.K. (1966b). Availability of CSSV in different cocoa clone to *Planococcoides njalensis* (Laing). Ann. Rep., Cocoa Res. Inst. Nigeria, 1964-65, 62-65.

- IIZUKA, N., RAJESHWARI, R., REDDY, D.V.R., OOTO, T., MUNIYAPPA, V., BHARATHAN, N & GHANEKAR, A.M. (1983). Natural occurrence of Cowpea mild mottle virus on groundnut (*Arachis hypogaea*) in India. *Phytopath. Z.*, 109 : 245-253.
- IWAKI, M., THONGMEEARKOM, P., PROMMIN, M., HONDA, Y. & HIBI, T. (1982). Withefy transmission and some properties of Cowpea mild mottle virus on soybean in Thailand. *Plant Disease* 66 : 365-368.
- JACK, R.W. (1937). Division of Entomology annual report for the year 1936. *Rhodesia Agric. J.*, 32 : 234-236.
- JENNINGS, D.L. (1957). Further studies in breeding cassava for virus resistance. *East. Afr. Agric. J.*, 22 : 213-219.
- JENNINGS, D.L. (1960). Observations on virus diseases of cassava in resistance and susceptible varieties. 1. Mosaic disease. *Emp. J. Exp. Agric.*, 28 : 23-34.
- KENTEN, R.H. (1972). The purification and some properties of cocoa necrosis virus, a serotype of tomato black ring virus. *Ann. appl. Biol.*, 71 : 119-126.
- KENTEN, R.H. & LEGG, J.T. (1970). Methods of assessing the tolerance and resistance of different types of cocoa to cocoa swollen-shoot virus. *Ann. appl. Biol.*, 65 : 419-424.
- KENTEN, R.H. & LOCKWOOD, G. (1977). Studies on the possibility of increasing resistance to cocoa swollen-shoot virus by breeding. *Ann. appl. Biol.*, 85 : 71-78.
- KIRKPATRICK, T.W. (1930). Preliminary note on leaf crinkle of cotton in the Gezira area. *Sudan. Bull. Ent. Res.*, 21 : 127-137.
- KIRKPATRICK, T.W. (1931). Further studies on leaf curl of cotton in the Sudan. *Bull. Entomol.*, 22 : 323-332.
- KLESSER, P.J. (1966). Groundnut ring spot virus, a new sap transmitted virus of *Arachis hypogaea* and *A. monticola*. *South Afric. J. agric. Sci.*, 9 : 711-720.
- KLESSER, P.J. (1967). A veinbanding virus of groundnuts, *Arachis hypogaea* L. *South Afric. J. agric. Sci.*, 10 : 515-528.
- KOENIG, R. (1976). A loop structure in the serological classification system of tymoviruses. *Virology* 72 : 1-5.
- KUFFERATH, H. & GHESQUIERE, J. (1932). La mosaïque du Manioc. *C. R. Soc. Biol. belge*, 109 : 1146-1192.
- LAGIERE, R. (1968). Aperçu sur le "leaf curl" et l'antracnose du cotonnier (*G. barbadense*) au Togo. *Cot. Fib. trop.*, 23 : 394-395.
- LANA, A.O. & BOZARTH, R.F. (1975). Studies on a virus induced mosaic disease of *Abelmoschus esculentus* in Nigeria. *Phytopathol. Z.*, 83 : 77-86.
- LANA, A.O., GILMER, R.M., CHHEDA, H.D. & FATOKUN, D.O. (1974). A virus-induced mosaic of okra (*Hibiscus esculentus*) in Nigeria. *Plant Dis. Repr.*, 58 : 616-619.
- LE CONTE, J. (1974). La virose du maïs au Dahomey. *Agron. Trop.*, 29 : 831-832.
- LEFEVRE, P. (1935). Quelques considérations sur la mosaïque du Manioc. *Bull. Agric. Congo belge*, 36 : 442-447.
- LEGG, J.T. (1979). The campaign to control the spread of cocoa swollen shoot virus in Ghana. *Plant Health. The Scientific Basis for Administrative Control of Plant Diseases and Pests*. Ed. by D.L. Ebbels & J.E. King, Blackwell Sci. Pub., New York, 285-293.
- LEGG, J.T. & BONNEY, J.K. (1967). The host range and vector species of viruses from *Cola chlamydanta* K. Schum., *Adansonia digitata* L. and *Theobroma cacao* L. *Ann. appl. Biol.*, 60 : 399-403.
