

Laboratoire de Virologie, Centre de Recherches d'Adiopodoumé,  
Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer Abidjan,  
Côte d'Ivoire

## Quelques propriétés de la Mosaïque Africaine du Manioc

### I: La transmission

Par

J. DUBERN

Reçu le 28 juin 1978

Bien que la description de la Mosaïque Africaine du Manioc (*Manihot utilisissima* Pohl) soit déjà ancienne (WARBURG 1894, ZIMMERMANN 1906), les différentes tentatives pour déterminer la nature du ou des agents pathogènes responsables ont échoué. La maladie présente en effet un ensemble de caractéristiques rendant son étude plus particulièrement délicate, caractéristiques qui tiennent soit à l'agent pathogène, soit à l'agent vecteur, soit à la plante elle-même.

L'agent pathogène n'a pu être isolé ni transmis mécaniquement; il n'a pas non plus été observé en microscopie électronique et sa détermination d'agent de type viral reste incertaine (KITAJIMA et COSTA 1964, MARAMOROSCH 1969, DUBERN 1973 a).

La plante, *Manihot utilisissima* Pohl., est une Euphorbiacée ligneuse introduite d'Amérique, à l'origine idemne de cette maladie. Le Manioc s'est révélé être, à défaut de l'hôte primaire, un hôte d'élite en Afrique (VAVILOV 1935, GREENWAY 1944, PYNAERT 1951).

Successivement ont été soupçonnés de transmettre la maladie un Thysanoptère, *Eutrips manihoti* (BONDAR 1924), un Jasside, *Erythroneura* sp. (CHINA 1930), et un Aphide (HEDIN 1931). KUFFERATH et GHESQUIERE (1932) ont par la suite montré que la maladie était transmise par une "Mouche Blanche" (Aleyrodidae, Homoptera). Cet insecte a été appelé successivement *Bemisia mosaicivectura* Ghesq. (KUFFERATH and GHESQUIERE 1932), *B. gossypiperda* M. L. (LEFEVRE 1935), *B. nigeriensis* Corb. (WILLIAMS 1940) et finalement *B. tabaci* Genn. (RUSSEL 1957).

12 FEB. 1980

Cette maladie a fait l'objet de nombreuses études portant sur les transmissions par graines, par greffe, par Cuscuta, par voie mécanique et par *Bemisia* spp. (MARAMOROSCH 1969). Cependant, certains résultats contradictoires, particulièrement sur la possibilité de transmission mécanique, ont été rapportés (STOREY et NICHOLS 1938). D'autres données, telle la transmission par Cuscuta, ont été peu abordées (SHEFFIELD et KULKARNI 1964). Et, même si certains modes de transmission ont été soumis à une attention plus soutenue telle la véctión par *Bemisia tabaci* Genn. (CHANT 1958), quelques études plus approfondies méritaient de les compléter.

Le présent article rapporte les tentatives de transmission par les méthodes habituelles: par greffe, par graines, par Cuscuta, par voie mécanique et particulièrement par insecte. Ce dernier type de transmission a été réétudié en détail: transmission par les adultes mais aussi par l'insecte à chaque stade larvaire et par les oeufs. Les résultats de tous les essais sont rapportés même si la transmission effective de la maladie n'a pu être réalisée.

## Matériel et Méthodes

### Conditions expérimentales

Tous les essais ont été effectués dans des serres à l'abri des insectes. Les plantes et les insectes ont été soumis aux conditions climatiques habituelles de la Basse Côte d'Ivoire: températures de 20 à 36 °C durant le jour, humidité relative de 95—100 % et durée du jour de 12 h.

Les plantes de Manioc utilisées, *Manihot utilissima* Pohl. (*Manihot esculenta* Crantz), sont obtenues par semis en pot dans un mélange terre-sable-compost stérilisé. Les plants sains proviennent de graines récoltées un an auparavant dans les collections de l'ORSTOM; ils sont donc des hybrides de différentes variétés. Aucune variété résistante ou un tant soit peu tolérante n'ayant été observée dans les collections de l'ORSTOM, il a été estimé que les lots obtenus par semis étaient tous également sensibles à la maladie, et par suite, homogènes, et ce malgré leurs morphologies parfois très dissemblables. Les plants sont utilisés à l'âge de 1 à 2 mois, au stade 1, à 3 feuilles trilobées. Après utilisation, les plants sont traités chaque semaine avec des insecticides: vamifène additionné de parathion.

### Inoculum

La maladie a été prélevée sur la variété Agba Kpouka, dans la collection de l'ORSTOM. Cette variété montrait en effet les symptômes les plus typiques de la maladie, tels qu'ils ont été décrits par STOREY et NICHOLS (1938). Un lot de Maniocs de semis infecté par des Mouches Blanches prélevées sur cette variété est devenu l'inoculum initial.

### Transmission par insecte

L'insecte vecteur, *Bemisia tabaci* Genn., possède une larve allométabole. Les femelles déposent leurs oeufs sur la face inférieure des feuilles; les larves, de premier stade, sont mobiles mais, après un vagabondage sur 10 cm environ, elles se fixent; ces larves mesurent alors environ 0,1 mm de longueur. Pendant les stades 2, 3 et 4, les larves restent fixées; les antennes et les pattes sont alors réduites à des moignons. Au quatrième et dernier stade, les larves deviennent plus épaisses et cessent toute alimentation. Après métamorphose naissent des insectes ailés, très mobiles, de 1 à 1,2 mm de longueur. Mâles et femelles sont presque

identiques: les plaques des glandes cirières sont plus petites chez les mâles que chez les femelles; l'abdomen est plus pointu et moins large chez les mâles. La reproduction a lieu par oviparité et amphisexualité; la reproduction parthénogénétique est facultative, dépend des conditions climatiques et ne donne que des mâles. Les larves et les adultes vivent seulement à la surface inférieure des feuilles.

