

MOSAÏQUE DU BANANIER

IDENTIFICATION ET PURIFICATION DE DIVERSES SOUCHES DU VIRUS

par **Danielle YOT-DAUTHY** et **J.-M. BOVÉ**

Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer (I. F. A. C.)

Service de Biochimie I. F. A. C.

*Station centrale de physiologie végétale, C. N. R. A., 78-Versailles
et I. F. A. C., Station de Neufchâteau (Guadeloupe).*

MOSAÏQUE DU BANANIER :

IDENTIFICATION ET PURIFICATION
DE DIVERSES SOUCHES DU VIRUS

par Danielle YOT-DAUTHY et J.-M. Bové (I. F. A. C.).

Fruits, vol. 21, n° 9, octobre 1966, p. 449 à 466.

RÉSUMÉ. — La transmission mécanique du virus de la mosaïque du Bananier à diverses plantes herbacées a permis de mettre en évidence différentes souches de ce virus. Ces résultats, ainsi que ceux des études de microscopie électronique, d'ultracentrifugation et de sérologie, montrent que ces souches sont des souches du virus 1 de la mosaïque du concombre.

I. INTRODUCTION

Depuis de nombreuses années, la « mosaïque du bananier » a été signalée dans les régions tropicales et subtropicales. La nature virale de cette affection a été mise en évidence par différents chercheurs.

Au cours des dernières années, le problème de la mosaïque a repris de l'importance. Dans certaines bananeraies, notamment en Côte d'Ivoire, on a signalé plus de 30 % de plants atteints. Dans les Antilles françaises, il semble que, suivant les années, il y ait également un fort pourcentage de plants mosaïqués et, dans certains cas, de jeunes plantations, entièrement atteintes, ont dû être arrachées.

Il paraissait donc intéressant d'entreprendre des recherches ayant pour but une connaissance plus approfondie de cette affection et, en tout premier lieu, de son agent causal.

Nous nous proposons d'exposer, dans cette communication, les résultats obtenus.

II. HISTORIQUE

La mosaïque du bananier n'est pas une maladie d'apparition récente. Dès 1930, en Australie, MAGEE (18) avait noté l'apparition de quelques foyers d'une nouvelle virose. WELLMAN réalisa en 1934 (40) la transmission d'un virus de *Commelina nudiflora*, le virus I du céleri, à *Musa sapientium*, var. Lady finger et à *Musa Cavendishii*, par l'intermédiaire du puceron du cotonnier : *Aphis gossypii*. Ce même auteur avait mis en évidence (41) que le virus I du céleri était une souche du virus I du concombre.

A la même époque, des cas de mosaïque furent également signalés par WARDLAW à Trinidad en Guadeloupe et en Haïti (37).

En 1940, MAGEE (19) réalisa différents essais en Australie. Après avoir transmis le virus de la mosaïque du bananier à des plantes herbacées (*Canna indica*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita maxima* et *Lycopersicon esculentum*), par l'intermédiaire d'*Aphis gossypii*, il put inoculer mécaniquement ce virus à partir du concombre à des courges, à des concombres, et à des tabacs. Les symptômes observés furent identifiés à ceux obtenus avec le virus de la mosaïque du concombre. Dans les bananeraies atteintes de mosaïque, MAGEE signala la présence de mauvaises herbes montrant des symptômes du type mosaïque.

SILBERSCHMIDT et NOBREGA (28) au Brésil, CASTILLO (6) aux Philippines, suggérèrent que plusieurs souches du virus I du concombre pouvaient être en cause.

Comme MAGEE, CASTILLO (6) souligna l'impossibi-

lité de transmission mécanique directe à partir du bananier et considéra par contre comme possible la transmission par *Aphis gossypii* et *Aphis maidis*.

REINKING (25) observa des symptômes de virose sur bananier près de la côte est du Nord-Bornéo britannique. Il signala également la présence dans les bananeraies de *Commelina nudiflora* présentant des symptômes du type mosaïque et nota que différents auteurs avaient déjà émis l'hypothèse d'un virus commun au bananier et au *Commelina*, ce virus étant identifié comme une souche du virus I de la mosaïque du concombre.

En Amérique centrale, WARDLAW observa, en 1955, une affection se rapprochant de celle observée en 1930 en Guadeloupe et en Haïti. WAITE (36) observa alors l'apparition de nouveaux foyers dans différentes régions du Honduras. Il put transmettre expérimentalement cette virose par inoculation à l'aide d'*Aphis gossypii*, *Rhopalosiphum prunifoliae*, *Myzus persicae*. L'observation des symptômes obtenus sur différentes plantes hôtes herbacées lui permit de conclure, lui aussi, à l'existence de plusieurs souches du virus I de la mosaïque du concombre.

La virose a également été signalée au Venezuela par HEROLD et DAO (14). Les résultats des essais de transmission par *Aphis gossypii* ainsi que quelques résultats très irréguliers d'inoculation mécanique conduisirent les auteurs à admettre qu'au Venezuela également la virose trouvée sur bananier était due au virus I du concombre.

III. SYMPTOMATOLOGIE SUR BANANIER

Les travaux décrits dans cet article ont été réalisés avec du matériel végétal provenant, d'une part de Côte d'Ivoire, d'autre part des Antilles françaises : Guadeloupe et Martinique.

A. Symptômes observés en Côte d'Ivoire. Mosaïque « en tirets ».

Le type de symptômes le plus fréquemment observés en Côte d'Ivoire correspond à ce que nous avons appelé la mosaïque « en tirets ». La maladie débute par l'apparition, sur le limbe des feuilles, de fines

