

Identification de souches du virus de la mosaïque du Gombo (Okra mosaïc virus)

Louise GIVORD

Laboratoire de Virologie,
Centre O.R.S.T.O.M. d'Adiopodoumé
B.P.V. 51 Abidjan, Côte d'Ivoire

Résumé

Une maladie de type mosaïque a été observée en 1972 sur Gombo *Hibiscus esculentus* L. (syn. *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) dans des collections expérimentales à Ibadan (Nigeria) (VMG. Nig). En outre, des symptômes de mosaïque se manifestent occasionnellement sur *Hibiscus rosa-sinensis*, espèce cultivée comme plante ornementale à Adiopodoumé (Côte d'Ivoire) (VM. HR). Ces 2 maladies se révèlent provoquées par des souches du virus de la mosaïque du Gombo (Okra mosaïc virus), précédemment décrites en Côte d'Ivoire (Givord et Hirth, 1973) (VMG. CI). La symptomatologie, les plantes-hôtes, la stabilité du pouvoir infectieux et les propriétés sérologiques des 3 souches sont comparées. Elles sont fortement apparentées mais se distinguent grâce à quelques plantes-hôtes caractéristiques et à leurs propriétés immunologiques. L'analyse des anticorps des différents sérums révèle la composition suivante : une fraction d'anticorps commune aux sérums des 3 souches ; une fraction d'anticorps réagissant avec les souches VMG. Nig et VMG. CI ; une fraction d'anticorps commune aux sérums anti-VMG. CI et anti-VM. HR ; enfin, une fraction d'anticorps propre au VMG. Nig.

Introduction

En décembre 1972, à l'occasion d'une mission, une mosaïque a été observée par nous sur le Gombo (*Hibiscus esculentus*) dans les parcelles expérimentales de l'International Institute for Tropical Agriculture (I.I.T.A.) à Ibadan (Nigeria). Les symptômes ressemblaient fortement à ceux qui sont provoqués en Côte d'Ivoire par le Virus de la Mosaïque du Gombo (VMG.CI) (Givord et al., 1972).

La recherche de plantes « réservoirs » du VMG en Côte d'Ivoire a mis en évidence une mosaïque sur *Hibiscus rosa-sinensis*, plante ornementale de la Station de Recherche d'Adiopodoumé.

Le présent article démontre que les maladies observées sur *H. esculentus* au Nigeria (VMG.Nig) et *H. rosa-sinensis* en Côte d'Ivoire (VM.HR) sont provoqués par 2 souches du virus de la Mosaïque du Gombo (VMG.CI).

15 NOV. 1977

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° B 8880 P. Z. A.

Matériel et méthodes

L'inoculum initial du VMG.Nig était constitué de feuilles fraîches de *H. esculentus* infectées, prélevées dans les champs de l'I.I.T.A. à Ibadan (Nigeria). Ces feuilles ont été broyées en présence de tampon phosphate de sodium 0,01M, pH 7,0 (1 gramme de tissu pour 1 millilitre de tampon) et l'extrait brut ainsi réalisé a été inoculé mécaniquement en présence de célite à *H. esculentus* L. var. « Clemson spineless ». L'inoculum initial du VM.HR a été prélevé sur *H. rosa-sinensis* dans les haies des jardins d'Adiopodoumé (Côte d'Ivoire). Les feuilles présentant les symptômes ont été broyées dans les mêmes conditions que pour l'inoculum du Nigeria. La multiplication des 3 souches est réalisée sur des lots de Gombo identiques (var. Clemson Spineless), placés dans les mêmes conditions de croissance. Les Gombos ou autres plantes tests sont toujours inoculés mécaniquement avec un broyat de feuilles de Gombos virosées, préparé de la même manière que pour l'inoculum initial. Toutes les plantes sont cultivées en serre, à l'abri des insectes, soumises aux conditions climatiques naturelles (température 28 °C, humidité 80 p. 100), et traitées par pulvérisation d'insecticides de contact et systémique, chaque semaine.

Ces inoculations ont permis de comparer les propriétés suivantes :

- Le point d'inactivation thermique en chauffant 2 millilitres de l'extrait brut pendant 10 minutes à différentes températures (de 62 à 82 °C).
- La survie du pouvoir pathogène par conservation des échantillons à température ambiante (24 °C) pendant plusieurs jours.
- Le point de dilution limite du pouvoir infectieux en inoculant l'extrait brut dilué 10^{-1} à 10^{-8} fois.

Les 3 souches de virus sont purifiées par la méthode décrite à propos de VMG.CI (Givord et Hirth, 1973). Dans cette méthode, le broyage des feuilles de Gombo virosées est fait en présence de tampon phosphate de Sodium 0,01M, pH 7,0, additionné de bisulfite de Sodium et de bentonite. Après émulsion au n-butanol de l'extrait brut clarifié, on procède à 3 cycles de centrifugation différentielle. La date de récolte des feuilles varie de 10 à 30 jours après inoculation. Pour évaluer la teneur en virions des suspensions purifiées, nous utilisons la correspondance entre l'évaluation de la DO des suspensions à la longueur d'onde de 260 nanomètres (Takahashi, 1951) et la concentration du virus ; le coefficient d'extinction moléculaire de 9 (Bouley dans Givord et Koenig, 1974) est utilisé pour les 3 souches.

En vue de leur observation en microscopie électronique, les grilles sont préparées par coloration négative à l'acétate d'uranyle et observées avec un microscope électronique Siemens Elmiskop 101.

Dans le but d'obtenir des sérums spécifiques, les lapins reçoivent, pendant 6 à 7 semaines, une injection intramusculaire hebdomadaire de virus purifié, additionné d'adjuvant de Freund. Afin de contrôler la production d'anticorps, un prélèvement de sang est effectué avant chaque nouvelle injection ; ainsi, 5 à 6 prélèvements de sang ont été faits sur chaque lapin ; 33 sérums ont donc été éprouvés (2 lapins par souche). Tous les sérums obtenus sont conservés par addition de 50 p. 100 de glycérol, ou d'une goutte de chloroforme par millilitre et entreposés à 4 °C.