Cet insecte transmet de nombreuses maladies à virus (supposées). Il est extrêmement polyphage et se développent sur des plantes appartenant aux familles suivantes: Compositae, Convolvulaceae, Cruciferae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Geraniaceae, Labiaceae, Leguminosae, Linaceae, Malvaceae, Pedaliaceae, Solanaceae, Scrophulariaceae, Tiliaceae, Urticaceae, Verbenaceae. Sa distribution géographique n'a pas de limite et il est aussi bien présent dans des zones intertropicales que dans des zones tempérées (AZAB, MEGAHED et EL MIRSAWI 1970, 1971, COHIC 1968, HUTCHINSON et al. 1950). Cependant, il peut prendre des habitudes alimentaires très strictes qui modifient ses caractéristiques morphologiques et dépendent alors de la plante hôte (POLLARD 1955, MOUND 1963). Ainsi les insectes récoltés sur le Manioc peuvent se développer sur le Gombo (*Hibiscus esculentus*), le Coton et le Tabac; prélevé sur l'une des ces dernières plantes il est très difficile de l'élever sur le Manioc (durée de vie raccourcie et absence de ponte).

Les Mouches Blanches utilisées ont été prélevées dans les champs de Manioc de l'OR-STOM; elles sont manipulées soit à l'oeil nu, soit sous la loupe binoculaire Zeiss, après anesthésie. La détermination de l'espèce utilisée a été effectuée au cours de quatre expériences, par observation des pupariums avec un microscope Leitz Orthomat (oculaire  $\times 10$ , objectif  $\times 10$ ), en utilisant la clef de détermination de MOUND (1963), afin de séparer les deux espèces très voisines *Bemisia tabaci* Genn. et *Bemisia hancocki* Corb.

Les Mouches Blanches sont élevées en petites cages ( $100 \times 50 \times 50$  cm) dont les parois sont garnies de voile de tergal imperméable à ces insectes (trous de  $0,15 \times 0,15$  mm). Ces cages sont placées dans des serres à l'abri des insectes.

Pour les expériences de transmission et pour démarrer les élevages, et donc dans le but de forcer les insectes à piquer et vivre en contact avec des plantes déterminées, ils sont confinés dans des microcages de 12 mm de diamètre, de 8 mm de profondeur et dont le fond est garni de voile de tergal (PRUTHI et SAMUEL 1937, STOREY 1937, GIDDINGS 1939). Ces microcages sont placés sous les feuilles; des anneaux de mousse de polyéthylène évitent l'écrasement des feuilles et forment joints entre les microcages et les feuilles. Les insectes adultes sont prélevés à l'aide d'aspirateurs buccaux avec une faible dépression pour éviter de briser les rostris; ils sont endormis soit avec de l'éther diéthylique, soit avec du gaz carbonique, soit par l'application d'une température de  $6^{\circ}\text{C}$ . L'éther est d'emploi très commode et n'altère pas la longévité des insectes à condition de limiter sa durée d'application. L'utilisation de températures de  $6^{\circ}\text{C}$  permet de conserver dans les pièges les insectes vivants pendant 48 h, alors qu'à la température ambiante ( $26^{\circ}\text{C}$ ) ils ne survivent pas au delà d'une douzaine d'heures sans alimentation.

### Transmission par greffe

Diverses techniques de greffage ont été expérimentées afin d'utiliser un système convenable. Successivement ont été tentées la greffe en tête, la greffe en fente latérale, la greffe par approche et la greffe d'oeil. La greffe par approche est celle qui ménage au mieux le porte-greffe et le greffon car elle maintient un flux continu de sève. Les deux plantes sont ligaturées avec du Parafilm M, après avoir oté les épidermes et les parenchymes, et sont placées dans des enceintes dont l'atmosphère est sursaturée d'eau. Au bout de deux semaines le porte-greffe est étêté et le greffon séparé de sa base. La ligature est otée entre 4 et 5 semaines puis la greffe est examinée. Deux mois plus tard, des transmissions de contrôle vers des Maniocs sains de semis sont effectuées: greffes et transmission par insectes.

### Transmission par Cuscute

De nombreuses espèces de Cuscute ont été utilisées: *Cuscuta campestris*, *C. gronovii*, *C. europaea*, *C. macroua*, *C. arvensis*, *C. lupuliformis*, *C. subinclusa* et *C. scandens*. Dans les

conditions climatiques de la Côte d'Ivoire, et bien qu'elles aient toutes germé en boîte de Pétri, seules *C. gronovii* et *C. subinclusa* ont atteint un développement satisfaisant sur le Manioc pour permettre cette étude. Environ deux mois après les essais de transmission par Cuscute, des contrôles sont effectués: transmission par greffe et par *Bemisia tabaci* Genn. vers des Manioc sains de semis.

## Résultats

### Transmission par graines

Bien que de nombreux auteurs aient estimé que la maladie n'était pas transmise par cette voie, il a semblé nécessaire de le contrôler sur des semis importants, ne serait-ce que pour la bonne marche des diverses expériences de transmission réalisées.

Plus de 20 000 graines de Manioc provenant de plantes malades ont été semées; aucune n'a produit de plants malades.

### Transmission par greffe

Les greffes intraspécifiques ont démontré la nature infectieuse de la maladie. Environ 50 % des greffons se sont implantés. Dans le cas où les greffes ont pris, tous les plants ont été atteints et ont montré des symptômes de mosaïque au bout de 6 à 8 semaines. Dans le cas où les greffes ont été rejetées, la maladie a atteint approximativement le quart des plants.

L'étude de la transmission par greffes interspécifiques et intergénériques, déjà entreprise par BRUNT (1963), a été expérimentée. La maladie a ainsi été transmise à *Manihot glaziovii*, *M. palmata*, *M. dichotoma*, *M. flabellifolia*, *M. melanobasis* et *M. saxicola*. Par contre aucun succès n'a été obtenu avec les Euphorbiacées suivantes: *Ricinus communis*, *Croton lobata*, *Euphorbia hirta*, *E. peplus*, *E. heterophylla*, *E. biumbellata*, *E. preslii*, *E. platyphyllus*, *E. humifusa*, sur lesquelles les greffons ont subsisté et sont restés turgescents pendant deux semaines avant d'être finalement rejetés.