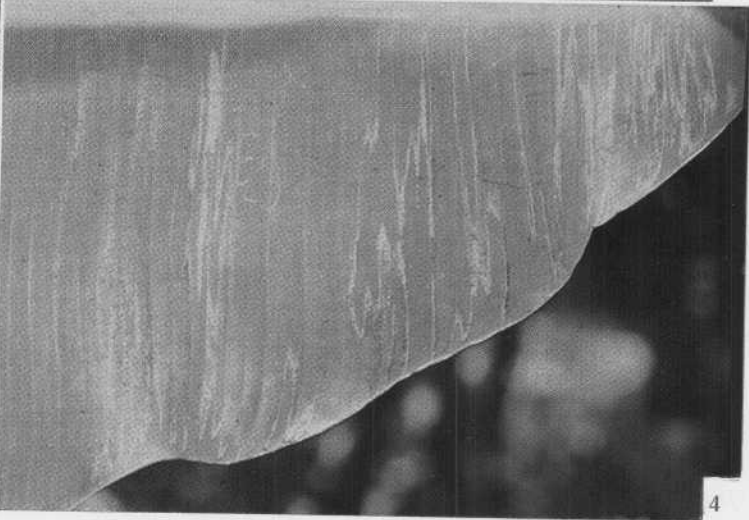
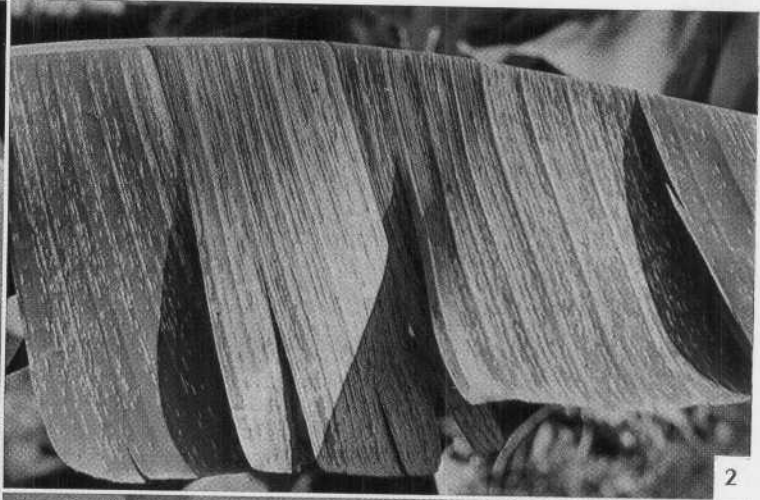
FIG. 1. — Symptômes de Mosaïque « en tirets » sur feuille de bananier (variété 'Poyo' ou 'Grande Naine', groupe Cavendish).

FIG. 2. — Symptômes de Mosaïque « en tirets » sur feuille de bananier (variété 'Poyo' ou 'Grande Naine', groupe Cavendish). Stade plus avancé de l'affection.

FIG. 3. — Symptômes de Mosaïque « en plages » sur feuille de bananier, souche type « AD », observés aux Antilles.

FIG. 4. — Symptômes de Mosaïque « en plages » sur feuille de bananier, souche type « Marquisat », observés aux Antilles.

FIG. 5. — Symptômes de Mosaïque « en plages » sur feuille de bananier, souche type « Aboisso », observés en Côte d'Ivoire.



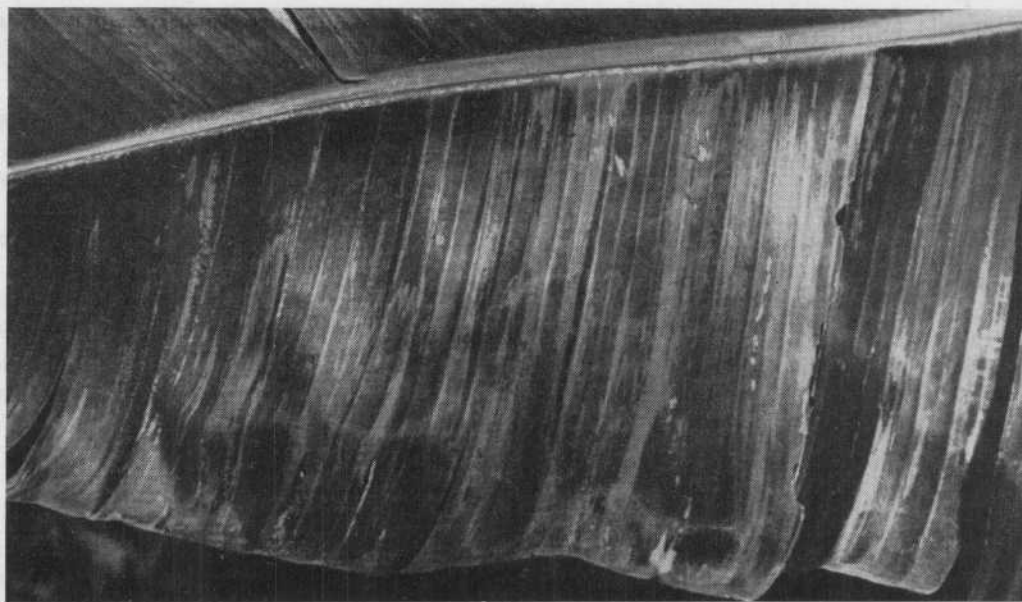


FIG. 11. — Symptômes de Mosaïque « en plages » sur feuille de bananier, souche type « AD », observés aux Antilles.

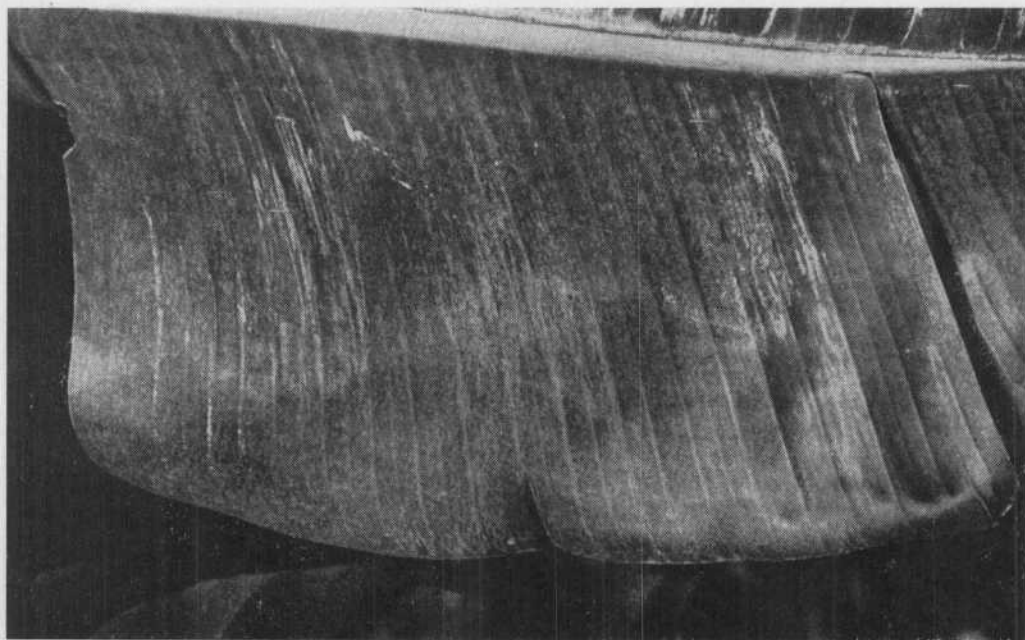


FIG. 12. — Mosaïque observée sur feuille de bananier en Côte d'Ivoire: exemple d'un type de symptômes intermédiaires entre les « tirets » et les « plages ».

taches jaunes, allongées, rectilignes et disposées parallèlement aux nervures.

Au début de l'attaque, les taches sont petites, séparées les unes des autres, d'où le nom de mosaïque « en tirets » qui a été donné par analogie avec l'aspect d'une ligne pointillée. Lorsque l'affection est plus avancée, les « tirets » peuvent devenir coalescents et donner naissance à des lignes puis à des bandes

chlorotiques reliant la nervure centrale au bord du limbe (fig. 1 et 2). Dans certains cas, les tirets deviennent nécrotiques.

