



AMADEPA  
Association Martiniquaise pour le Développement  
des Plantes Alimentaires

29ème  
CONGRES ANNUEL  
ANNUAL MEETING  
REUNION ANNUAL

Agriculture Intensive dans les Iles de la Caraïbe : enjeux, contraintes et perspectives  
Intensive Agriculture in the Caribbean Islands : stakes, constraints and prospects  
Agricultura Intensiva en la Islas del Caribe : posturas, coacciones y perspectivas

**MISE EN ÉVIDENCE DE LA PRÉSENCE DU VIRUS DE LA  
MOSAIQUE DE L'IGNAME (DIOSCOREA TRIFIDA) EN  
GUYANE.**

M. BOEGLIN, G. LABONNE\*, L. DEGRAS\*\*, L. QUIOT-DOUINE,  
J.B. QUIOT

INRA Pathologie Végétale ENSA place Viala 34 060 Montpellier  
Cédex 1

\*INRA Zoologie ENSA place Viala 34 060 Montpellier Cédex 1

\*\*INRA Amélioration des plantes, Domaine Duclos 97 170 Petit Bourg  
FWI

**RÉSUMÉ :**

Des échantillons d'ignames *Dioscorea trifida* collectés en Guyane française présentent des symptômes de mosaïque en arêtes de poisson. On montre que ces plantes contiennent un potyvirus flexueux, produisant des inclusions cytoplasmiques de type pinwheels et transmis par pucerons sur le mode non persistant. L'isolat étudié est proche du Yam Mosaic Virus décrit en Côte d'Ivoire, il réagit avec un antiserum anti-YMV- Côte d'Ivoire et sa protéine capsid présente une mobilité électrophorétique identique, mais il produit des symptômes plus marqués sur *Nicotiana benthamiana* et présente une mobilité électrophorétique différente de celle d'isolats provenant de Guadeloupe (FWI); Des précautions doivent être prises pour éviter tout échange international de matériel infecté.

**SUMMARY :**

Yam plants, *Dioscorea trifida*, collected in French Guyana showed chromatic fish-bone symptoms on their leaves. The plants were found infected by a potyvirus with flexuous rods, producing pinwheels in infected cytoplasm, transmitted mechanically and by aphids in a non

persisten manner. The virus reacted with an antiserum prepared against the Ivory Coast isolate of Yam Mosaic Virus an their coat proteins presented the same electrophoretic mobility. Differences in electrophoretic mobility were found with a yam potyvirus collected in Guadeloupe (FWI); the guyana isolate produced also a more severe vein-banding on *Nicotiane benthammiana* leaves than the other Yam isolates. Precautions must be taken in order to avoid any international exchange of infected material.

## INTRODUCTION :

Les investigations déjà réalisées sur l'igname (*Dioscorea* sp.) ont montré que cette espèce pouvait être naturellement infectée par plusieurs types de potyvirus.

Le type de virus le plus souvent rencontré sur igname appartient à la famille des potyvirus et provoque des symptômes de mosaïque chromatique plus ou moins marquée sur le feuillage d'une plante infectée. L'agent pathogène se présente sous la forme de particules flexueuses de 750 nm environ transmissibles par inoculation mécanique et par pucerons sous le mode non persistant. Il ressort d'études réalisées en Côte d'Ivoire que l'infection par des virus de ce type génère chez l'igname des pertes de rendement de l'ordre de 15 à 20 % (Thouvenel et al., 1989).

De tels virus ont été isolés à partir de plusieurs espèces d'igname dans différents pays du monde et ont été décrits parfois sous des noms différents (Virus de la Mosaïque de l'Igname, Yam Mosaic, *Dioscorea* green banding virus, *Dioscorea trifida* virus...) les données étant en général insuffisantes pour connaître leur niveau de relation et établir s'il s'agit d'isolats identiques d'un même virus ou de souches ou virus différents. C'est le Yam Mosaic Virus (YMV) qui a été le plus étudié et qui constitue actuellement le potyvirus de référence (THOUVENEL et FAUQUET 1979). Dans les départements de la Guadeloupe, la Martinique et la Guyane, plusieurs observations pourraient le concerner (MIGLIORI et CADILHAC, 1976, MARCHOUX et al., 1979, MARCHOUX, 1980, Saleil *et al.*, 1990).