- LEGG, J.T. & BONNEY, J.K. (1968). Availability of CSSV in sensitive and tolerant varieties of cocoa. *Ann. Rep., Cocoa Res. Inst. Ghana, 1966-67*, 27-28.
- LEGG, J.T. & LOCKWOOD, G. (1977). Evaluation and use of a screening method to aid selection of cocoa (*Theobroma cacao*) with field resistance to cocoa swollen-shoot virus in Ghana. *Ann. appl. Biol.*, 86 : 241-248.
- LEGG, J.T. & LOCKWOOD, G. (1981). Resistance of cocoa to swollen-shoot virus in Ghana. I. Field trials. *Ann. appl. Biol.*, 87 : 75-89.
- LEGG, J.T., KENTEN, R.H. & LOCKWOOD, G. (1980). Tolerance trials with young cocoa trees infected with cocoa swollen-shoot virus. *Ann. appl. Biol.*, 95 : 197-207.
- LEGG, J.T., OWUSU, G.K. & LOVI, N.K. (1972). Virus research. Joint CRIG/Cocoa Production Division coppicing experiments to assess latent CSSV infection. *Ann. Rep., Cocoa Res. Inst., Ghana, 1969-70*, 64-65.

- LISTER, R.M. & BAR-JOSEPH, M. (1981). Closteroviruses. In Handbook of Plant Virus Infections and Comparative Diagnosis. Ed. by E. KURSTAK. Elsevier, North-Holland, Biomedical press, Amsterdam, 809-844.
- LOVISOLO, O. & CONTI, M. (1966). Identification of an aphid-transmitted Cowpea mosaic virus. Nether. J. Plant Pathol., 72 : 265-269.
- MAHAMA, A. & CAUQUIL, J. (1976). La sélection de variétés résistantes à la maladie bleue du cotonnier dans l'Empire Centrafricain. Cot. Fib. trop., 71 : 439-446.
- MATTHEWS, R.E.F. (1983). A Critical Appraisal of Viral Taxonomy. Ed. by CRC Press, Florida, pp. 255.
- McKINNEY H.H. (1929). Mosaic diseases in the Canary Islands, West Africa and Gibraltar. J. Agric. Res., 39 : 557-578.
- NICHOLS, R.F.W. (1947). Breeding cassava for virus resistance. East Afric. Agric. J., 15 : 154-160.
- NICHOLS, R.F.W. (1950). Brown streak disease of cassava. E. Afr. Agric. J., 15 : 154-159.
- NOUR, M.A. & NOUR, J.J. (1963). Some aspects of leaf curl virus disease of cotton. Meeting of advisory Committee on agricultural research in Sudan, 1962. (in : TARR, 1964).
- NOUR, M.A. & NOUR, J.J. (1964). Identification, transmission and host range of leaf curl viruses infecting cotton in Sudan. Emp. Cott. grow. Rev., 41 : 27-37.
- NOUR, M.A. & NOUR, J.J. (1968). Cotton leaf curl and allied virus. 1st. Int. Congr. Pl. Path., London, 1968.
- OKUSANYA, B.A.M. (1969). Cocoa swollen shoot virus. Ann. Rep., Cocoa Res. Inst. Nigeria, 1967-68, 88-92.
- OKUSANYA, B.A.M. (1970). Transmission of CSSV. Ann. Rep., Cocoa Res. Inst. Nigeria, 1968-69, 55-56.
- OKUSANYA, B.A.M. & WATSON, M.A. (1966). Host range and some properties of groundnut rosette virus. Ann. appl. Biol., 58 : 377-387.
- OWUSU, O.K. (1970). Availability of cocoa swollen shoot virus to mealybugs from tolerant and sensitive cocoa. Ann. Rep., Cocoa Res. Inst. Ghana, 1968-69, 31-33.
- OWUSU, O.K. (1971b). Availability of cocoa swollen shoot virus to mealybugs from tolerant and sensitive cocoa. Proc. 3rd Intern. Cocoa Res. Inst., Ghana, 1968-69, 31-33.
- OWUSU, O.K. (1972). Acquisition of swollen shoot virus by mealybugs from cocoa plants during the period of latent infection. Ann. Rep., Cocoa Res. Inst. Ghana, 1969-70, 60-61.