Le virus provoque fréquemment un ralentissement de la croissance du bananier et, par suite de la réduction des entre-nœuds, on obtient un aspect touffu de la plante.

Les symptômes n'apparaissent généralement que

lorsque la plante a déjà plusieurs feuilles bien développées. Il arrive cependant que de jeunes rejets présentent des symptômes.

La mosaïque « en tirets » a aussi été observée au Sénégal et au Mali. Elle est également fréquente dans certaines plantations antillaises.

B. Symptômes observés aux Antilles. Mosaïque « en plages ».

Aux Antilles la majorité des bananiers mosaïqués présentent un type de symptômes différents. Des plages plus ou moins grandes, en général vert clair, alternent avec des plages plus foncées. Le limbe des feuilles mosaïquées, souvent ondulé et déformé, est parfois extrêmement étroit et peut même, dans certains cas, être réduit à la nervure centrale.

La taille du bananier est souvent très affectée, les rejets présentent des symptômes à un stade très jeune, alors que les feuilles sont à peine ébauchées.

Les figures 3, 4 et 11 illustrent différents aspects des symptômes observés.

La mosaïque « en plages » est également présente en Côte d'Ivoire.

C. Types de mosaïque intermédiaires.

Il existe un certain nombre de types intermédiaires entre la mosaïque « en tirets » et la mosaïque « en plages » ; ils correspondent probablement à des différences de virulence (fig. 12).

Enfin, nous avons pu observer sur bananier des déformations et des décolorations qui paraissent ressembler à la mosaïque mais la nature virale de ces affections n'a pas pu être démontrée par inoculation mécanique (fig. 13).

D. Symptômes sur fruits.

Lorsque la croissance du bananier n'est pas trop affectée par la présence du virus, le bananier peut aller jusqu'au stade du régime. On observe souvent des régimes d'apparence normale sur des pieds sévèrement atteints de mosaïque « en tirets ». Toutefois,

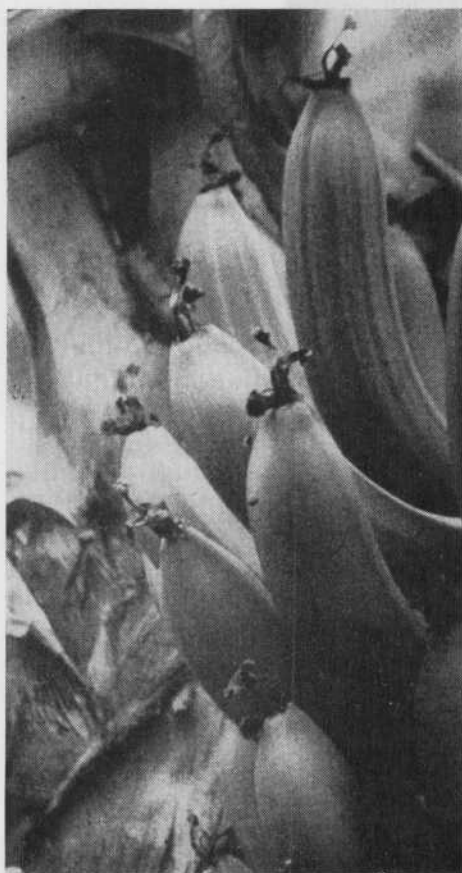
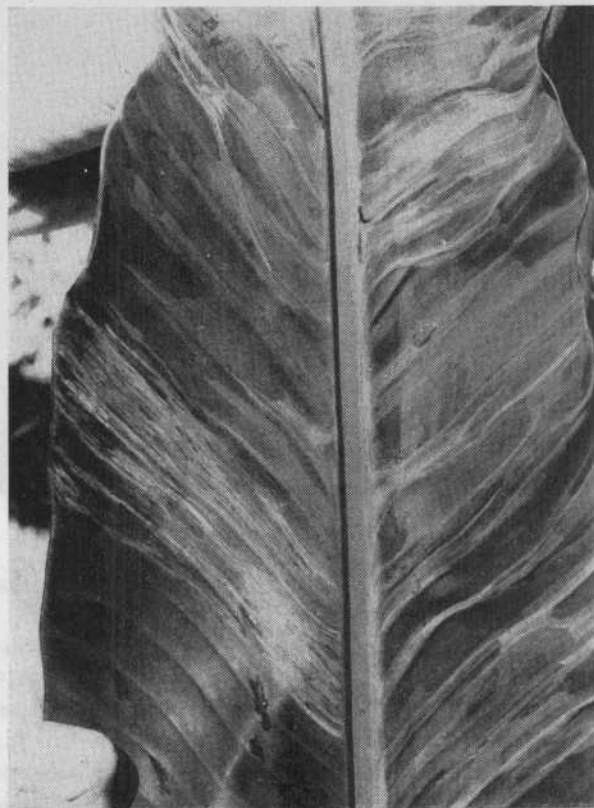


FIG. 13. — Exemple de déformations et de décolorations observées en Côte d'Ivoire sur feuille de bananier (variété *Acuminata pahang*).



← FIG. 14. — Symptômes de mosaïque sur fruits (Équateur 1965).

certains fruits peuvent présenter des décolorations (fig. 14) du type mosaïque.

Des études sont en cours pour déterminer si des régimes apparaissant normaux, prélevés sur des pieds mosaïqués, sont plus fragiles lors du transport et en mûrisserie.

IV. TRANSMISSION MÉCANIQUE DU FACTEUR VIRAL

A. Inactivation du virus pendant le broyage des feuilles de bananier.

Les premiers essais réalisés avec du matériel végétal provenant de Côte d'Ivoire et présentant des symptômes en tirets ont été négatifs.

Une des principales raisons de cet échec réside vraisemblablement dans le fait qu'il se produit une inactivation du virus au moment du broyage des feuilles de bananier.

Ce fait a déjà été signalé par BENIGNO (1) dans son étude sur la transmission du virus de l'Abaca. CADMAN (5) a également mis en évidence la présence d'un « inhibiteur » de virus dans les feuilles de groseiller. THORNBERRY (33) et THRESH (35) ont montré que l'acide tannique a un effet inhibiteur sur le virus de la mosaïque du tabac.

Pour vérifier l'action d'un éventuel « inhibiteur » dans les feuilles de bananier, nous avons réalisé les expériences suivantes, en utilisant comme test le virus de la mosaïque du tabac (VMT).

Nicotiana tabacum, variété 'Xanthi', est un hôte très sensible du virus de la mosaïque du tabac ; celui-ci provoque sur les feuilles inoculées l'apparition de lésions nécrotiques, deux ou trois jours après l'inoculation.

Dans l'expérience A du tableau I, les feuilles de bananier sain ont été broyées dans un tampon citrate (0,1 M pH 6,5) en présence de VMT. Le broyat a été filtré sur 2 couches de gaze et le filtrat utilisé pour inoculer mécaniquement des tabacs 'Xanthi'. (Lire plus loin la technique d'inoculation.)