Il faut pourtant signaler le cas particulier du "*Dioscorea alata*

ring mottle virus” isolé au Togo pour lequel les auteurs sont parvenus à montrer que ce potyvirus était différent du Yam Mosaic Virus et qu’il était à rapprocher du virus de la Mosaïque de la betterave (PORTH *et al.*, 1987).

Les progrès réalisés dans les techniques de caractérisation du génôme et des protéines des potyvirus peuvent permettre d’accéder plus facilement à une connaissance rapide de la diversité géographique de ce type de virus et ont redonné de l’intérêt à la collection d’isolats provenant de différents lieux pour établir les risques d’introduction et d’acclimatation d’agents pathogènes ou de nouveaux pathotypes.

Le but de cette note est de signaler la présence en Guyane d’un virus sérologiquement relié au Virus de la Mosaïque de l’igname en Guyane et de présenter quelques caractéristiques de cet isolat.

### **MATÉRIEL ET MÉTHODES :**

Matériel végétal utilisé :

Il s’agit de 6 échantillons de feuilles de *D. trifida* récoltés en Guyane française dans la région de Mana, proche du Surinam. Ces échantillons présentaient soit des symptômes de mosaïque, soit des dessins chromatiques en arêtes de poisson répartis le long des nervures principales (photo 1).

Méthodes :

- La technique “DAS-ELISA” (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay) a été utilisée d’une part avec un antiserum préparé contre le Cucumber Mosaic Virus (aimablement fourni par J.C. Devergne, INRA Antibes) d’autre part avec des antiserum préparés contre des isolats de YMV provenant de Côte d’Ivoire (aimablement fourni par J.C. THOUVENEL, ORSTOM) et de Guadeloupe.

- La technique EBIA (Electro-Blot-Immuno-Assay) a été utilisée pour comparer la mobilité électrophorétique de la protéine capsidique de différents isolats de YMV. L’essai a été réalisé à partir d’extraits bruts de plantes infectées selon la méthode proposée par Quiot-Douine *et al.* 1990.

- Un indexage sur une gamme d'hôtes différentiels a été réalisé en utilisant des espèces sensibles au YMV et/ou au CMV: *Nicotiana benthamiana*, *N. tabacum* Xanthi, *Datura stramonium*, *Petunia hybrida*, *Amaranthus caudatus*, *Brassica napus*, *Cucumis sativus*, *C. melo*, *Dioscorea alata*. Des feuilles présentant des symptômes ont été broyées au 1/10 dans une solution saline de NaHPO<sub>4</sub>, 0,03 M renfermant 0,2% de di-éthylthiocarbamate de sodium. L'extrait a été étalé sur les jeunes feuilles de plantes sensibles en présence de carborundum.

- Des essais de transmission par pucerons ont été réalisés entre des plants de *N. benthamiana* en utilisant plusieurs espèces: *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, *A. spiraeicola*, *Macrosiphum euphorbiae*, et *Rhopalosiphum padi*. Après une période de jeûne, des lots de 20 individus ont été placés pendant 6 minutes sur une plante infectée puis une nuit sur la plante à infester. Après incubation, l'infection des plantes a été contrôlée par un test ELISA.

- La recherche d'inclusions cellulaires a été réalisée sur des lambeaux d'épiderme, en microscopie optique, selon la technique de Christie et Edwardson (1977)

## RÉSULTATS :

La recherche de virus par test ELISA a montré qu'aucun des 6 échantillons ne réagissait avec un antiserum spécifique du Virus de la Mosaïque du Concombre (CMV), tandis que trois d'entre-eux réagissait positivement avec un antiserum préparé contre l'isolat du YMV collecté en Côte d'Ivoire.

Deux des échantillons négatifs au test ELISA présentaient des symptômes de mosaïque très marqués. Il n'a pas été possible d'en tirer un isolat de virus par inoculation mécanique sur une gamme d'hôtes sensibles au CMV et comprenant *Nicotiana tabacum* Xanthi, *Cucumis sativus*, *Cucumis melo* et *Citrullus lanatus*.