- OWUSU, O.K. (1978). Performance of the Eastern Region Cocoa Project, Disease control : swollen shoot disease. Report on the Evaluation of the Ghana Government/World Bank Cocoa Rehabilitation Projects in the Eastern and Ashanti Regions, Ghana, 87-88.
- OWUSU, O.K. (1983). The cocoa swollen shoot disease problem in Ghana. In Plant Virus Epidemiology. Ed. by R.T. PLUMB & J.M. TRESH, Blackwell Sci. Pub., Oxford, 73-83.
- PASCALET, M. (1932). La mosaïque ou lèpre du manioc. Agron. Colon., 21 : 117-131. (In Rev. appl. Mycol., 11 : 761).
- PORTERES, R. & LEGLEU, R. (1930). La "rosette" de l'arachide. Ann. Agric. Afr. Occ., 1 : 332-355 (Rev. Appl. Mycol., 17 : 581-582).
- POSNETTE, A.F. (1940). Transmission of swollen-shoot. Trop. Agric. Trin., 17 : 98.
- POSNETTE, A.F. (1941). Swollen-shoot virus disease of cacao. Trop. Agric Trin., 18 : 87-89.
- POSNETTE, A.F. (1947). Virus diseases of cacao in West Africa. I. Cacao viruses 1A, 1B, 1C and 1D. Ann. appl. Biol., 34 : 388-402.
- POSNETTE, A.F. (1950). Virus diseases of cacao in West Africa. VII. Virus transmission by different vector species. Ann. appl. Biol., 37 : 378-384.
- POSNETTE, A.F. & ROBERTSON, N.F. (1950). Virus diseases of cacao in West Africa. VI. Vector investigations. Ann. appl. Biol., 37 : 363-377.
- POSNETTE, A.F. & STRICKLAND A.H. (1948). Virus diseases of cacao in West Africa. III. Technique of insect transmission. Ann. appl. Biol., 35 : 53-63.
- POSNETTE, A.F. & TODD, J. McA (1951). Virus diseases of cacao in West Africa. VIII. The search for virus resistant cacao. Ann. appl. Biol., 38 : 785-800.
- POSNETTE, A.F., ROBERTSON, N.F. & TODD, J. McA (1950). Virus diseases of cacao in West Africa. V. Alternative host plants. Ann. appl. Biol., 37 : 229-240.
- REDDY, D.V.R., RAJESWARI, R., IIZUKA, N., LESEMANN, D.E., NOLT, B.L. & GOTO, T. (1983). The occurrence of Indian peanut clump, a soil-borne virus disease of groundnuts (*Arachis hypogaea*) in India. Ann. appl. Biol., 102 : 305-310.

- ROGER, L., MALLAMAIRE, A. (1938). Notes de phytopathologie africaine. Ann. Agric. Afric. Occ., 2 : 187-206. (In Rev. appl. Mycol., 17 : 97).
- ROIIVAINEN, O. (1971). Circulative transmission of cocoa swollen shoot virus by the mealybug *Planococcoides njalensis* (Laing) (Homoptera : Pseudococcidae). Proc. 3rd Intern. Cocoa Res. Conf., Accra, 1969, 581-521.
- ROIIVAINEN, O. (1976). Transmission of cocoa viruses by mealybugs (Homoptera : Pseudococcidae) J. Scient. Agric. Soc. Finl., 48 : 203-304.
- ROIIVAINEN, O. (1980). Mealybugs. In Vectors of Plant Pathogens. Ed. by K.F. HARRIS & K. MARAMOROSCH. Academic Press, New York, 15-38.
- ROSE, D.J.W. (1962). Insect vectors of maize streak. Zool. Soc. Afr. News Bull., 3 : 11.
- ROSE, D.J.W. (1971). The biology and dispersal of *Cicadulina* spp. PhD thesis. Univ. London, England, pp. 359.
- ROSE, D.J.W. (1972). Dispersal and quality in populations of *Cicadulina* species. J. Anim. Ecol., 41 : 589-609.
- ROSE, D.J.W. (1972). Times and sizes of dispersal flights by *Cicadulina* species. J. Anim. Ecol., 41 : 495-506.
- ROSE, D.J.W. (1973). Distances flown by *Cicadulina* spp., vectors of maize streak disease in Rhodesia. Bull. Entomol. Res., 62 : 497-505.
- ROSE, D.J.W. (1973). Field studies in Rhodesia on *Cicadulina* spp. vectors of maize streak disease. Bull. Entomol. Res., 62 : 477-495.