Dans l'expérience B, les feuilles de bananier ont été broyées dans les mêmes conditions que dans A, mais en l'absence de VMT. Le virus a été ajouté au filtrat obtenu, à la même concentration finale que dans A.

Dans l'expérience C, le VMT a été simplement dilué avec le tampon de broyage utilisé pour préparer A et B.

Par contre, aux Antilles, dans un cas de mosaïque « en plages » de virulence faible, nous avons noté des dégâts importants sur les régimes. Ceux-ci portaient un nombre réduit de mains. Les fruits étaient déformés, aplatis, portant des boursouffures et des plages de mosaïque.

TABLEAU I.

| EXP. | INOCULUM | MOYENNE DU NOMBRE DE LÉSIONS LOCALES OBTENUES PAR FEUILLE DE TABAC 'XANTHI' |
|------|--|---|
| A | VMT ajouté avant le broyage des feuilles de bananier sain | 3 |
| B | VMT + extrait de feuilles de bananier sain | 89 |
| C | VMT + tampon citrate pH 6,5 ou | 100 |
| | VMT + tampon phosphate pH 8 | 97 |
| D | VMT ajouté avant le broyage des feuilles de bananier sain + sérum albumine 0,5 % | 75 |

La concentration finale en virus était identique dans les trois cas.

Le tableau I montre que le nombre de lésions locales obtenues sur feuilles de tabac 'Xanthi' est très faible lorsque le VMT est présent pendant le broyage même des feuilles (exp. A), alors que, s'il est ajouté après broyage (exp. B), le nombre de lésions est pratiquement le même que dans les témoins (exp. C).

On obtient les mêmes résultats suivant qu'on utilise, pour le broyage ou les dilutions, un tampon citrate de sodium 0,1 M pH 6,5 ou un tampon phosphate de sodium 0,02 M pH 8,0.

Les feuilles de bananier sont très riches en tannins. Ces composés polyphénoliques ont la propriété de précipiter les alcaloïdes et les protéines ; il est donc

vraisemblable que les tannins libérés au moment du broyage se combinent immédiatement avec les protéines du broyat et en particulier avec les particules virales qui, ainsi, ne sont plus disponibles pour réaliser l'infection. Lorsqu'on ajoute le VMT après le broyage, les tannins s'étant déjà combinés avec les protéines du broyat ne peuvent plus inactiver les particules virales.

Si l'on ajoute au milieu de broyage une protéine étrangère, celle-ci peut aussi se combiner avec les tannins (32, 4, 11). Effectivement, on obtient 75 lésions au lieu de 3 sur feuilles de tabac 'Xanthi' quand on réalise l'expérience A du tableau I en présence de sérum albumine (exp. D).

Une action similaire a été obtenue avec la polyvinyl pyrrolidone (PVP) à la concentration de 0,1 %.

Des expériences analogues ont montré que le virus 1 de la mosaïque du concombre était généralement inactivé lorsqu'il était ajouté au moment du broyage des feuilles de bananier et que le pouvoir infectieux était considérablement augmenté lorsque l'on ajoutait au milieu de broyage de la sérum albumine, de l'albumine d'œuf ou de la PVP.

Il est donc vraisemblable que, tout comme dans les expériences précédemment effectuées avec le virus purifié ajouté à des feuilles saines, le virus présent dans les feuilles de bananier mosaïqué soit également inactivé pendant le broyage et que cette inactivation puisse être prévenue tout au moins partiellement par l'addition d'albumine ou de PVP au milieu de broyage.

B. Préparation de l'inoculum et conditions d'inoculation.

Les expériences précédentes ont conduit à la méthode suivante pour la préparation des inoculums.

Les feuilles de bananier sont découpées en petits fragments et broyées à l'aide d'un homogénéiseur « Virtis 45 » tournant à vitesse maximum pendant 5 mn. Le milieu de broyage est le suivant : tampon citrate de sodium 0,1 M pH 6,5, ascorbate de sodium à la concentration de 0,2 %, PVP ou albumine d'œuf aux concentrations respectives de 0,1 % et 0,5 %.

Le milieu de broyage est utilisé à raison de 2 ml par gramme de feuilles.

Lorsque le broyage est terminé, le broyat est filtré à travers 2 couches de gaze. Le filtrat constitue l'inoculum.

Toutes les opérations sont effectuées aux alentours de 0° C.

Les plants de tabac sont utilisés lorsqu'ils ont 4 à

8 feuilles ; les *Vigna*, les courges et les concombres sont pris au stade cotylédonaire.

Les feuilles à inoculer sont saupoudrées d'une petite quantité de carborandum (400 mesh). L'inoculum (0,1-0,2 ml) est mélangé avec le carborandum, puis étalé sur toute la surface de la feuille avec une spatule de verre. Après l'inoculation, les feuilles sont immédiatement lavées à l'eau courante afin d'éliminer le surplus d'inoculum et de carborandum.

Les plantes inoculées sont mises dans un compartiment de serre où la température ne dépasse pas 25° C.

C. Résultats obtenus.

Malgré la présence d'albumine d'œuf, de sérum albumine ou de PVP, tous les essais réalisés pour transmettre la mosaïque « en tirets » ont échoué. Par contre, plusieurs types de mosaïque « en plages » ont pu être transmis avec succès.

1° *Symptômes obtenus sur Vigna sinensis (var. 'blackeye')*.

En général, les symptômes obtenus ne sont pas intenses ; assez souvent même, l'inoculation directe du bananier à *Vigna* ne réussit pas.

Presque toutes les souches de mosaïque étudiées produisent de fines lésions nécrotiques pourpres sur les feuilles cotylédonaire inoculées (fig. 15 a) ; l'infection ne devient pas systémique (fig. 15 b).

Lorsqu'il s'agit d'une transmission à partir de tabacs préalablement inoculés (voir plus loin), les lésions apparaissent plus rapidement ; elles sont déjà visibles 3 à 4 jours après l'inoculation ; elles sont plus nombreuses et d'un diamètre légèrement plus grand.