L'échantillon N°6 a été inoculé avec succès à *Nicotiana*

benthamiana. C'est cet isolat qui a été plus particulièrement étudié après avoir vérifié qu'il réagissait toujours positivement en ELISA avec un antiserum YMV et négativement avec un antiserum CMV.

Transmission par vecteur :

Les résultats des essais de transmission par vecteurs sont présentés dans le tableau ci-dessous :

espèce :	Myzus	Aphis	Aphis	Macrosiphum	Rhopalosiphum
	persicae	gossypii	spiraecola	euphorbiae	padi
Plants					
infectés					
/	3/60	29/60	7/60	2/60	1/60
inoculés					

Ces essais montrent que l'isolat de Guyane N°6 a été à la capacité d'être disséminé par plusieurs espèces de pucerons, sur le mode non persistant, et que certaines espèces, en particulier A. gossypii, se révèlent être des vecteurs significativement plus efficaces que d'autres.

Inoculation sur hôtes différentiels.

Des inoculations mécaniques de plantes ont été réalisées en utilisant comme source de virus des Nicotiana benthamiana infectés de façon systémique par l'isolat N°6.

Le virus infecte facilement N. benthamiana dont les feuilles infectées présentent un symptôme de "vein banding" caractéristiques (photo n°2). Ce symptôme (nervures bordées de vert foncé) paraît caractéristique de l'isolat N°6 et n'a pas été observé avec les autres isolats de YMV étudiés.

L'isolat a été aussi transmis par inoculation mécanique de N. benthamiana à Dioscorea alata; par contre aucune infection n'a été obtenue sur Petunia hybrida, Datura stramonium, Amaranthus caudatus ou Brassica napus.

### Observations en microscopie optique:

Des observations réalisées sur des lambeaux d'épidermes de *N. benthamiana* infectés montrent la présence dans les cellules infectées d'inclusions cytoplasmiques caractéristiques de la présence d'un potyvirus.

### Comparaison de protéines capsides en EIBA:

Plusieurs essais d'EIBA ont été réalisés en mettant en présence des isolats de YMV de diverses origines avec deux antiserum polyclonaux préparés contre un isolat ivoirien et un isolat guadeloupéen de YMV. Des résultats analogues ont été obtenus avec les deux antiserum, ce qui montre que ces deux antiserum contiennent des anticorps qui réagissent avec des épitopes présents sur toutes les protéines capsides des isolats étudiés. Par contre, on constate que des isolats de YMV peuvent se différencier par leur mobilité électrophorétique. L'isolat N°6 présente une mobilité électrophorétique identique à celle de l'isolat Côte d'Ivoire et différente de celle de certains potyvirus isolés en Guadeloupe (figure III).

### **CONCLUSION :**

On peut tirer de ce travail les conclusions suivantes :

1°) L'isolat N°6 contient un virus transmissible par pucerons sur le mode non persistant et par inoculation mécanique qui induit, dans les cellules infectées, des inclusions cytoplasmiques caractéristiques de la présence d'un potyvirus. Cet isolat réagit positivement en ELISA et en EIBA avec des antiserum préparés contre des souches de YMV provenant de Guadeloupe et de Côte d'Ivoire.

Ces résultats permettent d'affirmer qu'il existe en Guyane sur *D. trifida* un potyvirus relié sérologiquement au Yam Mosaic Virus. On complète ainsi les observations réalisés en 1980 par Marchoux et al. qui avaient observé en microscopie électronique des particules virales flexueuses dans un extrait de *D. trifida* provenant de Guyane.

2°) L'isolat étudié présente des caractéristiques particulières

(symptomatologie sur *N. benthamiana*, mobilité électrophorétique) qui permettent de le différencier des autres isolats de YMV en cours d'étude au laboratoire. Des études complémentaires sont encore nécessaires pour connaître le niveau de diversité présent au sein du Yam Mosaic Virus en particulier en faisant appel à des techniques complémentaires telles que l'utilisation d'anticorps monoclonaux ou de la "polymérase chain reaction" (PCR).