Nous avons utilisé la double diffusion en milieu gélosé pour les épreuves sérologiques, qui sont réalisées en boîtes de Petri : 0,5 p. 100 ou 0,85 p. 100 de Bacto-Agar Difco, addi-

tionné de 0,01 p. 100 d'azide de Sodium et de 0,9 p. 100 de chlorure de Sodium, réservoirs de diamètre 4 millimètres distants bord à bord de 4 millimètres, incubation à 30 °C. Pour déterminer les titres des sérums, les réservoirs sont disposés en lignes parallèles : une rangée centrale contenant le sérum à diverses dilutions (1 à 1/4096) est bordée de réservoirs contenant d'un côté l'antigène homologue, de l'autre un des antigènes hétérologues. L'expérience est faite avec 2 dilutions d'antigène : 1 milligramme par millilitre et 0,1 milligramme par millilitre. En vue de déterminer l'apparement des souches, le test d'immunodiffusion double, selon la méthode d'Ouchterlony, et celui de l'absorption croisée en gel (Van Regenmortel, 1966) sont utilisés. Dans ces expériences les 8 trous périphériques contenant les antigènes ont un diamètre de 4 millimètres, et le trou central destiné au sérum a un diamètre de 8 millimètres ; ils sont distants bord à bord de 4 millimètres. La concentration des antigènes est de 0,1 milligramme par millilitre. Dans les expériences d'absorption croisée, le virus est utilisé à la concentration de 0,1 milligramme par millilitre, pour épuiser le sérum ; le virus est alors déposé 2 fois à plusieurs heures d'intervalle dans le trou central ; après 12 heures, ce réservoir central est rempli par l'antisérum ; puis, les antigènes sont répartis dans les réservoirs périphériques. Après incubation de 2 jours à 30 °C, les boîtes sont placées en champ noir pour observation et photographie des arcs de précipités. Les figures de précipitations observées avec les sérums entiers ou partiellement épuisés par des antigènes hétérologues, sont interprétées par des diagrammes donnant la composition hypothétique des éléments du complexe virus + anticorps des arcs de précipités (Vuittenez et al., 1974).

Résultats

I. — Symptomatologie

La mosaïque produite sur le Gombo par VMG.Nig (fig. 1C) est du même type que celle observée en Côte d'Ivoire, mais elle est de couleur jaune au lieu d'être de couleur vert pâle. Les bandes jaunes bordant les nervures principales ont tendance à s'élargir rapidement, jusqu'à ne plus laisser que quelques petites taches vertes sur le limbe, qui apparaît alors presque entièrement jaune pâle. La chlorose des nervures et les taches chlorotiques diffuses, qui sont les premiers symptômes apparus sur les feuilles primaires après inoculation des cotylédons, sont plus nettes que dans le cas du VMG.CI.

La mosaïque produite par VM.HR sur *H. rosa-sinensis* est plus discrète et se manifeste seulement sur 2 ou 3 feuilles consécutives sans influencer la croissance de l'arbuste ornemental. Cette maladie se développe apparemment mieux sur le Gombo. En effet, la première transmission faite à partir de *H. rosa-sinensis* vers le Gombo, donna un pourcentage de 30 p. 100 de plantes malades. Celles-ci fournirent un inoculum qui infecta 80 p. 100 des gombos inoculés. Par la suite, la multiplication du virus a toujours été faite sur le Gombo avec autant de facilité que pour les 2 autres souches. Au contraire du VMG.Nig, les symptômes produits sur le Gombo par VM.HR (fig. 1A), sont de même type que ceux produits par VMG.CI (fig. 1B), mais ils sont beaucoup moins violents et s'atténuent avec le temps. Trois semaines après inoculation, ils ont pratiquement disparu et les plantes infectées ont une taille supérieure à celles inoculées par les 2 autres souches où persistent encore les symptômes.

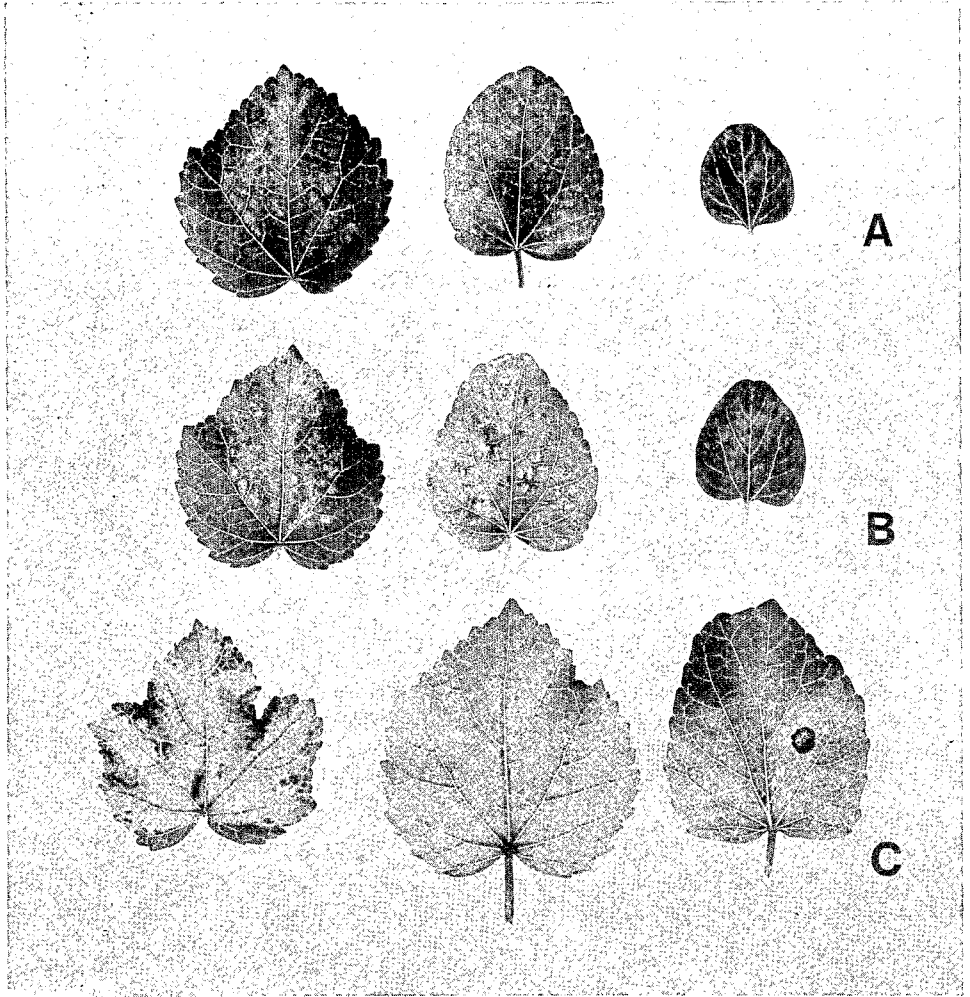


FIG. 1. — *Symptômes sur Gombo.*
Symptoms developed on Okra.