Quelques tentatives restées sans succès ont également été effectuées avec quelques membres de familles réputées pour leur facilité de greffage: *Nicotiana tabacum* var. Samsun, *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae), *Crotalaria pallida*, *C. juncea*, *Arachis hypogaea* (Leguminosae), *Gossypium hirsutum*, *Hibiscus esculentus* (Malvaceae). Des contrôles ont été effectués: greffes et transmission par Mouches Blanches vers des Manioc sains de semis.

Par ailleurs, cette technique de greffage a été utilisée dans le but de comparer la Mosaïque du Manioc avec d'autres affections présentant des caractéristiques voisines: Mosaïque du Cotonnier, Enroulement des feuilles du Gombo, Enroulement des feuilles de l'Igname et Enroulement des feuilles du Tabac, Mosaïque du Manioc *M. glaziovii*. Le Manioc, *M. utilissima*, a alors été utilisé ou comme greffon ou comme porte-greffe. Hormis la transmission attendue et réussie de la Mosaïque du Manioc *M. glaziovii*, aucune maladie n'a affecté le Manioc *M. utilissima*. De même, la Mosaïque du Manioc n'a pu être transmise au Cotonnier, au Gombo, à l'Igname ou au Tabac.

### Transmission par Cuscuta

Seuls *Cuscuta subinclusa* et *C. gronovii* ont atteint un développement suffisant pour tenter la transmission de la maladie. Ont été essayées les plantes suivantes: *Nicotiana tabacum* var. Samsun, *N. clevelandii*, *N. glutinosa*, *Petunia violacea*, *Capsicum annuum*, *C. frutescens*, *Manihot utilissima*, *M. glaziovii*, *Physalis floridana*, *P. alkekingie*, *Cucumis melo*, *Cucurbita pepo*, *Hibiscus esculentus*, *Gossypium hirsutum*, *Passiflora edulis*, *P. quadrangularis*, *Dioscorea allata*, *Crotalaria juncea*, *Arachis hypogaea*, *Vigna sinensis*, *Soja max*, *Lycopersicon esculentum*, *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor*. Les deux espèces se sont développées sur ces plantes qui ne furent pourtant pas infectées. D'autres plantes ont par ailleurs été utilisées mais les Cuscutes ne parvinrent pas à s'y implanter.

### Essais de transmission mécanique

Les essais menés se sont soldés par des échecs constants malgré la diversité des systèmes expérimentés. La transmission a été tentée par frottement des feuilles, des pétioles, des tiges et des racines, en présence d'abrasifs (carborindum, sable ou célite hyflosupersel); elle a également été tentée par injection, par incision à différents niveaux de la plante, par trempage des racines et par infiltration des feuilles. L'inoculum était des extraits bruts, dilués ou non avec de l'eau ou des solutions tamponnées et réalisés par broyage en chambre froide ou à température ambiante (26 °C) de matériel frais ou de matériel congelé (feuilles, tiges ou racines). Cet inoculum pouvait aussi être des extraits clarifiés obtenus par des méthodes variées: centrifugation, ultracentrifugation, acidification, congélations et décongélations successives, dégradation par le n-butanol, le chloroforme, l'éther diéthylique, le tétrachlorure de carbone ou le détergent Triton X-100; des additions diverses ont été effectuées: bentonite, albumine, caféine, charbon actif, acide nicotinique, polyéthylène-glycol, polyvinyl-pyrrolidone (Polyclar AT). Des réducteurs variés ont été utilisés: acide ascorbique, chlorure de cystéine, bisulfite et diéthylthiocarbamate de sodium, acide thioglycolique. De même, on a fait varier les pressions osmotiques, les forces ioniques et les pH: phosphate, citrate, acétate, borate, Tris, de M/5 à M/1000 pour la molarité, de 4,8 à 9,0 pour le pH, avec 0 à 50 % de saccharose.

Le pouvoir inhibiteur propre des extraits de Manioc a été examiné en préalable à ces diverses inoculations. L'extrait brut de Manioc est additionné d'une suspension de virus de la Mosaïque du Tabac et inoculé à *Nicotiana tabacum* var. Samsun NN; le nombre de lésions locales induites est peu diminué par rapport à celui obtenu par l'inoculation de la suspension du virus sans addition (10 %). Le pouvoir inhibiteur du Manioc est donc faible.

Les plantes utilisées pour ces essais sont les suivantes: *Gomphrena globosa*, *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor*, *Commelina nudiflora*, *Aster almelus*, *Callistephus chinensis*, *Zinnia elegans*, *Cucumis melo*, *Jatropha gossypifolia*, *Manihot glaziovii*, *M. utilissima*, *M. palmata*, *M. dichotoma*, *M. flabellifolia*, *M. melanobasis*, *M. saxicola*, *Phyllanthus amarus*, *Ricinus communis*, *Crotalaria juncea*, *Phaseolus populina*, *P. vulgaris*, *Vigna sinensis* var. Ramshorn et

var. Black eye, *V. racemosa*, *V. unguiculata*, *Hibiscus esculentus*, *Gossypium barbadense*, *Nicotiana tabaci* var. White Burley, var. Xanthi, var. Judy Price et var. Samsun, *Datura stramonium*, *Physalis alkekengi*, *Nicotiana glutinosa*.

### Transmission par Mouches Blanches

#### a. Nombre d'insectes adultes nécessaires à la transmission

Afin de réaliser les transmissions dans les meilleures conditions, le nombre d'insectes minimal pour réaliser la transmission efficace de la maladie a été étudié. Le Tableau 1 montre qu'un seul insecte suffit à la transmission de la maladie; à partir de 10 insectes, le taux de transmission maximal est atteint. Le taux de transmission maximal est le taux de transmission pour lequel un nombre relativement peu élevé d'insectes permet d'infecter un nombre relativement important de plantes. Le nombre de plantes infectées est en relation avec le nombre d'insectes utilisés; l'étude de l'évolution comparée de ces deux termes indique une relation de type logarithmique. Le rapport entre le nombre de plantes atteintes et le logarithme du nombre d'insectes utilisés a été analysé; il est appelé taux de transmission de la maladie. Ce taux est maximal pour un nombre de 10 insectes. Dans les expériences qui ont suivi c'est donc ce nombre de 10 insectes par plante qui a été utilisé.