- ROSE, D.J.W. (1973). Laboratory observations on the biology of *Cicadulina* spp., with particular reference to the effects of temperature. Bull. Entomol. Res., 62 : 471-476.
- ROSE, D.J.W. (1974). Management of *Cicadulina* leafhopper populations to reduce streak disease in maize crops in the highveld in Rhodesia. Rhodesia Agric. J., 70 : 63-64.
- ROSE, D.J.W. (1974). The epidemiology of maize streak disease in relation to population densities of *Cicadulina* spp. Ann. appl. Biol., 76 : 199-207.
- ROSE, D.J.W. & HEATHCOTE, R. (1975). Combating maize streak disease. Tob. Forum Rhodesia 2 : 31.
- ROSE, F.M. (1941). Rotation crops. Empire Cotton Growing Assoc. Progr. Rep., 1939-1940 : 27-31.
- ROSSEL, H.W. & THOTTAPPILLY (1983). Maize mottle chlorotic stunt in Africa. A manifestation of maize mottle virus ? Ed. by D.T. GORDON, J.K. KNOKE, L.R. NAULT & R.M. RITTER. Proc. Int. Maize Virus Dis. Colloq. Workshop, 2-6 Aug. 1982, Ohio State Univ., 15
- ROSSEL, H.W. (1979). Maize mottle chlorotic stunt virus. In Ann. Rept., 1978, Int. Inst. Trop. Agric. (IITA), Ibadan, Nigeria, 108.
- ROSSEL, H.W. (1980). Maize mottle chlorotic stunt virus. In Ann. Rept., 1979, Int. Inst. Trop. Agric. (IITA), Ibadan, Nigeria, 136.
- ROSSEL, H.W., THOTTAPPILLY, G. & BUDDENHAGEN, I.W. (1982). Occurrence of rice yellow mottle virus in two important rice-growing areas of Nigeria. F.A.O. Plant Prot. Bull., 30 : 137-139.
- RUSSELL, G.E. (1958). Sugar beet yellows : a preliminary study of the distribution and interrelationships of viruses and virus strains found in East Anglia, 1955-1957. Ann. appl. Biol., 46 : 393-398.
- RUSSELL, G.E. (1978). Plant breeding for pest and disease resistance. Ed. by BUTTERWORTHS, London, pp. 485.
- SCHAEFFERS, G.A. & TERRY, E.R. (1976). Insect transmission of sweet potato disease agents in Nigeria. Phytopathology 66 : 642-645.
- SETH, M.L., RAYCHAUDHURI, S.P. & SINGH, D.V. (1972). A streak disease of bajra (*Penisetum typhoides* (Burm. F.) Stapf and Hubb) in India. Curr. Sci., 40 : 272-273.
- SETH, M.L., SINGH, D.V., & RAYCHAUDHURI, S.P. (1972). Occurrence of maize streak disease on wheat (*Triticum*) in India. Curr. Sci., 41 : 684.
- SHEPHERD, E.F.S. (1925). Le "streak disease" des graminées a Maurice. Rev. Agric. Sucr. Ile Maurice 22 : 540-542.
- SHOYINKA, S.A., BOZARTH, R.F., REESE, J. & ROSSEL, H.W. (1978). Cowpea mottle virus a seed-borne virus with distinctive properties infecting cowpeas in Nigeria. Phytopathology 68 : 693-699.
- SIDDIG (1968). Genetics of resistance to cotton leaf curl in Sakel cotton. J. Agric. Sc. Comb., 70 : 77-103.

- SLYKHUIS, J.T. (1967). Virus diseases of cereals. *Rev. appl. Mycol.*, 46 : 401-429.
- SOTO, P.E., BUDDENHAGEN, I.W. & ASNANI, V.L. (1982). Development of streak virus-resistant maize populations through improved challenge and selection methods. *Ann. appl. Biol.*, 100 : 539-546.
- SOYER, D. (1939). La rosette de l'arachide. Recherche sur les vecteurs possibles de la maladie. *Publ. Inst. Nat. Etud. Agron. Congo Belge, sér. Sci.*, 21: 1-23. (*Rev. appl. Mycol.*, 19: 386).
- STANER, P. (1931). La mosaïque des feuilles du Manioc. *Bull. Agric. Congo belge*, 22 : 75-80.