- A. *Feuilles de Gombo inoculées par VM.HR.*
Okra leaves infected with VM.HR isolate.
- B. *Feuilles de Gombo inoculées par VMG.Cl.*
Okra leaves infected with VMG.Cl isolate.
- C. *Feuilles de Gombo inoculées par VMG.Nig.*
Okra leaves infected with VMG.Nig isolate.

TABLEAU 1

Comparaison des réponses de 24 espèces de plantes
à l'inoculation par le VM.HR, le VMG.CI et le VMG.Nig

Comparison of 24 species of plant reactions to the inoculation
with VM. HR isolate, VMG. CI isolate and VMG. Nig isolate

Famille et nom des Plantes	VM.HR			VMG.CI			VMG.Nig		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Amaranthacées									
<i>Gomphrena globosa</i>	—			S					—
Apocynacées									
<i>Vinca rosea</i>	—		0/30	S	11	5/30			0/30
Chénopodiacées									
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	—			S	19				—
<i>Chenopodium quinoa</i>	S			S	12				S
Composées									
<i>Zinnia elegans</i> var. à « fleurs de Dahlia »....	—			—					—
Crucifères									
<i>Brassica chinensis</i> var. « Petsai ».....	—			—					—
Cucurbitacées									
<i>Cucumis sativus</i> var. « blanc très gros de Bon-neuil »	S	13	8/30	LS	7,9	13/13	S	8	30/30
<i>C. sativus</i> var. « le Généreux ».....	—		0/20	S	8	7/21	S	10	9/20
<i>C. sativus</i> var. « vert long maraîcher ».....	—		0/20	S	8	21/21	S	11	10/10
Légumineuses									
<i>Arachis hypogaea</i> var. « tardive ».....	S	8	6/10	S	4	32/36	S	8	8/10
<i>A. hypogaea</i> var. « précoce ».....	S	35	2/10	S	6	9/9	S	8	7/10
<i>Pisum sativum</i> var. « Alaska ».....	—		0/33	S			S	16	3/31
<i>P. sativum</i> var. « Onward ».....	—			—			S		
<i>Phaseolus vulgaris</i> var. « Prince ».....	—		0/18	—		0/18	S	27	3/18
<i>Vigna sinensis</i> var. « Blackeye ».....	S			S	16	10/30	S	8	35/42
Malvacées									
<i>Gossypium barbadense</i>	S	20	2/16	S			S	9	23/23
<i>Hibiscus esculentus</i>	S	6	45/50	LS	5	59/59	LS	5	58/58
Solanacées									
<i>Datura stramonium</i>	—		0/21	—		0/20	—		0/21
<i>Nicotiana clevelandii</i>	S	17	11/12	SL	6,10	10/10	SL		6/7
<i>N. glutinosa</i>	L		4/10	—		0/12	L	6	5/12
<i>N. tabacum</i> var. « Samsun ».....	—		0/12	—		0/12	L	5	5/12
Sterculiacées									
<i>Theobroma cacao</i>	S	21	5/14	LS	10	10/12	LS	13,16	10/14
Tiliacées									
<i>Corchorus olitorius</i>	S	5	11/17	S	5	21/21	S		10/18

1 = Symptôme local (L) symptômes systémiques (S), pas de symptômes (—).

1 = local symptoms (L), systemic symptoms (S), no symptom (—).

2 = Temps d'apparition des premiers symptômes après inoculation (en jours).

2 = date of the first symptoms appearance after inoculation (in days).

3 = Nombre de plantes malades sur nombre de plantes inoculées.

3 = number of infected plants above number of inoculated plants.

L'inoculation du VM.HR préparé à partir du Gombo, sur *H. rosa-sinensis*, provoque sur cette plante l'apparition de symptômes identiques aux manifestations spontanées (Pl. 1, fig. 1 et 2).

De même que sur le Gombo, les symptômes produits sur Arachide ne se distinguent que par leur intensité (Pl. II).

II. — Hôtes caractéristiques

Le tableau 1 présente une liste de 23 espèces de plantes appartenant à 11 familles (Amaranthacées, Apocynacées, Chenopodiacées, Crucifères, Cucurbitacées, Légumineuses, Malvacées, Tiliacées, Solanacées, Sterculiacées, Composées), qui ont été inoculées comparativement par les 3 souches. Dans chaque cas, le temps d'apparition des symptômes, le nombre de plantes malades, la localisation des symptômes ont été notés.

Les 3 souches se différencient aisément par leur aptitude à infecter 5 espèces de plantes (tabl. 2).

TABLEAU 2

Réponse de 5 espèces de plantes à l'inoculation par les 3 souches
(S = symptômes systémiques ; LL = lésions locales ; O = pas d'infection)

Reaction of 5 species of plants to the inoculation with the 3 isolates
(S = systemic symptoms ; LL = local lesion ; O = not infected)

	VMG.CI	VM.HR	VMG.Nig
<i>Vinca rosea</i>	S	O	O
<i>Phaseolus vulgaris</i> var. « Prince ».....	O	O	S
<i>Nicotiana tabacum</i> var. « Samsun ».....	O	O	LL
<i>Nicotiana glutinosa</i>	O	LL	LL
<i>Cucumis sativus</i> var. « vert long maraîcher ».....	S	O	S

III. — Stabilité du pouvoir infectieux

— Point d'inactivation thermique : les résultats sont variables mais on observe toujours une stabilité et une température d'inactivation un peu plus élevées pour VMG.Nig que pour les 2 autres souches (tabl. 3).

TABLEAU 3

Températures d'inactivation thermique en °C
Thermal inactivation point (in Centigrad degrees)

N° Exp.	Durée de l'infection	VM.HR	VMG.CI	VMG.Nig
1	14 jours	76	76	76
2	15 jours	74	76	80
3	17 jours	78	80	82

— Survie à température ambiante : les résultats ne permettent pas de distinguer nettement les 3 souches (tabl. 4).

TABLEAU 4

Durée de survie à 24 °C (en jours)

Ageing in vitro at 24 °C (in days)

N° Exp	Durée de l'infection	VM.HR	VMG.CI	VMG.Nig
1	10 jours	14	14	15
2	12 jours	16	16	16
3	22 jours	12	10	20

— Point de dilution limite : dans une expérience seulement le point de dilution limite distingue le VMG.Nig des 2 autres souches (tabl. 5).

