



The World's Largest Open Access Agricultural & Applied Economics Digital Library

This document is discoverable and free to researchers across the globe due to the work of AgEcon Search.

Help ensure our sustainability.

Give to AgEcon Search

AgEcon Search
<http://ageconsearch.umn.edu>
aesearch@umn.edu

Papers downloaded from AgEcon Search may be used for non-commercial purposes and personal study only. No other use, including posting to another Internet site, is permitted without permission from the copyright owner (not AgEcon Search), or as allowed under the provisions of Fair Use, U.S. Copyright Act, Title 17 U.S.C.

No endorsement of AgEcon Search or its fundraising activities by the author(s) of the following work or their employer(s) is intended or implied.

C A R I B B E A N F O O D C R O P S
S O C I E T Y
(C F C S)
XIV th Meeting

Quatorzième Congrès
de la

SOCIETE INTERCARAIBE POUR LES PLANTES ALIMENTAIRES

Guadeloupe

Martinique

27 - 29 Juin

30 Juin - 2 Juillet 1977

Sponsored by

Organise par

L'INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (I.N.R.A.)

with the aids of

Avec les aides

de la

DELEGATION GENERALE A LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE

(D.G.R.S.T.)

and of the

et des

CONSEILS GENERAUX

CHAMBRES D'AGRICULTURE

DE LA GUADELOUPE ET DE LA MARTINIQUE

with the technical assistance of the following organisms

avec le concours technique des organisations suivantes

ORSTOM - IRFA - IRAT - CTGREF - DDA -

And the participation of Institutions of 15 Caribbean territories

Et la participation des Institutions de 15 pays de la Caraïbe

Sous le PATRONNAGE de MM. LES PREFETS de la GUADELOUPE
et de la MARTINIQUE

Hôtel Arawak

Gosier - Guadeloupe

Hôtel Méridien

Trois Ilets - Martinique

MALADIE A VIRUS DE L'IGNAME (DIOSCOREA SP.)

A. MIGLIORI^(°)

INTRODUCTION

Dans la zone Caraïbe, l'igname présente des symptômes foliaires et quelquefois racinaires qui suggèrent une affection virale. Cette maladie est présente dans plusieurs régions et sur plusieurs espèces, son observation est mentionnée par DEIGHTON (1936). Aux Antilles ADSUAR (1955) RUPPEL et al (1966) COURSEY (1967) ont marqué par leurs observations l'importance de cette affection virale chez *Dioscorea*. Depuis 1970, des travaux ont mis en évidence la complexité des virus infectant l'igname.

En Guadeloupe les symptômes sont surtout foliaires et il semble que *D. trifida* soit plus sensible à cette virose que les autres espèces. Aussi nous nous efforcerons de décrire les virus rencontrés chez *D. trifida* en Guadeloupe et et d'en discuter la position par rapport à ceux mentionnés chez *Dioscorea*.

MATERIEL ET METHODES

Ce travail a été fait à partir de *Dioscorea trifida*. Le matériel virosé a été prélevé dans les cultures de l'Amélioration des Plantes, le matériel sain est issu de graine.

Purification du virus

Elle a été réalisée à partir de feuilles présentant des symptômes plus ou moins graves. Les opérations se déroulent de la façon suivante :

- Broyage au mixer type Waring Blender
1 gramme de feuille pour 8 millilitres de phosphore disodique 0,01M (contenant 0,1 % d'acide thioglycollique + 0,3 % d'acide citrique).
- Filtration sur tissu
- Centrifugation 10' à 5000 RPM à l'aide d'un rotor SS - 34, Centrifugeuse Sorval type RC 2 - B.
- Récupération des surnageants et traitement au Polyéthylène glycol 6000 (PEG) à 5 % et au chlorure de sodium 2 %.

.../...