Parallèlement à l'étude de ce taux de transmission de la maladie, le pourcentage d'insectes transmettant la maladie a été estimé par la formule de SWENSON (1967); entre 7 et 15 % des insectes sont infectés et, lorsque 10 insectes sont utilisés par plante, le pourcentage d'insectes infectés est d'environ 12 %.

#### b. Période d'acquisition

La période d'acquisition, ou durée du repas permettant l'infection des insectes, a été étudiée dans deux conditions: sans jeûne préalable et avec un jeûne préalable de 3 h environ. La période minimale d'acquisition de la

Tableau 1  
Nombre d'insectes adultes nécessaires à la transmission\*)

Nombre d'insectes par plante	0	1	2	5	10	20	50	100
Nombre de plantes inoculées	15	15	15	15	15	15	15	15
Nombre de plantes infectées	0	1	3	8	11	12	14	15
% d'insectes vecteurs**)	—	13	11	15	13	8	7	1
Taux de transmission***)	—	1,7	2,0	4,2	5,0	4,8	4,8	4,7

\*) Les insectes sont élevés sur plantes malades, puis sont déposés en nombre variable sur les Manioc sains sur lesquels ils restent jusqu'à leur mort.

\*\*\*) % d'insectes vecteurs calculés à l'aide de la formule de SWENSON (1967):  $p = I - (I - R/N)^{1/i}$ ;  $p$  = % d'insectes infectés,  $R$  = nombre de plantes malades,  $N$  = nombre de plantes inoculées,  $i$  = nombre d'insectes par plante.

\*\*\*\*) Taux de transmission: rapport entre le nombre de plates atteintes et le logarithme du nombre total d'insectes utilisés.

maladie est de 5 h sans jeûne préalable et de 3 h 30 min après un jeûne de 3 h (Tab. 2). Une période d'acquisition optimale a été définie, correspondant à un pourcentage de plantes atteintes au moins égal à 50. Cette période optimale est de 8 h sans jeûne préalable et de 5 h après un jeûne de 3 h.

Tableau 2  
Période d'acquisition

Temps (h)	0,5	1	2	3	3,5	4	4,5	5	6	8	10	12
Sans jeûne préalable*)	0	0	0	0	0	0	—	2	12	26	21	27
Avec jeûne préalable*)	—	—	0	0	9	13	11	16	21	16	—	—

\*) Nombre de plantes infectées, le nombre de plantes inoculées étant égal à 30 pour chaque temps. La durée du jeûne précédant le repas d'acquisition est d'environ 3 h. Après ce repas, les insectes, 10 par plante, sont transportés sur des Maniocs sains où ils restent jusqu'à leur mort.

c. Période de latence

Après un jeûne de 3 h, suivi d'une période d'acquisition de 5 h, les insectes ne sont pas capables de transmettre immédiatement la maladie. Un délai, ou période de latence, est nécessaire avant que les insectes ne deviennent réellement infectieux. La période de latence est alors de 4 h (Tab. 3); une période optimale a également été définie, correspondant à un pourcentage de plantes atteintes au moins égale à 50. Cette période optimale de latence est de 6 h.

Tableau 3  
Période de latence après un jeûne de 3 h et une période d'acquisition de 5 h\*)

Temps (h)	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de plantes inoculées	12	12	22	22	34	34	34	34	34
Nombre de plantes infectées	0	0	0	0	3	11	19	21	23

\*) 10 insectes adultes par plante. Après une période d'acquisition de 5 h, les insectes adultes sont déposés sur une plante qui n'est pas infectée par la maladie (*Physoalis alkekinge*) pendant un temps variable, puis transportés sur des Maniocs sains où ils restent jusqu'à leur mort.

d. Période d'inoculation

Après un jeûne de 3 h, une période d'acquisition de 5 h et une période de latence de 6 h, les insectes demandent un repas d'une certaine durée, ou période d'inoculation, pour infecter les plantes; une période de 10 min suffit pour inoculer la maladie. Une période d'inoculation optimale a également été précisée, comme précédemment; cette période est de 30 min environ (Tab. 4).

e. Période de rétention

Une fois l'agent pathogène acquis par l'insecte, il est intéressant de savoir si l'agent pathogène subsiste longtemps dans l'insecte; cette dernière parti-

*Tableau 4*  
Période d'inoculation, après un jeûne de 3 h, une période d'acquisition de 5 h  
et une période de latence de 6 h\*)

Temps (min)	5	10	15	20	25	30	40	50	60
Nombre des plantes inoculées	12	36	36	36	36	24	24	12	12
Nombre de plantes infectées	0	8	11	10	16	17	19	8	9

\*) 10 insectes adultes par plante. Après cette période d'inoculation, les insectes sont tués manuellement et les plantes sont traitées avec un insecticide.

cularité est en effet en relation directe avec la dissémination de la maladie. Cette durée est appelée période de rétention. Par suite de la mort successive des insectes et pour rester dans les meilleures conditions de transmission, les insectes sont regroupés par 10 à chaque transport. La période de rétention est de 9 jours (Tab. 5); cependant bon nombre d'individus perdent leur pouvoir infectieux plus tôt.

*Tableau 5*  
Période de rétention dans l'insecte adulte\*)

Temps (jours)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Nombre de plantes inoculées	30	30	27	23	22	19	15	12	8	7	5	3	1
Nombre de plantes infectées	28	24	20	20	19	12	8	3	3	1	0	0	0

\*) Cette période est étudiée sur des insectes élevés sur plantes malades. 10 insectes par plante. A chaque transfert, les insectes sont rassemblés puis redistribués en groupes de 10 individus.