TABLEAU 5

Points de dilution limite

Dilution end point

N° Exp.	Temps de multiplication du virus	VM.HR		VMG.CI		VMG.Nig	
		Plantes malades/ Plantes saines	Dilution limite	Plantes malades/ Plantes saines	Dilution limite	Plantes malades/ Plantes saines	Dilution limite
1	13 jours	1/6	10 ⁻⁵	3/6	10 ⁻⁵	5/6	10 ⁻⁵
2	15 jours	3/6	10 ⁻⁵	3/6	10 ⁻⁶	1/6	10 ⁻⁷
3	40 jours	1/6	10 ⁻⁴	1/6	10 ⁻⁴	1/6	10 ⁻⁵

IV. — Purification et microscopie électronique

Le rendement des purifications du VMG.CI et VMG.Nig varie entre 400 et 1 200 milligrammes de virus par kilogramme de feuilles, celui de VM.HR est toujours plus faible et oscille entre 200 et 700 milligrammes de virus par kilogramme de feuilles.

L'observation en microscopie électronique des suspensions purifiées des souches VMG.Nig et VM.HR révèle des particules isométriques de diamètre 28 nanomètres parfaitement semblables à celles du VMG.CI.

V. — Etude immunologique

A. — Titre des sérums.

Les immunsérums obtenus à partir des suspensions purifiées sont rigoureusement spécifiques (pas de réactions vis-à-vis des protéines normales). Leur titre atteint 1/1024 entre 28 et 40 jours après la 1^{re} injection ; au cours du processus d'immunisation, les titres des sérums préparés contre les 3 souches évoluent approximativement de la même

manière. Pour chaque souche, un lapin sur deux donne un sérum de titre 1/2048. Il semble donc que les 3 souches aient une activité immunogénique de même force.

Pour chaque sérum, la réaction avec les autres antigènes hétérologues a été réalisée et comparée à la réaction de l'antigène homologue. Pour la plupart des sérums, aucune différence significative n'a été constatée entre le titre homologue et le titre hétérologue. Cependant, dans le cas des sérums donnés par un lapin immunisé contre le VMG.Nig, on observe, au début du processus d'immunisation, premièrement, que le titre homologue est plus élevé que le titre hétérologue, deuxièmement, que les titres homologues et hétérologues augmentent à la même vitesse, ce qui est en accord avec nos observations antérieures (Koenig et Givord, 1974). Le tableau 6 présente le détail de ces réactions.

TABLEAU 6

Evolution des titres homologues et hétérologues des sérums obtenus par des prises de sang successives au cours de l'immunisation d'un lapin par la souche VMG.Nig

Development of the homologous and heterologous titers of the sera obtained by successive taking of blood during the immunization process of one rabbit against VMG. Nig isolate

Immuno-sérums anti-VMG.Nig	Antigènes		
	VMG.Nig	VM.HR	VMG.CI
189-1	1/128	1/32	1/64
189-2	1/256	1/64	1/256
189-3	1/512	1/128	1/256
189-4	1/512	1/256	1/256
189-5	1/102 4	1/102 4	1/102 4
189-6	1/102 4	1/102 4	1/102 4

B. Etude de la composition en anticorps des sérums.

On utilise, à cet effet, l'étude du raccordement des arcs de précipités des différents antigènes disposés autour de chaque sérum. Une analyse encore plus précise est faite grâce à la méthode de l'absorption croisée des sérums.

Nous décrivons en détail les réactions obtenues avec un des sérums anti-VMG.Nig : la planche III présente les figures des réactions obtenues avec le sérum n° 189-2 ; quand le sérum est entier, il réagit fortement à VMG.Nig, un peu moins à VMG.CI et VM.HR ; des éperons très nets apparaissent entre VMG.Nig et VMG.CI ou VM.HR, et sont plus discrets entre VM.HR et VMG.CI (fig. A) ; quand le sérum est épuisé par VMG.CI, il réagit encore nettement à VMG.Nig, mais ne réagit plus à VM.HR (fig. B) ; quand il est épuisé par VM.HR, il réagit nettement à VMG.Nig et faiblement à VMG.CI (fig. C) ; et évidemment, quand il est épuisé par VMG.Nig, il ne réagit plus à aucune souche (fig. D). Les schémas d'interprétation de ces réactions sont présentés en face des figures sur la planche III. Il ressort de cette expérience que le sérum anti-VMG.Nig n° 189-2 possède 3 groupes d'anticorps : n° 1 réagissant avec VMG.Nig, n° 2 réagissant avec les 3 souches et n° 3 réagissant avec VMG.Nig et VMG.CI. La planche IV montre les résultats obtenus dans ce type d'expérience avec un sérum anti-VM.HR. Dans le cas des sérums anti-VMG.CI, les résultats sont identiques à ceux obtenus dans le cas des sérums anti-VM.HR, aussi ne les avons-nous pas

TABLEAU 7

Répartition des groupes d'anticorps de plusieurs sérums préparés contre les 3 souches
(Nig = VMG.Nig ; CI = VMG.CI ; HR = VM.HR)

Categories of antibodies of several serums against the 3 isolates
(Nig = VMG.Nig ; CI = VMG.CI ; HR = VM.HR)

	Fractions d'anticorps			
	réagissant avec Nig	réagissant avec Nig, CI et HR	réagissant avec Nig et CI	réagissant avec CI et HR
Sérums anti-VMG.Nig				
189-2	1	2	3	
189-5	1	2		
189-6		2		
171-3	1	2		
171-4	1	2		
171-5	1	2		
Sérums anti-VMG.CI				
164-5		2		
172-4		2		4
Sérums anti-VM.HR				
173-5		2		4
173-6		2		4
167-4		2		
167-5		2		4

détaillés. Ces mêmes expériences répétées pour plusieurs sérums ont permis d'analyser les rapports de chacun mais d'autres expériences sont encore nécessaires pour analyser de façon plus complète les figures de réactions observées avec les divers sérums. Les résultats de notre interprétation actuelle sont figurés au tableau 7.

Discussion et conclusion

L'étude entreprise montre que les souches que nous avons obtenues à partir de Gombo et d'*Hibiscus rosa-sinensis*, bien qu'appartenant au type viral de la Mosaïque du Gombo (Okra Mosaic Virus), sont proches par la plupart de leurs propriétés, mais peuvent néanmoins être différenciées sérologiquement.

Notre souche de Gombo du Nigeria (VMG.Nig) appartient à un sérotype nettement différent de ceux du Gombo et d'*Hibiscus rosa-sinensis* de Côte d'Ivoire.

Ces dernières souches (VMG.CI et VM.HR) sont plus proches l'une de l'autre que VMG.Nig, mais les résultats enregistrés avec l'un des antisérums montrent que VMG.CI et VM.HR doivent pouvoir se différencier eux aussi, l'un de l'autre, sérologiquement.