- STEVEN, W.F. (1936). A new disease of cocoa in the Gold Coast. *Gold Coast Farm.*, 5 : 122. (reprinted *Trop. Agric. Trin.*, 14 : 84).
- STOREY, H.H. (1924). The transmission of a new plant virus disease by insects. *Nature* 114 : 245.
- STOREY, H.H. (1925). Streak disease of sugarcane. *Union S. Afr. Dep. Agric. For. Sci. Bull.*, N° 39 : 1-30.
- STOREY, H.H. (1925). Streak disease, an infectious chlorosis of sugarcane, not identical with mosaic disease. *Imp. Bot. Conf., 1924, Rep. Proc.*, 232-144.
- STOREY, H.H. (1925). The transmission of streak disease of maize by the leafhopper, *Balclutha mbila* Neude. *Ann. appl. Biol.*, 12 : 422-439.
- STOREY, H.H. (1928). Transmission studies of maize streak disease. *Ann. appl. Biol.*, 15 : 1-25.
- STOREY, H.H. (1931). The inheritance by a leafhopper of the ability to transmit a plant virus. *Nature* 127 : 928.
- STOREY, H.H. (1932). The filtration of the virus of streak disease of maize. *Ann. appl. Biol.*, 19 : 1-25.
- STOREY, H.H. (1932). The inheritance by an insect vector of the ability to transmit a plant virus. *Proc. R. Soc. London, Ser. B*, 112 : 46-60.
- STOREY, H.H. (1933). Investigation of the mechanism of transmission of plant viruses by insect vectors. II. *Proc. R. Soc. London, Ser. B*, 113 : 463-485.
- STOREY, H.H. (1935). Virus disease of tobacco. *E. Afric. Agric. J.*, 1 : 148-131.
- STOREY, H.H. (1936). Virus diseases of East African plants. IV. A survey of the viruses attacking the Graminae. *East Afr. Agric. J.*, 1 : 333-337.
- STOREY, H.H. (1936). Virus diseases of East African plants. V. Streak disease of maize East Afr. *Agric. J.*, 1 : 471-475.
- STOREY, H.H. (1937). A new virus of maize transmitted by *Cicadulina* spp. *Ann. appl. Biol.*, 24 : 87-94.
- STOREY, H.H. (1938). Investigations of the mechanism of the transmission of plant viruses by insect vectors. III. The insect's saliva. *Proc. R. Soc. London, Ser. B*, 127 : 526-572.
- STOREY, H.H. (1939). Plant Pathology. *Ann. Rept., East Afric. Agric. Res. Stn.*, 13-19. (in *Rev. appl. Mycol.*, 18 : 727).
- STOREY, H.H. (1939). Transmission of plant viruses by insects. *Bot. Rev.*, 5 : 240-272.
- STOREY, H.H. & BOTTOMLEY, A.M. (1928). The rosette disease of peanuts (*Arachis hypogaea* L.). *Ann. appl. Biol.*, 15 : 26-45.
- STOREY, H.H. & HOWLAND, A.K. (1967). Inheritance of resistance in maize to the virus of streak disease in East Africa. *Ann. appl. Biol.*, 59 : 429-436.
- STOREY, H.H. & HOWLAND, A.K. (1967). Transfer of resistance to the streak virus into East African maize. *East Afr. For. J.*, 33 : 131-135.
- STOREY, H.H. & McCLEAN, A.P.D. (1930). The transmission of streak diseases between maize, sugarcane and wild grasses. *Ann. appl. Biol.*, 17 : 691-724.
- STOREY, H.H. & NICHOLS, R.F.W. (1936). A field experiment in the transmission of Cassava mosaic. *East Afric. Agric. J.*, 3 : 446-449. (in *Rev. appl. Mycol.*, 17 : 649).
- STOREY, H.H. & NICHOLS, R.F.W. (1938). Studies on the mosaic of cassava. *Ann. appl. Biol.*, 25 : 790-806.
- STOREY, H.H. & RYLAND, A.K. (1955). Transmission of groundnut rosette virus. *Ann. appl. Biol.*, 43 : 423-432.
- STOREY, H.H. & RYLAND, A.K. (1957). Viruses causing rosette and other diseases in groundnuts. *Ann. appl. Biol.*, 45 : 318-326.
- TARR, S.A.J. (1951). Leaf curl disease of cotton. *Com. Mycol. Inst. Kew.*, pp 55.