3°) Les essais de transmissibilité de l'isolat N°6 par certaines espèces de pucerons montrent que cet isolat a conservé une capacité de dissémination par vecteur bien qu'il infecte une espèce à multiplication végétative qui lui fournit un second mode de dissémination. Des expériences complémentaires restent à réaliser pour vérifier si la transmissibilité par pucerons de *Dioscorea* à *Dioscorea* se révèle aussi efficace que celle observée de *N. benthamiana* à *N. benthamiana*.

4°) La diversité géographique observée entre les isolats de YMV et leur potentiel théorique de dissémination par vecteur doivent conduire à une extrême prudence dans les échanges internationaux de matériel sensible.

#### REFERENCES :

CHRISTIE R.G., EDWARDSON J.R. 1977. Light and electron microscopy of plant virus inclusions. Monograph N°9, IFAS Univ. of Florida USA, 150 pp.

MARCHOUX G., EDWIGE S., MIGLIORI A. 1979. Sur quelques propriétés biologiques du Virus de la Mosaïque de l'Igname, *Dioscorea* sp. isolé en Guadeloupe. *Ann Phytopathol.* 11:59-62.

MARCHOUX G 1980. Pathologie des ignames en Guadeloupe, maladies virales, Pointe à Pitre 28 juil.-2 août 1980.

MIGLIORI A, CADILHAC B 1976. Contribution à l'étude de la maladie à virus de l'Igname *Dioscorea trifida* en Guadeloupe. *Ann. Phytopathol.* 8: 73-78.



PORTH A., LESEMAN D.E., VETTEN H.J. 1987  
Characterization of potyviruses isolates from est african Yams. J.  
Phytopathology 120: 166-183.

QUIOT-DOUINE L., LECOQ H., QUIOT J.B. PITRAT M.  
LABONNE G. 1990 Serological and biological variability of virus  
isolates related to strains of Papaya Ring-spot Virus. Phytopathology  
80:256-263

SALEIL V. 1986. Developpement in vitro des apex isolés à  
partir de deux espèces d'Igname: *Dioscorea alata* et *dioscorea trifida*.  
Thèse 3° cycle USTL Montpellier 26 juin 1989.

THOUVENEL J.C., FAUQUET C. 1979. Yam Mosaic Virus,  
a new potyvirus infecting *Dioscorea cayenensis* in the Ivory Coast. Ann.  
Appl. Biol. 93:279-283.

THOUVENEL J.C., BORG-OLIVIER O., DUMONT R. 1989.  
Epidemiology of Yam virus: importance of aphid transmission. 4th  
Plant Virus Epidemiology Workshop, Montpellier (France) sep. 1989.

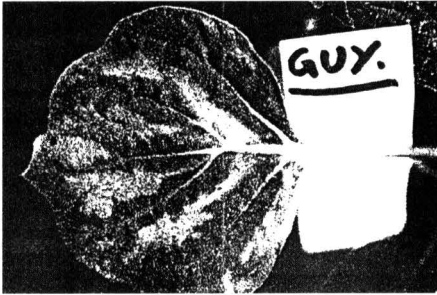
### Légendes des figures:

Figure I:

Mosaïque  
chromatique en arêtes  
de poisson sur la feuille  
d'Igname  
(*Dioscorea trifida*) n°6  
collectée en  
Guyane française

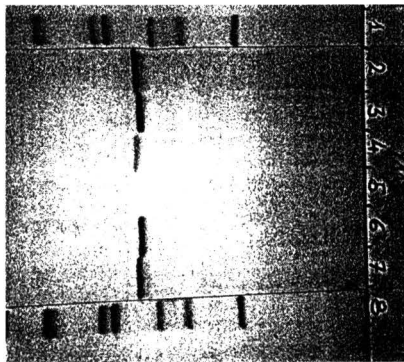


Figure II:



Symptôme de “vein banding” (nervures bordées de vert foncé) sur une feuille de *Nicotiana benthamiana* infectée de façon systémique par l’isolat de virus guyanais.

Figure III:



Mobilité électrophorétique de la protéine capside de différents isolats ou souches de YMV:

Pistes 1 et 8: références de poids moléculaires (en kilo-Dalton)

Pistes 2 et 7: isolat Guyane N°6

Pistes 3 et 6: isolat de Guadeloupe

Piste 4: YMV de Côte d’Ivoire

Piste 5: Igname sain