Parmi les autres propriétés étudiées, la stabilité du pouvoir pathogène dans les extraits de plantes malades ne permet pas de distinguer valablement les souches. La symptomatologie sur les espèces sensibles aux 3 souches, qualitativement très semblable, ne montre

PLANCHE I

FIG. 1 et 2. — Feuilles de *Hibiscus rosa-sinensis* montrant les symptômes provoqués par le VM.HR (inoculation mécanique).

Systemically infected Hibiscus rosa-sinensis leaves with VM.HR isolate (mechanical inoculation).

FIG. 3. — Symptômes provoqués par VMG.Cl sur feuilles de *Vinca rosea*.

Systemically infected Vinca rosea leaves with VMG.Cl isolate.

FIG. 4. — Lésions locales chlorotiques sur feuilles de *Nicotiana tabacum* var. « Samsun », inoculée par VMG.Nig.

Chlorotic local lesions on Nicotiana tabacum var. « Samsun », when inoculated with VMG.Nig isolate.

PLANCHE I

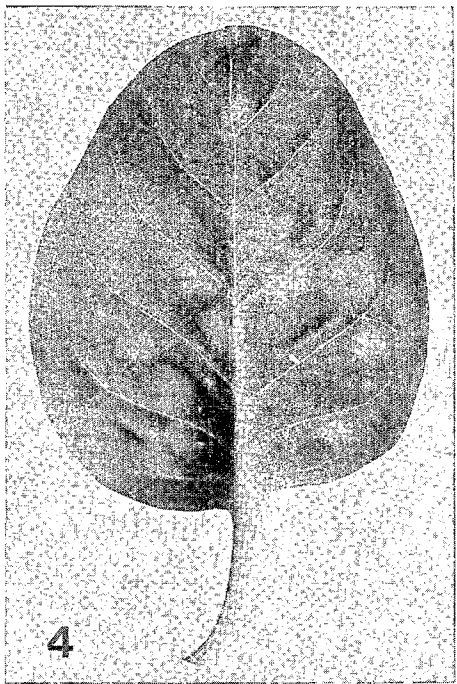
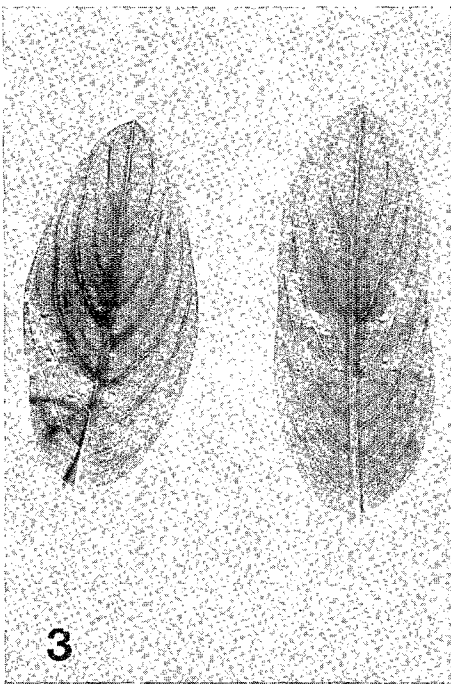
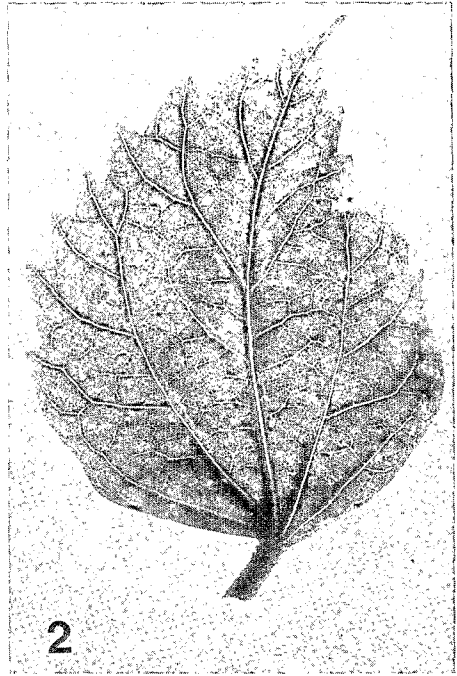
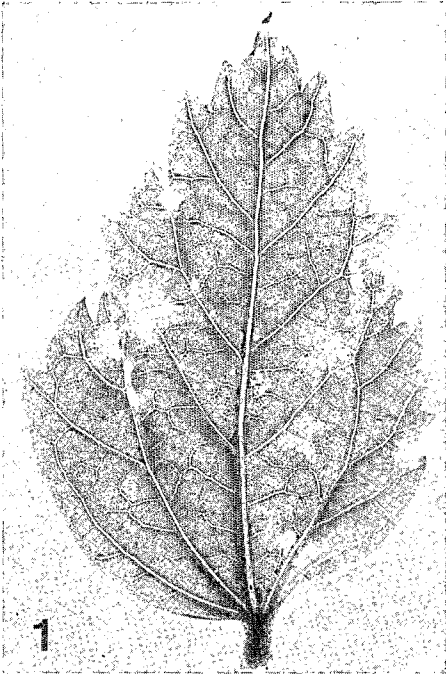


PLANCHE II

FIG. 1. — *Divers symptômes obtenus sur feuille d'Arachide « tardive » par inoculation du VM.HR.*
Symptoms developed on groundnut « tardive » inoculated with VM.HR isolate.

FIG. 2. — *Diversité des symptômes provoqués par VMG.CI sur Arachide « tardive ».*
Symptoms developed on groundnut « tardive » inoculated with VMG.CI isolate.

FIG. 3. — *Les symptômes obtenus sur Arachide « tardive » inoculée par VMG.Nig.*
Symptoms developed on groundnut « tardive » inoculated with VMG.Nig isolate.