- TARR, S.A.J. (1957). The host range of the cotton leaf curl virus in the Sudan. *Emp. Cott. grow. Rev.*, 34 : 258-262.
- TARR, S.A.J. (1964). Virus diseases of cotton. *Comm. Mycol. Inst. Kew. Miscell. Publi. n° 18*, pp 23.

- TINSLEY, T.W. & WHARTON, A.L. (1958). Studies on the host ranges of viruses from *Theobroma cacao* L. Ann. appl. Biol., 46 : 1-6.
- TRESH, J.M. (1958a). The control of cacao swollen shoot disease in West Africa. Tech. Bull. W. Afr. Cocoa Res. Inst., 4 : 1-36.
- TRESH, J.M. (1958b). The spread of virus disease in cacao. West Africa. Tech. Bull. W. Afr. Cocoa Res. Inst., 5 : 1-36.
- VAISSAYRE, M. (1971a). Nouvelle contribution à l'étude de la "maladie bleue" du cotonnier. Recherche du vecteur et conditions économiques de la transmission, campagne 1970-71. Station centrale de Bambari (R.C.A.) et I.R.C.T. Paris, pp. 20.
- VAISSAYRE, M. (1971b). Biologie du puceron du cotonnier *Aphis gossypii* en conditions naturelles. ORSTOM et I.R.C.T. Paris, pp. 53.
- VAN KAMMEN, A & DE JAGER, C.P. (1978). Cowpea mosaic virus. CMI/AAB, Descriptions of Plant Viruses, N° 197, 6 p.
- VETTEN, H.J. & ALLEN, D.J. (1983). Effects of environment and host on vector biology and incidence of two whitefly-spread diseases of legumes in Nigeria. Ann. appl. Biol., 102 : 219-227.
- VUITTENEZ, A. (1970). Fanleaf of grapevine. In "Virus diseases of small fruits and grapevines". Ed. by N.W. FRAZIER. Univ. Calif., Divn. Agric. Sci., Berkeley.
- WARBURG, O. (1894). Die Kulturpflanzen usambaras. Mitt. dtsh. Schutzged., 7 : 131-132.
- WATSON, M.A. & OKUSANYA, B.A.M. (1967). Studies on the transmission of groundnut rosette virus by *Aphis craccivora* Koch. Ann. appl. Biol., 60 : 199-208.
- WILLIAMS, R.J. (1976). A whitefly transmitted golden mosaic of lima beans in Nigeria. Plant Dis. Repr., 60 : 853-857.
- WILLIAMS, T.L. (1940). Progress made in the production of varieties of Cassava resistant to mosaic disease. Pap. Third W. Afric. Agric. Conf., 1938, Gold Coast, Sect. 1 : 45-60.
- YASSIN, A.M. & EL NUR, E. (1965). Tomato leaf curl disease in the Sudan and their relation to tobacco leaf curl. Ann. appl. Biol., 56 : 207-217.
- YASSIN, A.M. & EL NUR, E. (1970). Transmission of cotton leaf curl by single insect *Bemisia tabaci*. Pl. Dis. Rept., 54 : 528-531.
- ZIMMERMANN, A. (1906). Die Kräuselkrankheit des Maniok. Pflanze, 2 : 145-147.
- ZIMMERMANN, A. (1907). Über eine Krankheit der Erdnüsse (*Arachis hypogaea* L.) Pflanze, 31 : 129-133.

PUBLICATIONS EN PREPARATION

- (1) FAUQUET, C., MONSARRAT, A. & THOUVENEL, J-C. A new tymovirus isolated on Bambarra Groundnut in the Ivory-Coast : Voandzeia Necrotic Mosaic Virus. *Annals of Applied Biology*.
- (2) FAUQUET, C. & THOUVENEL, J-C. Identification of Hibiscus Chlorotic Ring Spot Virus on *Hibiscus rosa-sinensis* in the Ivory-Coast. *Plant Disease*.
- (3) FAUQUET, C. & THOUVENEL, J-C. Description of a yellow strain of PCV. *Ann. appl. Biol.*
- (4) FAUQUET, C., MONSARRAT, A. & THOUVENEL, J-C. Description d'un nouveau carlavirus isolé du pois de terre en Côte-d'Ivoire. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*.
- (5) FAUQUET, C., KUKLA, B. & THOUVENEL, J-C. Precise determination of the molecular weight of the capsid protein of 3 strains of Guinea Grass Mosaic Virus. *Journal of General Virology*.