(°) Station de Pathologie Végétale, I.N.R.A. - Antilles-Guyane, Domaine Duclos 97170 - PETIT-BOURG (Guadeloupe)

Tableau 1 - Répartition des virus de l'Igname aux Antilles
(Distribution of yam virus in the Caribbean Islands)

REGIONS	ESPECES	SYMPTOMES	PARTICULES	INCLUSIONS PINWHEEL	AUTEURS
PORTO-RICO	<i>D. Floribunda</i>	Mosaïque Green - banding	395 - 445 nm 690 - 755 nm	- ? +	LAWSON et al 1971
	<i>D. Floribunda</i>	Latent	395 - 445 nm	-	WATERWORTH et al 1973
	<i>D. Composita</i>				
TRINIDAD		Mosaïque Tâches brunes internes des tubercules	760 nm 130 x 39 nm		HARISSON ET ROBERTS 1973
	<i>D. alata</i> <i>D. esculenta</i> <i>D. trifida</i>	Mosaïque "Vein-banding" "Vein-clearing"	770 nm		MOHAMED ET MANTELLE 1975
GUADELOUPE	<i>D. trifida</i>	Mosaïque "Vein-banding"	760 nm 30 nm	+	MIGLIORI ET CADILHAC 1975

- Agitation magnétique jusqu'à dissolution des produits, puis 60' de repos au froid.
- Centrifugation 30' à 15 000 RPM
- Reprises des culots dans 50 millilitres de tampon phosphate 0,01 M pH 7. La suspension est homogénéisée par agitation à ajouter 3 % de PEG, puis 2 % de Triton x 100.
- Centrifugation 20' à 15 000 RPM
- Récupération du culot dans un minimum de tampon phosphate 0,01 pH 7

Inoculation mécanique

L'inoculum est préparé avec du tampon phosphate 0,01 M pH 7 contenant 0,5 % de Diéthyldithiocarbamate de sodium dans les proportions 1 gramme, 4 millilitres. A l'inoculation 80 mg de carborundum 400 mesh et 80 mg de charbon végétal actif sont ajoutés à 1 millilitre d'inoculum.

Inoculation par puceron

Des pucerons *Aphis gossypii* sont mis dans un récipient en verre pour un jeun de 30 minutes. Ils sont ensuite placés sur de jeunes feuilles d'igname virosées pendant 5 à 10 minutes, puis répartis au nombre de 10 sur les feuilles de *D. trifida* obtenues par graines.

Microscopie électronique

Les observations au microscope électronique ont été réalisées par Brigitte CADILHAC à la Station de la Pathologie Végétale de MONTFAVET. Les sections ultra-fines des échantillons sains et malades sont obtenues par double fixation glutaraldéhyde-osmique, inclusion dans l'araldite M. L'observation est faite au microscope électronique EM. 301. La coloration négative des virions est obtenue par addition à la suspension d'acide phosphotungstique à 1 % neutralisé avec de la potasse 0,1 N.

RESULTATS

Symptomatologie et transmission du virus

Les symptômes extériorisés chez *Dioscorea trifida* sont de type "Mosaïque" accompagnés de déformation plus ou moins importante du limbe. On observe soit des plages vert-foncé, avec formation de cloques soit une décoloration des feuilles, surtout chez les jeunes plantes. A partir de ces feuilles naturellement infectées, nous avons préparé un inoculum et inoculé le virus à *Dioscorea trifida*, *Cucurbita pepo* DUCH var F₁ Diamant, *Nicotina tabacum* var Xanthi n c, *Datura stramonium* *Capsicum annuum* var Largo valenciano, *Ipomea setosa*, *Vigna sinensis* var

..../...

Black. La transmission du virus a réussi seulement sur les jeunes plantules de *D. trifida* issues de graines, dans nos essais nous avons eu entre 50 et 80 % de contamination. Aucun symptôme n'a été observé sur les autres hôtes éprouvés. Une rétroinoculation à partir de ces hôtes a été effectuée sur *D. trifida*, les résultats ont été négatifs. Les autres espèces de *Dioscorea* n'ont pas été essayées du fait que ces plantes se multiplient par voie végétative et très difficilement par graines. *D. trifida* est une exception, cependant, la germination est délicate et faible, elle a lieu environ un mois après le semis, 40 à 60 % des graines germent, le plant peut-être infecté 3 à 4 mois après le semis.