PLANCHE II

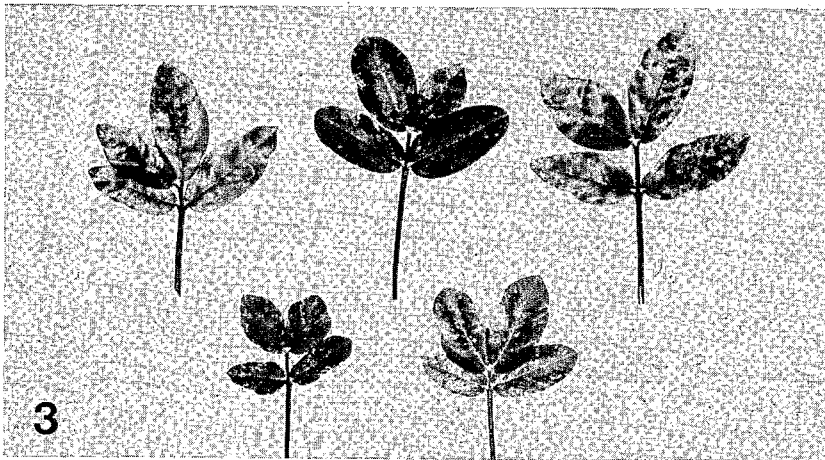
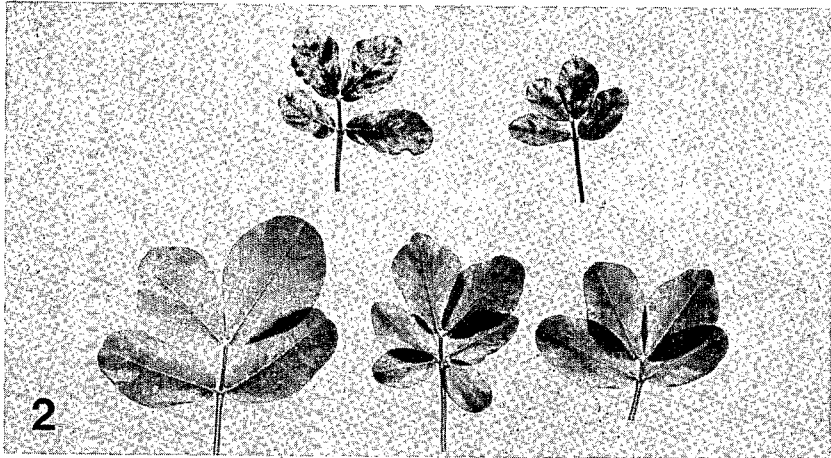
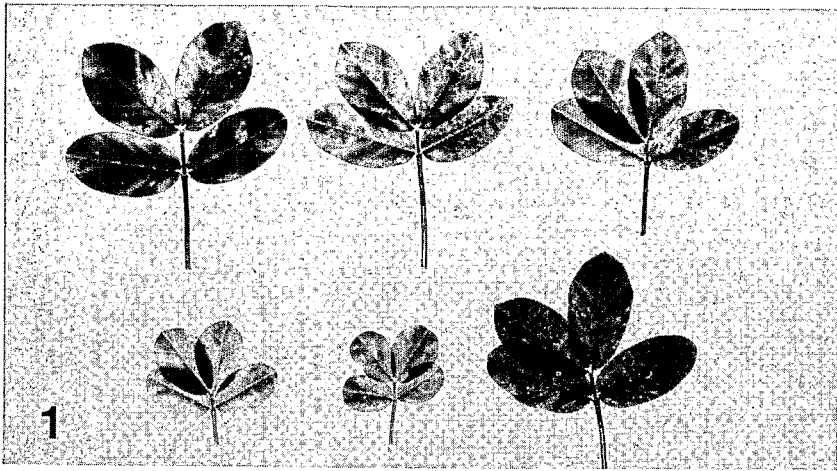



PLANCHE (légendes des planches III et IV)

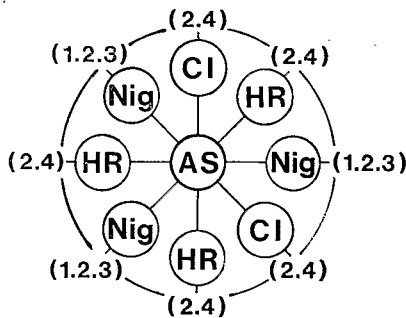
Essai d'interprétation d'expériences d'absorption partielle des anticorps des sérums anti-VMG.Nig (189.2) Pl. III et anti-VM.HR (173.6) Pl. IV par les antigènes hétérologues.

Interpretation of intragel cross-absorption tests : serum against VMG.Nig (189.2) (Pl. III), serum against VM.HR (173.6) (Pl. IV), absorbed by the heterologous antigens.

A. Représentation schématique des précipités sérologiques.

Schematic representation of the serological precipitate.

Fractions d'anticorps dans le précipité	
Categories of antibodies	
—————	1 = propre au sérum anti-VMG.Nig (reacting only with VMG.Nig isolate).
.....	2 = réagissant avec les 3 souches (reacting with the 3 isolates).
-----	3 = réagissant avec les souches VMG.Nig et VMG.CI (reacting with VMG.Nig and VMG.CI isolates).
-.-.-.-.	4 = réagissant avec les souches VMG.CI et VM.HR (reacting with VMG.CI and VM.HR isolates).
	Portion de gélose ne contenant plus d'anticorps (Part of gel without any antibody).



B. Disposition des réactifs dans les réservoirs.

Place of the antigens in the wells.

Entre parenthèses, sites antigéniques supposés des différentes souches réagissant avec les fractions correspondantes d'anticorps 1.2.3.4. du sérum.

In parentheses, supposed antigenic determinants of the 3 isolates reacting with the corresponding categories of antibodies 1.2.3.4. of the serum.

Réservoirs centraux — immuno-sérums (Central wells — serums).

A-A' — sérum non épuisé (untreated serum).

B-B' — sérum épuisé par VMG.CI (serum absorbed with VMG.CI antigen).

C-C' — sérum épuisé par VM.HR (serum absorbed with VM.HR antigen).

D-D' — sérum épuisé par VMG.Nig (serum absorbed with VMG.Nig antigen).

Réservoirs périphériques-antigènes (suspension de virus purifiés) (Surrounding wells-antigens (purified virus)).

CI : VMG.CI (Mosaïque du Gombo de Côte d'Ivoire) (VMG.CI (okra mosaic - Ivory coast isolate)).

Nig : VMG.Nig (Mosaïque du Gombo du Nigéria) (VMG.Nig (okra mosaic - Nigeria isolate)).

HR : VM.HR (Mosaïque de *Hibiscus rosa-sinensis*) (VM.HR (*Hibiscus rosa-sinensis* mosaic isolate)).