La souche « MG », originaire de Guadeloupe, donne un résultat très différent. L'inoculation à partir du bananier n'induit pas la formation de lésions locales nécrotiques sur les feuilles inoculées ; par contre on observe des symptômes systémiques violents, dix jours

PLANCHE II

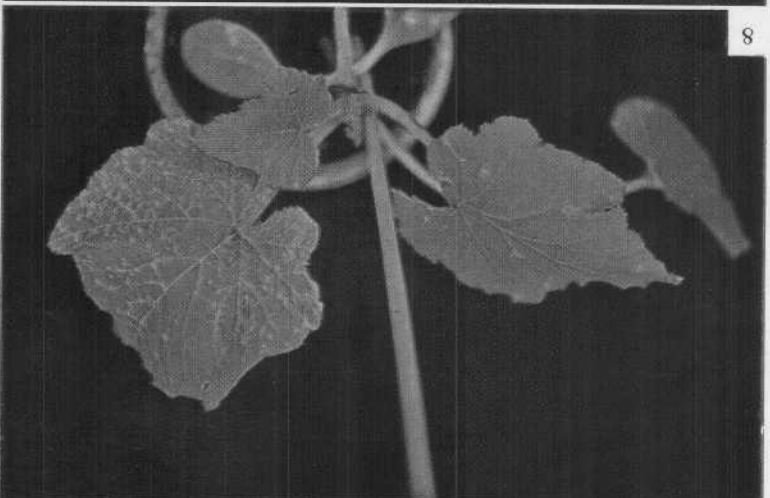
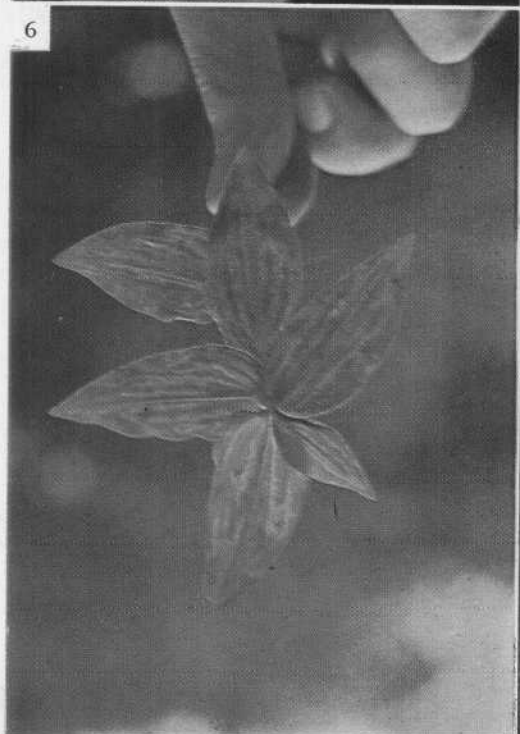
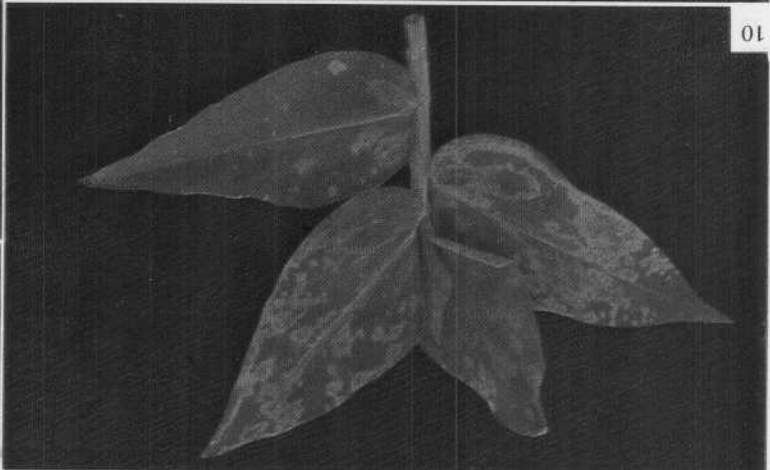
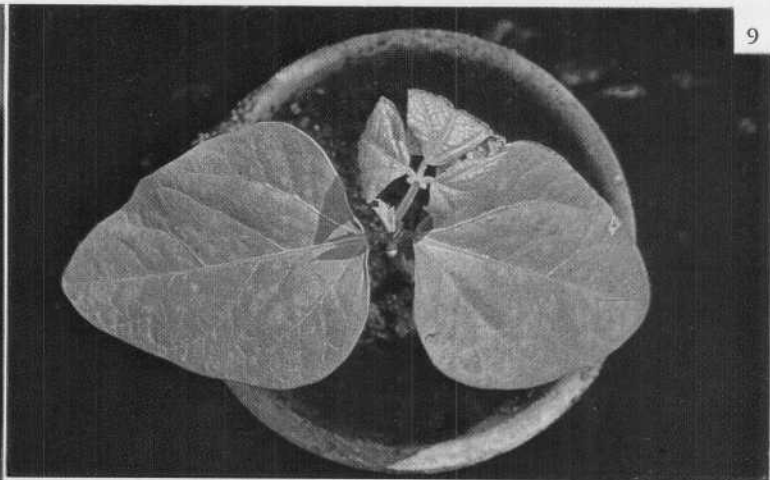
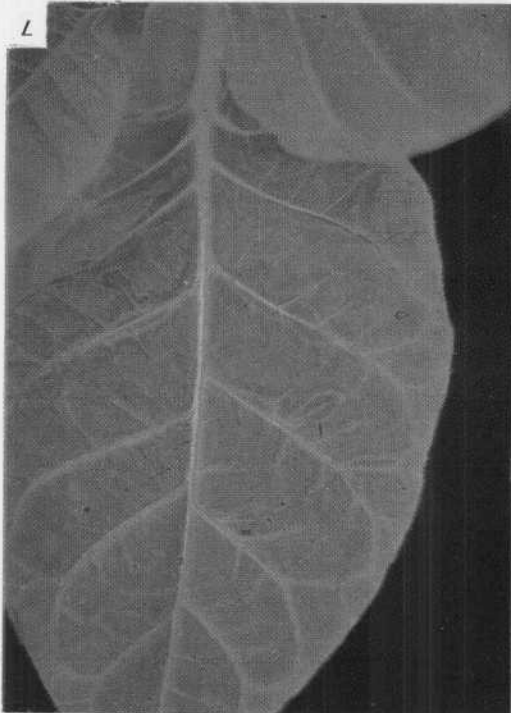
FIG. 6. — Lésions locales chlorotiques obtenues sur *Vigna sinensis*, variété 'blackeye', après inoculation de la souche « MG ».

FIG. 7. — Symptômes obtenus sur *Nicotiana tabacum* var. 'Xanthi' après inoculation des différentes souches de mosaïque du bananier.

FIG. 8. — Symptômes obtenus sur *Cucurbita pepo* après inoculation des différentes souches de mosaïque du bananier.

FIG. 9. — *Palisota hirsuta* virosé trouvé en bananeraie.

FIG. 10. — *Commelina nudiflora* virosé trouvé en bananeraie.



environ après l'inoculation : décoloration des nervures des feuilles trifoliées et apparition d'un réseau jaune, courbure et nécrose des pétioles, gaufrage et déformation des feuilles (fig. 16).

Lorsque cette souche est repiquée de tabac à *Vigna*, on observe d'abord l'apparition, sur les feuilles inoculées, de lésions locales chlorotiques entourées d'un cercle nécrotique pourpre puis le virus devient systémique et induit les symptômes identiques à ceux décrits plus haut (fig. 6).