La transmission du virus par pucerons *Aphis gossypii* de *trifida* infectée naturellement à *D. trifida* issue de graine a réussi dans nos conditions expérimentales, mais le pourcentage des plantes infectées est plus faible par rapport à la transmission mécanique, nous avons noté 30 à 40 % de plantes infectées.

Essais de purification

La purification à partir d'igname s'avère difficile à cause des substances mucilagineuses, nous n'avons pas pu contourner la difficulté en purifiant le virus à partir d'un autre hôte sensible. En acidifiant nous avons pu rendre le broyat plus acqueux ce qui nous a permis d'appliquer ensuite certains procédures classiques de purification. Malgré tout, la concentration en particules virales reste faible après purification. Cela peut-être dû aussi bien à une dénaturation du virus pendant l'extraction qu'à une faible concentration en particules virales chez l'igname.

Microscopie électronique

Après coloration négative, le virus apparaît sous forme de filaments allongés flexueux de 760 nm de long environ. Par cette même technique il a été observé des structures cristallines, qui correspondent au pinwheels observés "in situ".

La présence du virus dans les cellules se manifeste par la formation d'inclusions anormales de type "pinwheels". Suivant le plan de la coupe ces inclusions apparaissent sous leur forme classique ou "pinwheel" ou sous forme de faisceaux encore appelés "bundles". Souvent ces structures sont en contact avec le réticulum endoplasmique. On peut noter également la présence de structures plurilamellaires ou "laminated aggregates".

Les observations des sections effectuées à partir de matériel sain obtenu par graines n'ont rien révélé.

Exceptionnellement a été observé au microscope électronique, la présence de virus de 30 nm de Ø à partir d'une suspension purifiée, le test biologique effectué sur une gamme d'hôtes différentiels nous a permis de conclure à la présence du Virus de la Mosaïque du Concombre (V.M.C.).

DISCUSSION

L'emploi de la coloration négative nous a permis de mettre en évidence chez *Dioscorea trifida* un virus de 760 nm de long appartenant au groupe de potyvirus. En outre les recherches cytologiques effectuées au microscope électronique, nous a montré la présence de structures de type "pinwheels".

Ces structures, induites par un virus dans les cellules hôtes, ont été retrouvées pour tous les virus appartenant au groupe PVY. (EDWARSON 1974).

L'observation du virus au microscope électronique s'est avérée difficile car ces plantes renferment des substances mucilagineuses en quantité importante. De ce fait, les préparations d'extraits bruts de plantes, présentent une abondance de matériel dans lequel il est impossible d'observer les virus. Seule la technique du "spray" préconisée par BOVEY (1971) a permis l'obtention de préparations plus propres, et par là de voir le virus. *In situ*, nous n'avons pas observé d'amas de particules virales comme cela est fréquent pour d'autres virus.

La présence de virus flexueux de 750 nm a également été observée par HARRISSON et al (1973) chez *Dioscorea alata* mais en complexe avec des particules bacilliformes et par MOHAMED et al (1975) chez *D. esculenta*, *D. trifida* et *D. alata*.

LAWSON et al (1971) observent la présence de structure de type pinwheel chez *D. floribunda*. Ils mentionnent également la présence d'un virus plus court de 400 nm environ. Par la "Dip-method" ils ont eux aussi noté la présence de particules flexueuses de 690 - 755 nm.

En 1973, WATERWORTH et al, isolent un virus latent *Dioscorea* Larent Virus (DLV) de *D. floribunda*. Ce virus de 325 - 475 nm de long serait du groupe PVX.

Notre étude nous permet d'établir la présence d'un virus flexueux appartenant au groupe PVY. En ce sens nous rejoignons les observations faites par MOHAMED (1975).

La présence dans notre matériel de virus de 30 nm de Ø que nous avons pu assimiler à du VMC n'a été observée que de façon fortuite et extrêmement rare. En effet, nous avons réalisé plusieurs tests igname provenant de cultures différentes sans résultats. Mais le VMC peut aussi se trouver en faible concentration dans la plante, en outre l'extrait igname demeure mucilagineux et difficile à appliquer sur une gamme d'hôtes, à cela peut s'ajouter une dénaturation éventuelle des particules virales soit à l'extraction, soit dans la plante (végétation active de l'igname 7 à 9 mois environ). Par contre en procédant par concentration du virus par purification et observation par la microscopie électronique nous pourrions augmenter les possibilités de mettre en évidence ce virus. Signaons que la sensibilité des *Dioscorea* au VMC a été mentionnée par WELLMAN (1935) chez *D. Bulbifera* et par BRIERLEY (1944) chez *D. alata*.