PLANCHE III

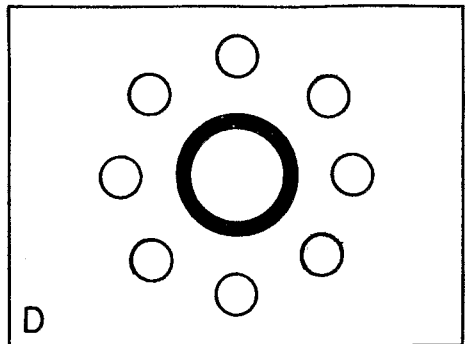
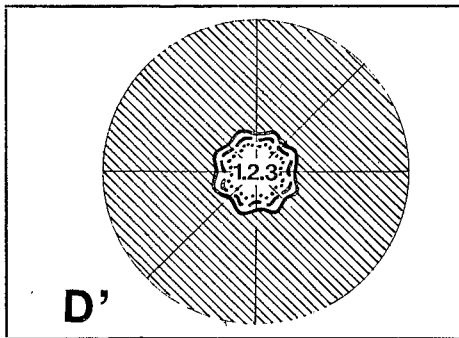
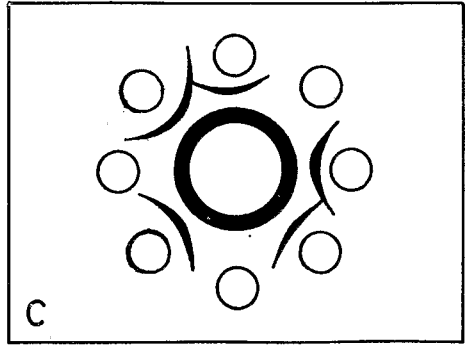
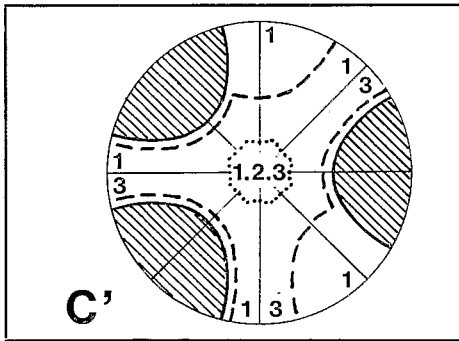
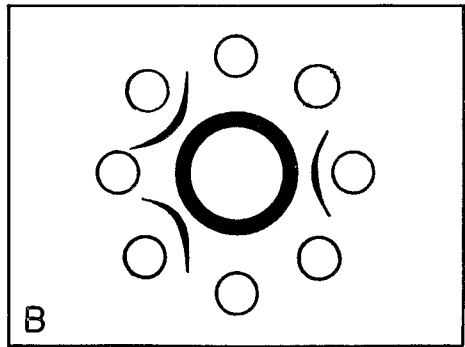
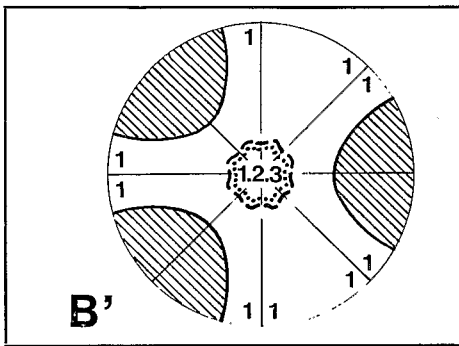
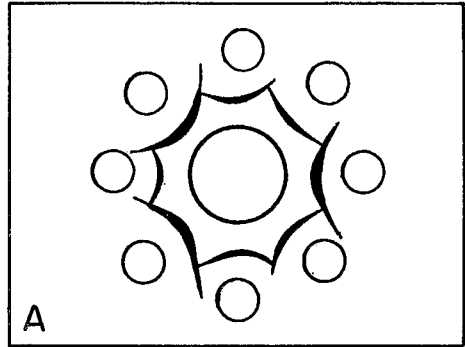
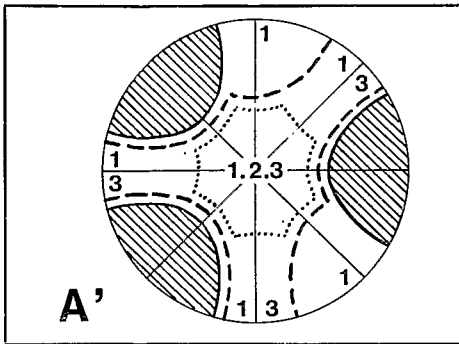
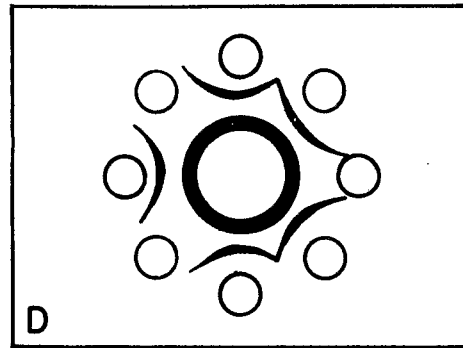
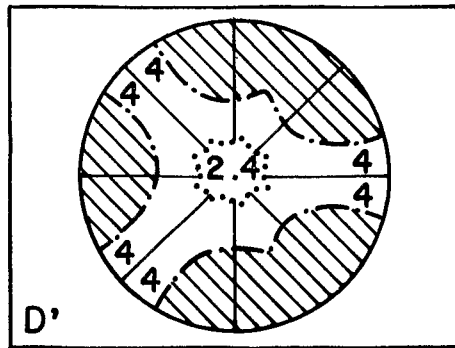
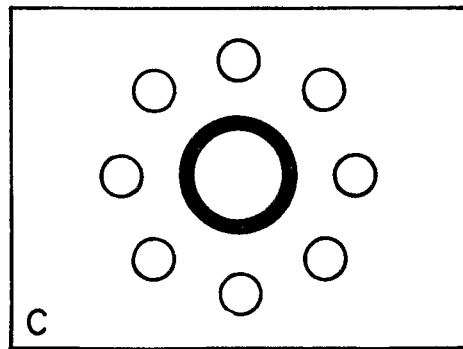
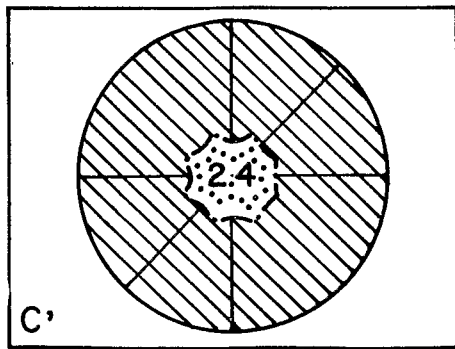
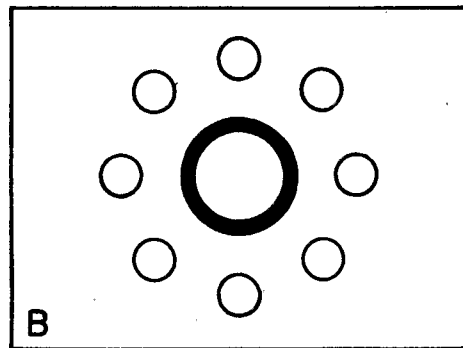
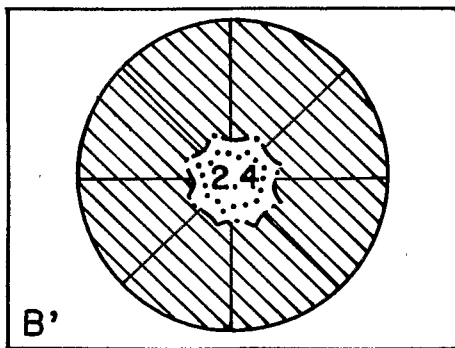
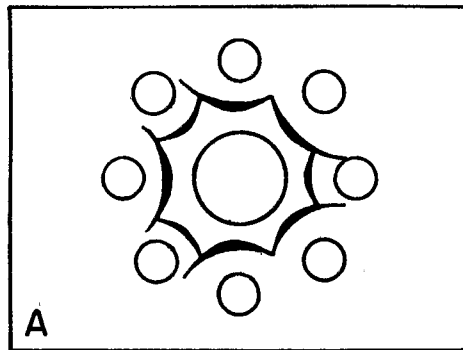
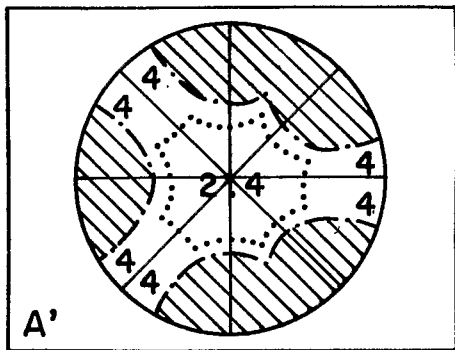