Il convient de remarquer qu'il existe une souche du virus 1 de la mosaïque du concombre (20) qui donne des symptômes systémiques sur *Vigna* alors que les autres souches induisent des lésions nécrotiques pourpres sur les feuilles inoculées.

2° *Symptômes sur Nicotiana tabacum, var. 'Xanthi' et 'Samsuun'.*

D'une façon générale, on n'obtient pas de lésions locales primaires lorsqu'on inocule directement des tabacs à partir du bananier.

Les premiers symptômes systémiques se manifestent environ 3 semaines après l'inoculation.

On observe d'abord un éclaircissement des nervures des jeunes feuilles ; ensuite apparaissent des plages chlorotiques de plus en plus grandes, qui alternent avec des plages d'un vert intense (fig. 7). Enfin, la feuille se déforme, se gaufre et, à un stade avancé, elle peut même présenter un aspect lacinié (fig. 17).

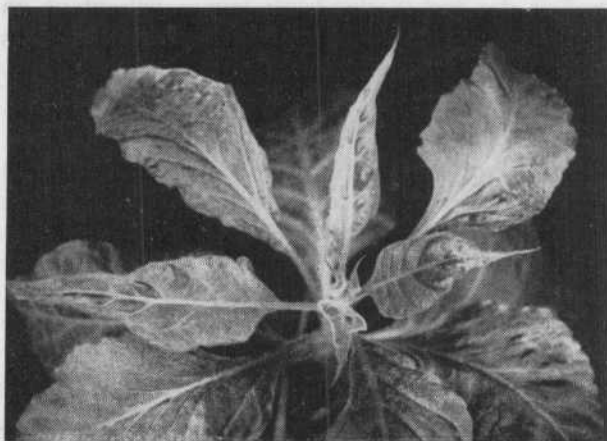


FIG. 17. — Symptômes obtenus sur *Nicotiana tabacum* var. 'Xanthi' avec toutes les souches de mosaïque « en plages ».

Ce type de symptômes est caractéristique du virus 1 de la mosaïque du concombre.

Nous l'avons obtenu avec la majorité des souches « en plages » de la mosaïque du bananier.

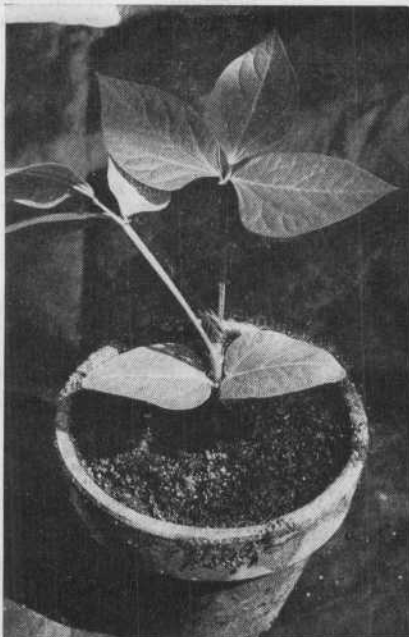
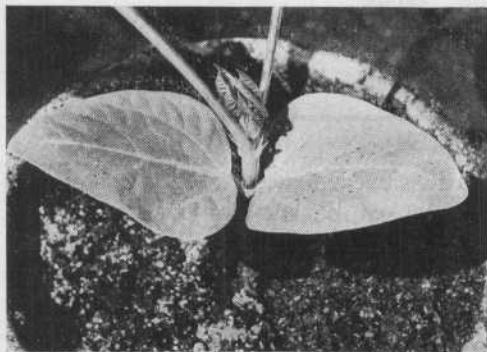
Toutefois deux souches, l'une originaire de Côte d'Ivoire (Aboisso), l'autre originaire de Guadeloupe (Marquisat) se sont comportées différemment sur *Nicotiana tabacum, var. 'Xanthi'.*

On observe des taches nécrotiques dessinant sur les feuilles inoculées des cercles concentriques ou des

FIG. 15 a. — Lésions locales obtenues sur feuilles cotylédonaire de *Vigna sinensis* (variété 'blackeye').

FIG. 15 b. — Aspect général de la plante. Noter l'absence de symptômes systémiques sur feuilles trifoliées.

FIG. 16. — Symptômes systémiques sur feuilles trifoliées de *Vigna sinensis* (variété 'Blackeye') après inoculation de la souche « MG ».



arabesques ; le virus devient ensuite systémique et produit des taches circulaires jaunes présentant un centre vert ; ces taches peuvent s'entourer d'un cercle nécrotique pointillé.

3° Symptômes sur *Nicotiana glutinosa*.

Les symptômes systémiques débutent également par un éclaircissement des veines, puis la mosaïque s'intensifiant, les feuilles se déforment et se gaufrent.

Aucune différence n'a été observée suivant la souche de mosaïque employée.

4° Autres plantes sensibles.

Les inoculations directes réalisées à partir du bananier n'ont jamais permis d'obtenir de symptômes sur les autres plantes herbacées utilisées dans nos tests. Par contre, après passage sur tabac, nous avons pu transmettre les différentes souches à *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo* (fig. 8), *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium Quinoa*, *Lycopersicum esculentum*, *Zinnia elegans*, *Datura stramonium*.

Le tableau II résume les principaux résultats obtenus.

TABLEAU II.

| SOUCHES DE VIRUS | | PLANTES HÔTES | | | | | | |
|-------------------------|-----------------------------------|------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| | | <i>Vigna sinensis</i> | <i>Nicotiana glutinosa</i> | <i>Nicotiana tabacum</i> (Xanthi) | <i>Cucumis sativus</i> | <i>Cucurbita pepo</i> | <i>Chenopodium amaranticolor</i> | <i>Chenopodium quinoa</i> |
| Mosaïque « en tirets » | | | | | | | | |
| Mosaïques « en plages » | Souche MG | LLC puis mosaïque systémique | mosaïque | LLC puis mosaïque systémique | LLC puis mosaïque systémique | LLC puis mosaïque systémique | LLN | LLC |
| | Souches type AD | LLN pourpres | mosaïque | LLC puis mosaïque systémique | LLC puis mosaïque systémique | LLC puis mosaïque systémique | LLN | LLC |
| | Souches type Marquisat ou Aboisso | LLN pourpres | mosaïque | lésions en anneaux puis mosaïque | LLC puis mosaïque systémique | LLC puis mosaïque systémique | LLN | |
| | Virus r du concombre | LLN pourpres | mosaïque | LLC puis mosaïque systémique | LLC mosaïque rabougrissement | LLC mosaïque rabougrissement | LLN | |

L L C = Lésions Locales Chlorotiques. L L N = Lésions Locales Nécrotiques.

5° Végétation spontanée en bananeraie.

D'autre part, nous avons pu observer que l'on trouvait très souvent associée à des bananeraies mosaïquées une végétation spontanée présentant des symptômes de mosaïque.