#### f. Transmission par les larves

La transmission de la Mosaïque par *Bemisia tabaci* à ses divers stades larvaires a été étudiée. Elle est effectuée en transportant les larves élevées sur plantes malades et en les déposant sur les faces inférieures retournées des

*Tableau 6*  
Transmission par les larves\*)

	Larves 1er stade	Larves 2me stade	Larves 3me stade	Adultes néoformés
Nombre d'insectes par plante	5	10	10	5
Nombre de plantes inoculées	30	30	30	10
Nombre de plantes infectées	2	6	5	4
% d'insectes vecteurs*)	1,4	2,2	1,8	5,0

\*) Larves et adultes sont élevés sur plantes malades sur lesquelles ils sont directement prélevés. Le pourcentage d'insectes vecteurs est calculé à l'aide de la formule de SWENSON (1967).

feuilles de plantes saines. Deux difficultés ont rendu ces expériences très particulièrement délicates: la petitesse et la grande fragilité des larves de premier stade, seules mobiles, et la fixité des trois autres stades larvaires; la difficulté du quatrième stade a été contournée en prélevant les adultes dès leur sortie de l'exuvie; quant aux larves de deuxième et de troisième stades, elles sont prélevées avec le maximum de précaution. Malgré cela, peu de larves survivent, rostres brisés, ou simplement ne peuvent se fixer et injecter leur rostre. Quelque soit le stade de développement de la larve, *Bemisia tabaci* transmet la Mosaïque du Manioc (Tab. 6).

#### g. Transmission par voie transovarienne

Cette expérience a été réalisée en suivant deux voies. D'une part des oeufs de Mouches Blanches sont déposés sur la face inférieure retournée de feuilles de Manioc sains. D'autre part des oeufs sont déposés dans des boîtes de Petri en atmosphère saturé d'eau et à l'étuve à 30 °C; au bout de 48—72 h les larves de premier stade nouveau-nées sont recueillies et déposées sur la face inférieure retournée de feuilles de Manioc sains. La maladie n'a pas pu être transmise par cette voie et la plupart des oeufs et des larves meurent en cours d'évolution; certains donnent cependant naissance à des adultes en nombre suffisant pour permettre la transmission de la maladie. La Mosaïque ne semble donc pas transmise par voie transovarienne (Tab. 7).

Tableau 7  
Transmission par les oeufs

	Oeufs	Larves de premier stade nouveau-nées
Nombre d'individus	1000	250
Nombre de larves de premier stade	122	250
Nombre d'adultes obtenus	45	32
Nombre de plantes inoculées	20	25
Nombre de plantes infectées	0	0

#### h. Alimentation artificielle

Des essais d'alimentation artificielle d'insectes adultes ont été entrepris dans le but d'obtenir une survie aussi longue que possible, permettant l'acquisition de l'agent pathogène. Plusieurs solutions nutritives ont été présentées aux insectes: saccharose, glucose, fructose, maltose, extrait de levure, seul ou en mélange (à des concentrations variées de 1, 2, 5, 10 et 20 %), avec du chlorure de sodium (0,01, 0,05, 0,1, 0,4, 0,9 %), de l'ascorbate de sodium (0,001, 0,005, 0,01 %) et de l'agar (0,1, 0,2, 0,5 %). Les milieux de AUCLAIR, de POITOUT et BLUES, et de DADD et KRIEGER, classiquement utilisés dans les élevages d'insectes ont également été présentés. Ces solutions nutritives sont déposées sur une membrane au travers de laquelle viennent piquer les insectes: collodion,

lâtex et Parafilm M; seul ce dernier s'est révélé acceptable et facilement percé (surface étirée 9 fois supérieure à celle de la présentation industrielle). La meilleure solution nutritive actuelle est constituée d'eau distillée, saccharose 3,5 %, chlorure de sodium 0,9 %, ascorbate de sodium 0,01 %; elle permet la survie jusqu'à 72 h de *Bemisia* adultes et même leur ponte sur le Parafilm M. Des extraits bruts préparés extemporanément et des extraits clarifiés de Manioc malade ont été ajoutés à cette solution. Des adultes ayant vécu pendant 24 h avec cette solution renouvelée de 6 h en 6 h ont été déposés sur des plantes saines; la maladie n'a pas pu être transmise.

#### i. Plantes inoculées par insectes adultes

Afin de contrer les habitudes alimentaires des insectes adultes, 50 individus (au lieu de 10) sont prélevés sur Maniocs malades où ils ont été élevés, et sont placés dans 5 microcages sur chaque plante à expérimenter où ils sont laissés jusqu'à la mort.

Seules quelques espèces appartenant uniquement au genre *Manihot* ont été contaminées: *M. dichotoma*, *M. flabellifolia*, *M. glaziovii*, *M. melanobasis*, *M. palmata*, *M. saxicola* et *M. utilisissima*. Toutes les autres plantes testées ont répondu négativement à l'inoculation: *Tetragonia expansa* (Aizoaceae); *Spondias mombin* (Anacardiaceae); *Amaranthus caudatus*, *Celosia cristata*, *Gomphrena globosa* (Amaranthaceae); *Allium cepa* (Amaryllidaceae); *Rawolfia vomitoria*, *Tabernaemontana amsonia*, *Vinca rosea* (Apocynaceae); *Anchomonas difformis* (Araceae); *Carica papaya* (Caricaceae); *Chenopodium album*, *C. amaranticolor*, *C. hybridum*, *C. quinoa* (Chenopodiaceae); *Commelina capitata*, *C. nudiflora*, *Palisota hirsuta* (Commelinaceae), *Aster almelus*, *A. alpinus*, *A. altaicus*, *A. cordifolius*, *A. dumosus*, *A. grandiflorus*, *A. lanceolatus*, *A. linosyris*, *A. novae-angliae*, *A. patens*, *A. pyrenaeus*, *A. rotundifolius*, *A. salicifolius*, *A. sibiricus*, *Calendula officinalis*, *Calliopsis tinctoria*, *Callistephus chinensis*, *Cosmos bipinnatus*, *Cosmos sulphurus*, *Helianthus annuus*, *Zinnia elegans* (Compositae); *Cuscuta gronovii*, *C. scandens*, *C. subinclusa* (Convolvulaceae); *Cucurbita pepo*, *Cucumis melo*, *Lagenaria siceraria*, *Luffa aegyptica*, *L. acuntangula*, *Momordica balsamina*, *M. charantia* (Cucurbitaceae); *Dioscorea allata*, *D. batatas*, *D. bulbifera*, *D. compositae*, *D. esculenta*, *D. floribunda*, *D. rotundata*, *D. spiculiflora*, *D. tulipifera* (Dioscoreaceae); *Croton lobata*, *Euphorbia amygdaloïdes*, *E. biumbellata*, *E. chamaesyce*, *E. cyparissias*, *E. dentata*, *E. exigua*, *E. falcata*, *E. heterophylla*, *E. hirta*, *E. humifusa*, *E. lathyris*, *E. marginata*, *E. myrsinites*, *E. nartini*, *E. nutans*, *E. peplus*, *E. platyphyllus*, *E. polychroma*, *E. preslii*, *E. segetalis*, *E. seguirina*, *E. terracina*, *E. wulfenii*, *Hevea brasiliensis*, *Jatropha agansis*, *J. gossypifolia*, *Mercurialis annua*, *Micrococca mercurialis*, *Phyllanthus amarus*, *P. nururi*, *P. urunaria*, *Ricinus communis*, *Sapium nerematospermum* (Euphorbiaceae); *Ipomea babatas*, *I. pes-caprae*, *I. stolonifera* (Ipomeaceae); *Leonotis nepetifolia* (Labiaceae); *Arachis hypogaea*, *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformis*, *Cassia tora*, *C. occidentalis*, *Centrosema plumieri*, *C. pubescens*, *Crotalaria juncea*, *C. longithyra*, *C. striata*, *C. usaramoensis*, *Glycine max*, *Lupinus vulgaris*, *Melilotus alba*, *Phaseolus vulgaris*, *P. lathyroïdes*, *P. mungo*, *P. populina*, *Pisum sati-*