Il apparaît ainsi, que les ignames peuvent être infectés par différents virus. Virus de 750 nm se rattachant au groupe PVY, Virus de 450 nm se rattachant au groupe PVX. Enfin virus bacilliforme de 130 x 39 nm et particules virales de 30 nm pouvant être du VMC. Pour l'instant, il demeure important de pouvoir isoler les différents virus qui infectent ces plantes et de connaître de l'importance relative de chacun d'eux. Pour cela des recherches doivent être développées dans le domaine d'hôtes sensibles et différentiels, et d'une technique efficace de purification qui permettrait une meilleure concentration et purification du virus.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADSUAR J., 1955. A mosaic disease of the yam *Dioscorea rotundata* in Puerto-Rico. J. Agric. Univ. Puerto-Rico 39, 111-113.
- BOVEY R., 1971. A quick microspray method for detecting plant virus particles in crude or purified extracts and determining their concentration by electron microscopy, and its possible use with plum pox virus. Proc. 7 th. Conf. Czech. Plants Virol.
- BRIERLEY, PHILIP and FLOYD F. 1944. Index of Plant virus diseases. Agriculture handbook n° 307.
- COURSEY F.C., 1967. Internal Brown Spot - a condition in yams (*Dioscorea alata* L.) in Barbados. Rep. of trop. Prod. inst. London, Sept. 1967.
- DEIGHTON F.C., 1936. Report of Plant Pathology section in Report Dept. Agric. Dept. Agric. Sierra Leone. 22-26.
- EDWARDSON J.R., 1974. Some properties of the Potato Virus y group. Florida Agric. Exp. Stations Monograph. serie 4, 398.
- HARRISON B.B., and ROBERTS IM. 1973. Association of virus like particles with internal brown spot of yam *D. alata*. Trop. Agric., Trinidad, 50, 335-340.
- LAWSON R.H., HEARON S.S., SMITH F.F., KAHN R.P., 1971. Electron Microscopy and separation of viruses in *Dioscorea floribunda*. Phytopath. 1973 (Abstract). 63 - (12) 1435.
- MIGLIORI A. et Brigitte CADILHAC., 1976. Contribution à l'étude de la maladie à virus de l'igname : *Dioscorea trifida*. Ann. Phytopathol. 1976, 8 (1) 73-78.
- MOHAMED N. and MANTELL. S.H., 1975. A preliminary study of a virus disease of yam foliage in the eastern caribbean. A paper presented at the 13 th Annual Meeting of the Caribbean Food Crops Society held at U.W.I. Campus, St Augustine Trinidad W.I.
- RUPPEL E.G., DELPIN. H., and MARTIN R.W., 1966. Preliminary studies on a virus disease of a sapogenin. Producing *Dioscorea* species in Puerto-Rico. J. Agric. Univ. Puerto Rico 50, 151-157.
- WATERWORTH H.E., LAWSON R.H., and KAHN R.P. 1973. Purification Electron Microscopy and Serology of *Dioscorea* Latent Virus. J. Agric. Univ. Puerto Rico 58, 351-357.
- WELLMAN F.L., 1935. Index of Plant Virus diseases. Agriculture handbook n° 307.

RESUME

L'Ignane cultivée aux Caraïbes est infectée par un ou plusieurs virus. L'observation au microscope électronique des suspensions purifiées et des sections ultra-fines a permis de révéler la présence de particules virales de 760 nm et des inclusions anormales de type "pinwheel". Plus rarement le virus de la Mosaique du Concombre (VMC) a été mis en évidence.

SUMMARY

In Caribbean, cultures of yams are infected by one or several virus. The electron-microscopy of smallest leaves sections showed presence of 760 nm virus particules and abnormal inclusions of pinwheel's type.

Cucumber Mosaic Virus (C.M.V.) rarely conspicuous.