Des inoculations mécaniques réalisées à partir de plantes fréquentes en bananeraies comme le *Pali-sota hirsuta* (fig. 9) ou le *Commelina nudiflora* (fig. 10) ont permis d'obtenir des lésions locales pourpres sur *Vigna sinensis*, des lésions locales sur *Chenopodium amaranticolor* et, sur tabac (*N. tabacum* et *N. glu-*

tinosa) des symptômes identiques à ceux obtenus avec le virus de la mosaïque du bananier et le virus I de la mosaïque du concombre.

6° Conclusion.

Ces expériences d'inoculation mécanique ont per-

mis de confirmer l'hypothèse que la mosaïque « en plages » du bananier est due au virus I de la mosaïque du concombre, virus très ubiquiste (10, 13, 23, 29, 31, 40, 42, 43, 44). Elles mettent également en évidence que divers bananiers peuvent héberger différentes souches de ce virus.

V. PURIFICATION DU VIRUS I DE LA MOSAÏQUE DU CONCOMBRE ET DE PLUSIEURS SOUCHES DE LA MOSAÏQUE DU BANANIER

Purification du virus I du concombre.

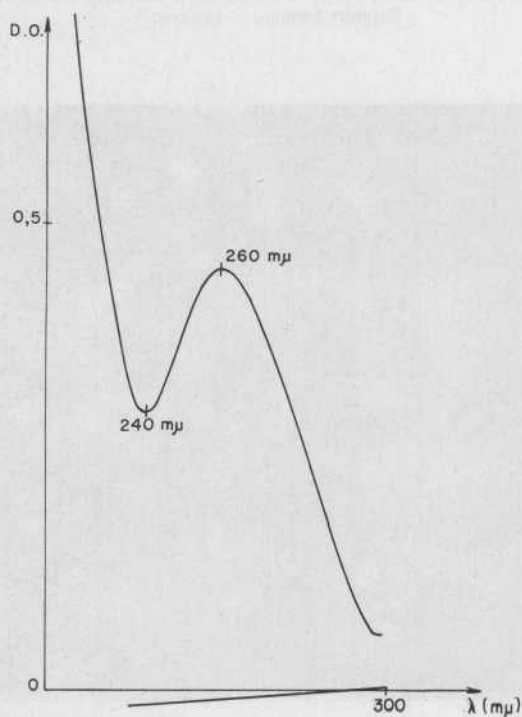
Méthode de purification.

La méthode de SCOTT (27) légèrement modifiée a été utilisée de préférence à d'autres (24, 34).

Des tabacs 'Xanthi' ont été inoculés avec le virus I du concombre.

Huit à dix jours après inoculation, les feuilles ont été récoltées et laissées quelques heures à + 2° C. Les différentes étapes de la purification ont été effectuées vers 0° C.

FIG. 18. — Spectre d'absorption d'une préparation purifiée du virus I de la mosaïque du concombre.
Rapport D. O. max. D. O. min : 1,4.



1) Les feuilles sont broyées dans un bol de Turmix, dans un tampon citrate de sodium 0,5 M pH 6,5, contenant 0,1 % d'acide thioglycolique et du diethyldithiocarbamate de sodium 0,005 M. Le tampon de broyage est utilisé à raison de 150 ml pour 100 g de feuilles.

2) Le broyat est filtré à travers 2 couches de gaze et le filtrat est émulsionné avec du chloroforme pendant 15 à 20 mn. On utilise 100 ml de chloroforme pour un volume de filtrat correspondant à 100 g de feuilles.

3) L'émulsion est centrifugée 20 mn à 4 500 g. Le culot et la phase chloroformique sont éliminés.

4) La phase aqueuse est filtrée sur coton de verre puis laissée pendant une nuit à 4° C.

5) Pendant la nuit, un précipité blanchâtre se forme dans la phase aqueuse ; il est éliminé par une centrifugation à 4 500 g pendant 20 mn.

6) Le surnageant, ambré, limpide, est centrifugé 120 mn à 30 000 tour/mn dans le rotor n° 30 d'une centrifugeuse Spinco modèle L. Les culots obtenus sont remis en suspension dans du tampon borate de sodium 0,005 M pH 9,0.

7) La suspension obtenue est centrifugée 15 mn à 4 500 g. Le surnageant est opalescent et légèrement brun ; il est clarifié par une première précipitation au sulfate d'ammonium (pourcentage de saturation finale : 15 %). Après une attente de 20 mn, il se forme un léger précipité jaunâtre qui est éliminé par une centrifugation de 20 mn à 3 000 g.

8) Le surnageant est centrifugé 90 mn à 40 000 tours/mn. Les culots de virus obtenus sont remis en suspension dans du tampon borate 0,005 M pH 9,0.

9) Cette suspension est clarifiée par une centrifugation de 15 mn à 2 000 g.

Le virus est alors précipité par du sulfate d'ammonium (pourcentage de saturation finale : 45 %). Après une attente de 40 à 45 mn, on centrifuge 25 mn

à 3 000 g et les culots blanchâtres de virus sont remis en suspension dans du tampon phosphate 0,5 M, pH 7,0.

La suspension est à nouveau soumise à deux cycles de centrifugation différentielle. Le culot de la dernière ultracentrifugation est remis en suspension dans de l'eau.

Résultats.

a) Infectivité.

La préparation obtenue a été inoculée, après dilution, à *Vigna sinensis*, var. Blackeye, et à *Cucurbita pepo*.

Sur les feuilles inoculées de *Vigna*, de nombreuses lésions locales pourpres se sont développées.

Sur les feuilles inoculées de courge, des lésions chlorotiques sont apparues, puis l'infection est devenue systémique, sous l'aspect d'une mosaïque.

b) Caractéristique du virus.

Le spectre d'absorption de la préparation est caractéristique d'une nucléoprotéine, avec un maximum à 259-260 m μ et un minimum à 240 m μ le rapport D. O. max. D. O. min. est de 1,4 (fig. 18). La suspension a été observée au microscope électronique, soit après coloration négative à l'acide phosphotungstique

FIG. 19. — Virus I de la mosaïque du concombre. Coloration négative à l'acide phosphotungstique (à 2 p. cent). — Support de carbone. \times 120 000.