*vum*, *Stylosanthes gracilis*, *S. juncea*, *Trifolium fragiferum*, *T. incarnatum*, *T. montanum*, *T. pratense*, *T. repens*, *Vicia faba*, *Vigna racemosa*, *V. sinensis* var. Ramshorn, *V. sinensis* var. Black Eye, *V. unguiculata*, *Voanzea subterranea* (Leguminosae); *Lagerstroemia* sp. (Lythraceae); *Abutilon indicum*, *Althea rosea*, *Hibiscus cannabinus*, *H. esculentus*, *H. rosa-sinensis*, *Gossypium barbadense*, *G. hirsutum*, *Lavatera eretica*, *Malvastrum coromandelianum*, *Sida acutifolia*, *S. cordifolia*, *Urena lobata*, *Wissadula cretica* (Malvaceae); *Humulus japonicus*, *H. lupulus* (Moraceae); *Apium graveolens*, *Daucus carota* (Ombelliferae); *Passiflora edulis*, *P. foetida*, *P. quadrangularis* (Passifloraceae); *Plantago amplexicaulis*, *P. lanceolatus*, *P. major*, *P. maritima*, *P. media* (Plantaginaceae); *Paulinia primata* (Sapindaceae); *Chrysophyllum* sp. (Sapotaceae); *Scoparia dulcis*, *Torenia fournieri* (Scrophulariaceae); *Capsicum annum*, *C. frutescens*, *Datura ferox*, *D. inermis*, *D. metel*, *D. stramonium*, *D. tatula*, *Lycopersicon esculentum*, *Petunia nana-compacta*, *P. violacea*, *Physalis alkekengi*, *P. floridana*, *Nicotiana clevelandii*, *N. glutinosa*, *N. megalosiphon*, *N. rustica*, *N. sylvestris*, *N. tabaci* var. Judy Pride, var. Samsun, var. White Burley, var. Xanthi, *Solanum nigrum* (Solanaceae); *Theobroma cacao* (Sterculiaceae); *Triumphetta rhomboidea* (Tiliaceae); *Tropaeolum majus* (Tropeolaceae).

### Discussion

Les différents types de transmission expérimentés ont permis d'apporter quelques informations complémentaires sur la Mosaïque du Manioc en Côte d'Ivoire.

Il faut dès à présent souligner que deux problèmes importants ont été soulevés, dès le début des expérimentations: pureté de l'inoculum de départ et homogénéité des plants de Manioc de semis vis-à-vis de la maladie. Le premier problème concerne le prélèvement de la maladie seule. La culture du Manioc par multiplication végétative oblige à envisager la surinfection probable par plusieurs maladies; des symptômes autres que la mosaïque ont été notés sur certaines variétés: étiations et balais-de-sorciers. Bien que la relation entre ces divers symptômes et la mosaïque n'ait pas été établie, il a semblé prudent de choisir l'inoculum initial dans une variété ne montrant que les symptômes typiques tels qu'ils ont été décrits par STOREY et NICHOLS (1938). Les inoculations successives à des Maniocs de semis ont toujours produits la mosaïque et seulement la mosaïque. Le second problème soulevé est celui de l'utilisation de lots homogènes de plants sains; l'obtention de clones sains par bouturage ayant été écartée par suite de l'insuffisance de locaux étanches aux insectes, seule la multiplication par semis a été réalisée. Des contrôles ont été effectués et ont montré l'égale sensibilité à la maladie.

La transmission par graines a été étudiée. Dans aucun cas la maladie n'a été transmise; ce résultat est en accord avec les observations de HEDIN (1931) et de STOREY et NICHOLS (1938).

Les greffes intraspécifiques ont évidemment confirmé la nature infectieuse de la maladie, en accord avec les travaux de STOREY (1930), de STOREY

et NICHOLS (1938), de DEIGHTON (1932), de CHANT (1957) et de ALAGIANAGALINGAM et RAMAKRISHNAN (1966). Il s'agissait par ailleurs d'étendre cette méthode et de tenter de réaliser la transmission de la maladie à d'autres espèces, à d'autres genres et même à d'autres familles, d'une part dans le but de déceler l'existence de plantes réservoirs de la maladie, et d'autre part dans le but de comparer cette maladie à d'autres affections présentant des propriétés identiques: absence de transmission mécanique, difficultés d'isolement et d'observation de l'agent pathogène, transmission persistante par Aleyrodés. Hormis le genre *Manihot*, aucun autre n'a accepté la maladie. En outre, les essais de greffe de Cotonnier, de Gombo, d'Igname, de Tabac, de Crotalaire, atteints de Mosaïque ou d'Enroulement n'ont pas non plus permis de contaminer le Manioc.