PLANCHE IV



qu'une différence d'intensité, et n'est pas non plus un critère à retenir pour l'identification des souches. Le spectre des plantes-hôtes révélerait mieux les différences, car les espèces sensibles à VM.HR sont moins nombreuses que celles sensibles aux 2 autres souches ; 5 plantes caractéristiques peuvent être retenues comme hôtes différentiels :

Vinca rosea, *Phaseolus vulgaris* var. « Prince », *Nicotiana tabacum* var. « Samsun », *Nicotiana glutinosa* et *Cucumis sativus* (Givord et Koenig, 1974).

Pour conclure, si l'on considère le seul critère des plantes-hôtes, le VMG.Nig et le VMG.CI se ressemblent davantage entre eux qu'ils ne ressemblent au VM.HR. Mais si l'on s'adresse au critère de l'étude immunologique, le VM.HR et le VMG.CI sont plus proches l'un de l'autre et se distinguent nettement du VMG.Nig.

Depuis le début de nos travaux, une mosaïque a été signalée sur le Gombo au Nigeria (Lana et al., 1974), (Lana et Bozarth, 1975). Ces auteurs décrivent les symptômes et la transmission de cette maladie, très semblable à celle provoquée en Côte d'Ivoire par le VMG.CI. Cependant, la stabilité du pouvoir infectieux dans l'extrait brut est étudiée dans des conditions incomplètement décrites ou différentes des nôtres (conservation à 4 °C au lieu de 24 °C), rendant la comparaison impossible avec nos souches. Il serait donc intéressant de poursuivre une étude commune, notamment au point de vue sérologique.

Reçu pour publication en novembre 1976.

Remerciements

Nous tenons à remercier très vivement M. P. Pfeiffer pour ses observations en Microscopie électronique, ainsi que M. le Professeur Hirth et M. A. Vuittenez pour leurs conseils lors de la rédaction de ce manuscrit.

Nous exprimons notre gratitude à M. Aho Kouakou pour son aide technique.

Summary

Comparison of isolates of okra mosaic virus

Symptoms of mosaic and vein banding were observed on leaves of okra, *Hibiscus esculentus*, L. (Syn. : *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) in Nigeria (VMG.Nig isolate). Now and then, mosaic appears on *Hibiscus rosa-sinensis*, L. at the Adiopodoumé Station in Ivory Coast (VM.HR isolate). The causal agents of both diseases are strains of okra mosaic virus (VMG.CI) initially described in Ivory Coast (GIVORD and HIRTH, 1973). According to their symptomatology, host range, stability in sap and antigenic properties, these three isolates are strongly related, but can be distinguished by five diagnostic species and by their serological properties. The qualitative analysis of several antisera shows the existence of four antibody categories : all the sera possess antibodies (2) which react with the three strains ; antibodies (4) found in antisera prepared against the VMG.CI and VM.HR isolates, only react with these two isolates ; and antisera prepared against the VMG.Nig isolate contain antibodies (3) reacting with VMG.Nig and VMG.CI isolates, and antibodies (1), rigorously specific to the homologous VMG.Nig strain.

Références bibliographiques

- GIVORD Louise, PFEIFFER P., HIRTH L., 1972. Un nouveau virus du groupe de la Mosaïque Jaune du Navet : le virus de la Mosaïque du Gombo. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sér. D*, **275**, 1563-1566.
GIVORD Louise, HIRTH L., 1973. Identification, purification and some properties of a mosaic virus of okra (*Hibiscus esculentus*). *Ann. appl. Biol.*, **74**, 359-370.

- GIVORD Louise, KOENIG R., 1974. Okra mosaic virus. C.M.I. A.A.B. *Descr. Plant Virus.*, n° 128.
- KOENIG R., GIVORD Louise, 1974. Serological Interrelationships in the Turnip Yellow Mosaic Virus Group. *Virology*, **58**, 119-125.
- LANA A. O., GILMER R. M., GHEDA H. D., FATOKUN D. O., 1974. A virus-induced mosaic of okra (*Hibiscus esculentus*) in Nigeria. *Plant Dis. Rep.*, **58**, 616-619.
- LANA A. O., BOZARTH R. F., 1975. Studies on a virus-induced mosaic disease of *Abelmoschus esculentus* in Nigeria. *Phytopathol. Z.*, **83**, 77-86.
- REGENMORTEL (Van) M.H.V., 1966. Plant virus serology. *Adv. Virus Res.*, **12**, 207-271.
- TAKAHASHI W. N., 1951. Ultraviolet absorption as a measure of TMV nucleoprotein. *Phytopathology*, **41**, 142-145.
- VUITTENEZ A., KUSZALA J., RUDEL M., BRUCKBAUER H., 1970. Détection et étude sérologique du virus latent des taches annulaires du Fraisier, du virus des anneaux noirs de la Tomate et du virus des taches annulaires du Framboisier chez des vignes du Palatinat. *Ann. Phytopathol.*, **2** (2), 279-327.