- (6) FAUQUET, C. & THOUVENEL, J-C. Tentative classification of PCV by computed analysis. *Journal of General Virology*.
- (7) FAUQUET, C., MONSARRAT, A. & THOUVENEL, J-C. Influence of 3 different viruses on the cell structure of Bambarra Groundnut. *Journal of Electron Microscopy*.
- (8) FAUQUET, C. & THOUVENEL, J-C. Les potyvirus en Côte-d'Ivoire. *Annales de Virologie*.
- (9) FAUQUET, C. & THOUVENEL, J-C. Influence du Tomato Yellow Leaf-Curl sur la production de tomate en Côte-d'Ivoire. *Agronomie Tropicale*.
- (10) FAUQUET, C. & THOUVENEL, J-C. Identification d'un nouveau potyvirus sur le *canavalia ensiformis* en Côte-d'Ivoire. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*.
- (11) FAUQUET, C. & THOUVENEL, J-C. Identification d'un potyvirus infectant les courgettes en Côte-d'Ivoire. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*.
- (12) FAUQUET, C., MONSARRAT, A. & THOUVENEL, J-C. Identification d'un nouveau potyvirus du pois de terre. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*.
- (13) FAUQUET, C., THOUVENEL, J-C. & REINBOLT, J. Determination of the molecular weight and the amino acid composition of the capsid protein of African Potyviruses. *Journal of General Virology*.
- (14) FAUQUET, C., THOUVENEL, J-C. & REINBOLT, J. Determination of the molecular weight and of the amino-acid composition of the capsid protein of different spherical viruses isolated in the Ivory-Coast. *Journal of General Virology*.
- (15) FAUQUET, C., DEJARDIN, J. & THOUVENEL, J-C. Bidimensional classification of plant viruses using the amino-acid composition of their capsid protein as a criteria. *Journal of General Virology*.
- (16) FAUQUET, C., DEJARDIN, J. & THOUVENEL, J-C. Classification of African Potyviruses. *Journal of General Virology*.
- (17) FAUQUET, C., DEJARDIN, J. & THOUVENEL, J-C. Classification of spherical viruses isolated in the Ivory-Coast using the amino-acid composition of their coat protein as a criteria. *Journal of General Virology*.
- (18) FAUQUET, C., FARGETTE, D., COLON, L. & THOUVENEL, J-C. Cassava resistance components to the African Cassava Mosaic Virus. I. Biological factor associated with the resistance. *Ann. appl. Biol.*
- (19) FAUQUET, C., FARGETTE, D., COLON, L. & THOUVENEL, J-C. Cassava resistance components to the African Cassava Mosaic Virus. II. Resistance components and sensibility scales. *Ann. appl. Biol.*
- (20) FARGETTE, D. & FAUQUET, C. Revue bibliographique sur la Mosaïque Africaine du Manioc. *Agronomie Tropicale*.
- (21) FAUQUET, C. & FARGETTE, D. Bilan de 5 ans d'étude sur la Mosaïque Africaine du Manioc. *Agronomie Tropicale*.
- (22) FAUQUET, C., THOUVENEL, J-C. & FARGETTE, D. Identification of the Maize Dwarf Mosaic Virus on maize in the Ivory-Coast. *Plant Disease*.

ETUDE DES PHYTOVIRUS DE COTE D'IVOIRE. C. FAUQUET

Cette étude dresse un inventaire des maladies virales par type de plantes infectées, par type de virus ou encore par type de vecteurs. Ces viroses infectent des plantes aussi diverses que les plantes à racines et à tubercules, les céréales, les plantes maraîchères, les légumineuses alimentaires, les plantes industrielles, les plantes fourragères et les plantes ornementales. Les virus identifiés appartiennent à presque tous les groupes de virus de plantes. Les vecteurs sont des aleurodes, des aphides, des chrysomelles, des cicadelles et des plasmodiophorales. Nombre de ces virus se transmettent par le contact, par la graine ou par les boutures. Cette étude met en évidence que la majorité des virus présents sont typiquement Africains. Cet inventaire donne des informations de base sur la nature des agents infectieux, sur leur structure, sur leurs propriétés biochimiques, biophysiques et sérologiques.

MOTS-CLES: -VIRUS-PLANTE-INVENTAIRE-VECTEUR-AFRIQUE-TRANSMISSION