Par Cuscute, les nombreuses tentatives n'ont pas abouti. Plusieurs essais réalisés avec *Cuscuta subinclusa* ont provoqué des malformations sur *Manihot utilissima*, sur *Capsicum annuum* et *C. frutescens* et une jaunisse sur *Petunia violacea*; il semble qu'ait été transmise une maladie de surinfection, probablement liée à la présence de mycoplasmes et provoquant une importante ramification du Manioc (DUBERN 1973 b).

La transmission mécanique, également tentée, n'a pas apporté de succès, en accord avec les travaux des auteurs suivant: STOREY et NICHOLS (1938), CHANT et GOTTERILL (1958), ALAGIANAGALINGAM et RAMAKRISHNAN (1966). Les résultats opposés de HEDIN (1931), KUFFERATH et GHESQUIERE (1932), et LEFEVRE (1935) doivent donc être interprétés différemment; la transmission d'une autre maladie a probablement été réalisée; peut-être la Mosaïque Commune? Cette maladie, inconnue en Afrique, est strictement localisée à l'Amérique et présente une symptomatologie très semblable; elle aurait pu survenir à la faveur de l'introduction de clones de Manioc américains (COSTA et KITAJIMA 1972).

L'étude de la transmission par les Mouches Blanches adultes a permis de confirmer les travaux de CHANT (1958), STOREY et NICHOLS (1938). Quelques différences apparaissent dans la valeur absolue des différentes périodes de la transmission. Ces différences sont probablement à rapprocher des variations des conditions expérimentales, et notamment de la température; par ailleurs, aucune distinction n'a été faite dans les expériences entre mâles et femelles; les deux transmettent la maladie et quelques expériences préliminaires ont montré que les femelles transmettraient avec un taux de réussite de 2 à 3 fois supérieur; ces travaux sont en accord avec ceux de NAIR et NENE (1973) et RATHY et NENE (1974) effectués sur d'autres maladies. Basés sur une faible expérimentation, ils demandent cependant à être confirmés par de nouveaux travaux.

La transmission par les larves s'est révélée possible, aussi bien par les larves de premier stade que par les autres. En outre, la transmission trans-stadiale, c'est-à-dire dans l'insecte d'une stade à l'autre, a été réalisée puisque les adultes néoformés transmettent la maladie acquise à l'état de larve de quatrième stade.

La transmission transovarienne a été examinée; dans aucun cas elle n'a été constatée. Ce mode de transmission est réalisé par la plupart des grands

groupes d'insectes (SMITH 1967), mais n'a pas été observé de façon certaine chez les Aleyrodes. Dans la plupart des cas où ce type de transmission est réalisé, le pourcentage de transmission (nombre d'oeufs transmettant la maladie) est très faible; il se peut donc que le nombre d'oeufs ou de larves de premier stade néofomées utilisé ait été trop faible; cependant la comparaison effectuée entre les Tableaux 6 et 7 montre que les larves de premier stade transmettent la maladie quoique avec un taux faible (7%): 150 larves ont permis d'infecter 2 plantes; le Tableau 7 indique qu'avec 362 larves de premier stade aucune plante malade n'a été obtenue.

### Résumé

L'étude de la transmission de la Mosaïque du Manioc (*Manihot utilissima* Pohl.) en Afrique a été totalement reprise. Elle a permis de confirmer et de compléter de nombreux travaux antérieurs: transmission par greffe et par *Bemisia tabaci* Genn. (Aleyrodidae), absence de transmission par graine, par Cuscute et par voie mécanique. La transmission est réalisable par les divers stades larvaires et par les adultes de *Bemisia tabaci*, mais non par les oeufs.

### Summary

#### Some properties of African cassava mosaic disease

##### I: Transmission

The transmission of cassava mosaic disease was looked at in all its bearings in order to get a final restatement of this question. This study got confirmations and complements of several published works: transmission by graft and by a whitefly *Bemisia tabaci* Genn. (Aleyrodidae), but no transmission by seeds, by dodder and by mechanical means. The transmission by whitefly was reviewed in details; the different instar apterous insects and the adults transmitted the disease, but the transovarial transmission was never observed.

### Zusammenfassung

#### Einige Eigenschaften der afrikanischen Mosaikkrankheit des Maniok

##### I. Die Übertragung

Die Übertragung der Mosaikkrankheit des Maniok (*Manihot utilissima* Pohl.) wurde in jeder Hinsicht untersucht, um einen endgültigen Überblick über dieses Problem zu erhalten. Die Untersuchungen erbrachten Bestätigungen und Ergänzungen zu bereits veröffentlichten Arbeiten: Die Übertragung gelingt durch Propfung und mit Hilfe der Weißen Fliege *Bemisia tabaci* Genn. (Aleyrodidae), jedoch nicht durch Samen, durch *Cuscuta* oder auf mechanischem Wege. Die Übertragung durch die Weiße Fliege erfolgt durch die verschiedenen Larvenstadien sowie durch das fertige Insekt; jedoch nicht durch das Eistadium.

L'auteur remercie vivement M. R. NANGUY ABLE, AHO KOUAKOU et F. BAILLON pour leur aide ethnique, M. VUITTENEZ et M. le professeur HIRTH pour leurs conseils scientifiques.

- ALAGIANAGALINGAM, M. N., and K. RAMAKRISHNAN, 1966: Cassava mosaic in India. *S. Indian Hort.* 14, 71—72.
- AZAB, A. K., M. M. MEGAHED, and H. D. EL MIRSAWI, 1970: On the range of host plants of *Bemisia tabaci* (Genn.) Bull. Soc. entom. Egypte LIV, 319—326.
- , —, and —, 1971: On the biology of *Bemisia tabaci* (Genn.). Bull. Soc. entom. Egypte LV, 305—315.
- BONDAR, G., 1924: O "mosaico" provocado pelo Thysanoptero *Euthrips manibotis* sp.n. *Characas e quinteas* 30, 215—218.
- BRUNT, A. A., 1963: A note on a virus disease of *Ricinodendron heudelotii* (Euphorbiaceae) in Ghana. *Trop. agric. Trin.* 40, 325—327.
- CHANT, S. R., 1957: Annual Report of the Department of Agricultural Research, Federation of Nigeria, for the year 1955—1956, 23 pp.
- , 1958: Studies on the transmission of cassava mosaic virus by *Bemisia tabaci* (Aleyrodidae). *Ann. appl. Biol.* 46, 210—215.
- , and G. S. GOTTERILL, 1958: Annual Report on the Department of Agricultural Research, Federation of Nigeria, for the year 1956—1957, 48 pp.
- CHINA, W. E., 1930: A new species of *Erythroneura* (Homoptera, Jassoidea) injurious to cassava in East Africa. *Bull. ent. Res.* 21, 267.
- COHIC, F., 1968: Contribution à l'étude des Aleurodes africains. 4ème note Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Biol. 6.
- COSTA, A. S., and E. W. KITAJIMA, 1972: Cassava common mosaic virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses* 90, 4 pp.
- DEIGHTON, F. C., 1932: Mycological work. Annual Report of the Agricultural Department, Sierra Leone, for the year 1931, 20—25.
- DUBERN, J., 1973a: Rapport de Mission. Laboratoire des Virus des Plantes, Institut de Botanique, Strasbourg, mai 1973. *Rapp. O.R.S.T.O.M. multigr.*, 16 pp.
- , 1973b: Transmission of an infectious agent related with the African cassava mosaic disease to *Capsicum annuum* and *C. frutescens*. *Abstr. Papers 2nd Intern. Congr Plant Pathology, Minneapolis, Minnesota, Sept. 5—12, 1973*, 0247.
- GIDDINGS, N. J., 1939: A small cage for insect vectors used in plant inoculations. *Phytopathology* 29, 649—650.
- GREENWAY, P. J., 1944: Cassava mosaic disease. *East Afric. agric. J.* 10, 34.
- HEDIN, L., 1931: Culture du Manioc en Côte d'Ivoire: observations complémentaires sur la mosaïque. *Rev. Bot. appl.* II, 558.
- HUTCHINSON, J. B., R. L. KNIGHT, and E. O. PEARSON, 1950: Response of cotton to leaf curl disease. *J. Genet.* 50, 100—111.
- KITAJIMA, E. W., and A. S. COSTA, 1964: Elongated particles found associated with cassava brown streak. *East Afric. agric. for. J.* 30, 28—30.
- KUFFERATH, H., et J. GHESQUIERE, 1932: La mosaïque du Manioc. *C. R. Soc. Biol. belge* 109, 1146.
- LEFEVRE, P., 1935: Quelques considérations sur la mosaïque du Manioc. *Bull. agric. Congo belge* 26, 442—447.
- MARAMOROSCH, K., 1969: Whiteflies as virus vectors. In: K. MARAMOROSCH (Ed.), *Viruses, Vectors and Vegetations*. Academic Press, New York.
- MOUND, L. A., 1963: Host-correlated variation in *Bemisia tabaci* Genn. (Homoptera, Aleyrodidae). *Proc. Roy. ent. Soc. London (A)* 38, 171—180.
- NAIR, N. G., and Y. L. NENE, 1973: Studies on the yellow mosaic of urd bean (*Phaseolus mungo* L.) caused by mung bean yellow mosaic virus. II. Virus-vector relationship. *Indian J. Farm Sci.* 1, 62—70.
- POLLARD, D. S., 1955: Feeding habits of the whitefly, *Bemisia tabaci* Genn. *Ann. appl. Biol.* XLII, 664—671.
- PRUTHI, H. S., and C. K. SAMUEL, 1937: Entomological investigations on the leaf curl disease of tobacco in North Bihar. *Indian J. agric. Sci.* VII, 659—670.
- PYNAERT, L., 1951: *Le Manioc*, 2ème éd. Publ. Dir. Agric., Bruxelles.
- RATHY, P. S., and Y. L. NENE, 1974: Sex of *Bemisia tabaci* Genn. in relation to the transmission of mung bean yellow mosaic virus. *Acta Bot. Indica* 2, 74—76.

- RUSSEL, L. M., 1957: Synonyms of *Bemisia tabaci* (Gennadius). Bull. Brooklyn ent. Soc. 52, 122—123.
- SHEFFIELD, F. M. L., and H. Y. KULKARNI, 1965: Annual Report of the East African Agriculture and Forestry Research Organization, for the year 1964, 147 pp.
- STOREY, H. H., 1930: Plant Pathology. Second Annual Report of the East African Agricultural Research Station, Amani, 1929—1930.
- , 1937: Plant Pathology. Annual Report of the East African Agricultural Research Station, Amani, 1936—1937, 17—20.
- , and R. F. W. NICHOLS, 1938: Studies on the mosaic disease of cassava. Ann. appl. Biol. 25, 790—806.
- SWENSON, K. G., 1967: Plant virus transmission by insects. In: Methods in Virology, I, 267—307. Academic Press, New York.
- VAVILOV, N. I., 1935: Theoretical bases of plant breeding. In: L. PYNAERT (1951), Le Manioc, 2ème éd. Publ. Dir. Agric., Bruxelles.
- WARBURG, O., 1894: Die Kulturpflanzen Usambaras. Mitt. dtsch. Schutzgeb. 7, 131.
- WILLIAMS, T. L., 1940: Progress made in the production of varieties of cassava resistant to mosaic disease. Pap. Third Western Afric. agric. Conf. 1938, Gold Coast Sect. I, 45—60.
- ZIMMERMANN, A., 1906: Die Kräuselkrankheit des Maniok. Pflanze 2, 145.

Adresse de l'auteur: ORSTOM, Services Scientifiques Centraux, 70—74 route d'Aulnay, 93140 Bondy (France).