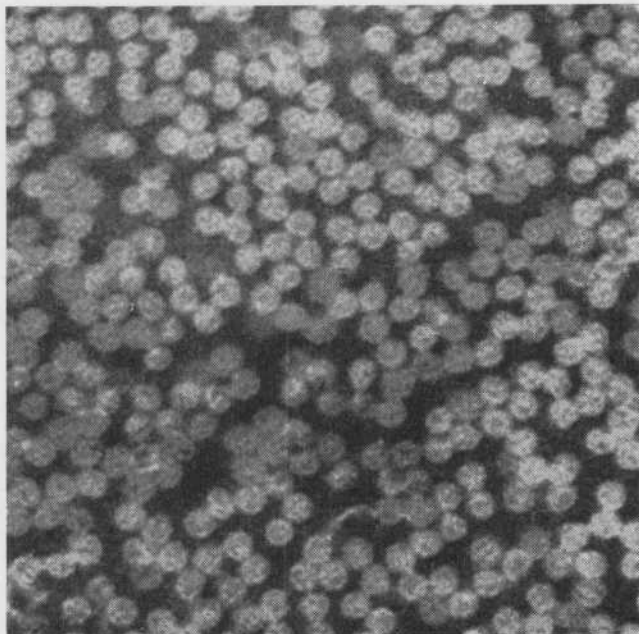
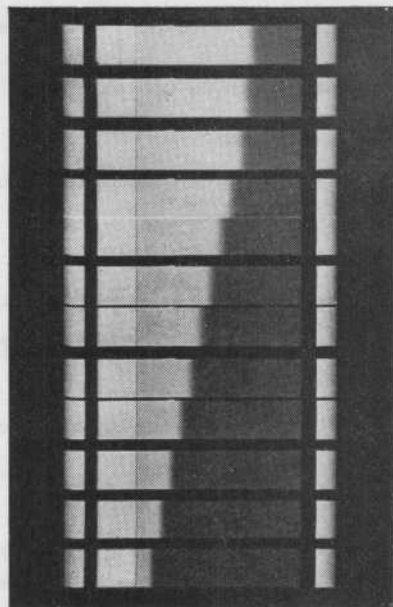


FIG. 21. — Diagramme de sédimentation d'une préparation purifiée du virus I de la mosaïque du concombre.

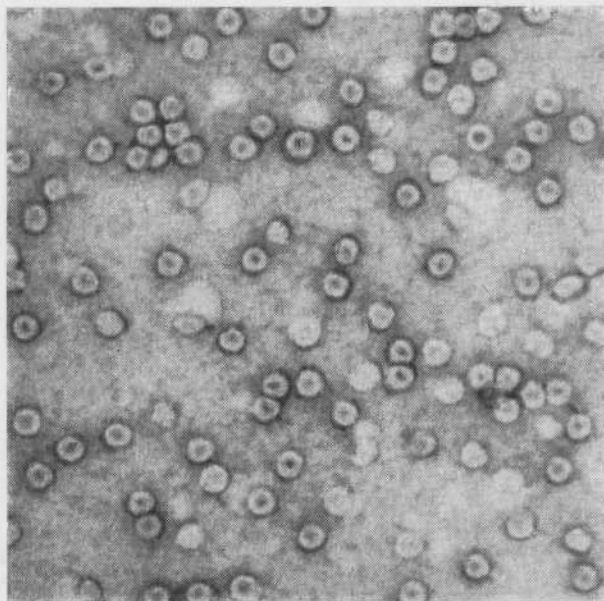
Vitesse de rotation 20.410 trs/mn. La première photographie est en bas de la figure.



(fig. 19), soit après fixation au glutaraldéhyde et coloration à l'acétate d'uranyle (fig. 20). Des particules polyédriques d'environ 26 m μ de diamètre ont été mises en évidence.

L'ultracentrifugation analytique a permis d'obte-

FIG. 20. — Virus I de la mosaïque du concombre. Fixation au glutaraldéhyde et coloration à l'acétate d'uranyle. Support formar. \times 120 000.



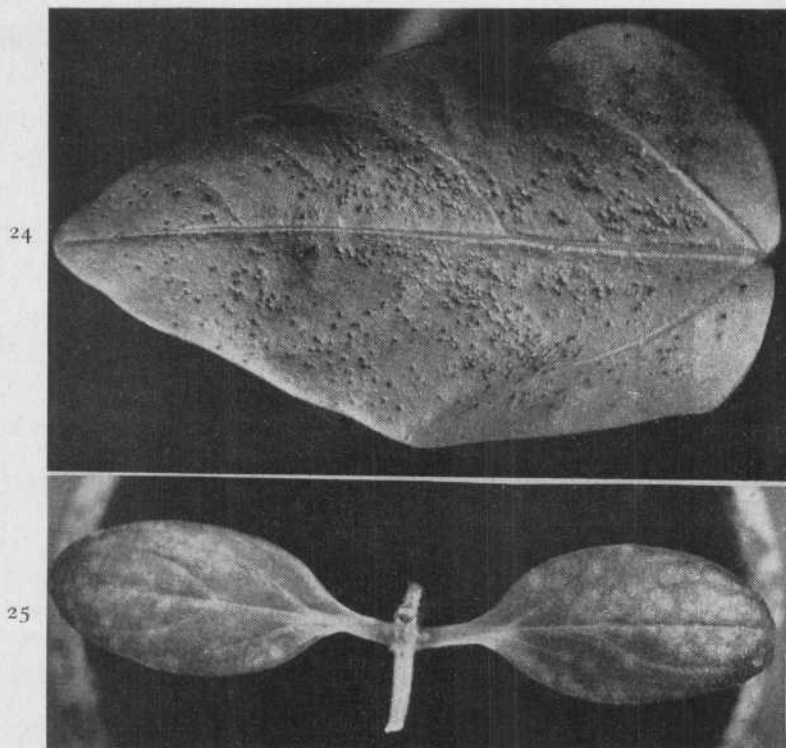
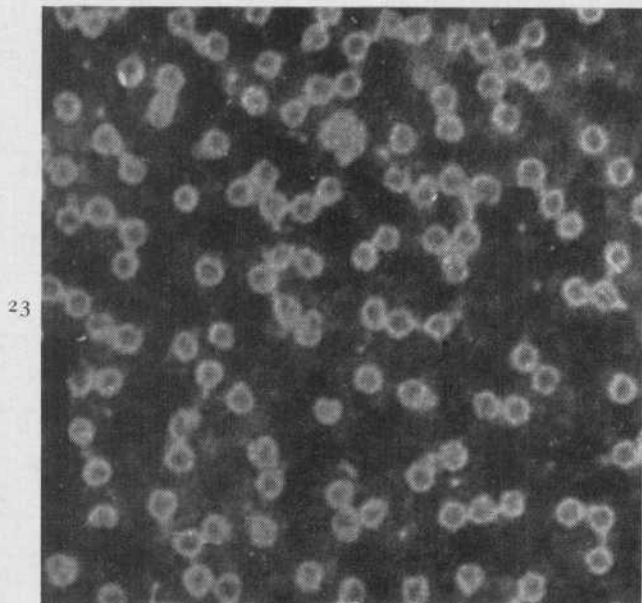


FIG. 24. — Lésions locales nécrotiques obtenues sur *Vigna sinensis* variété 'Blackeye' après inoculation avec une souche purifiée de mosaïque du bananier type « AD ».

FIG. 25. — Lésions locales chlorotiques obtenues sur *Curcubita pepo* après inoculation avec une souche purifiée de mosaïque du bananier type « AD ».

FIG. 23. — Virus de la mosaïque du bananier souche type AD. Coloration négative à l'acide phosphotungstique (à 2 p. cent). Support de carbone $\times 120\ 000$.



23



26

FIG. 26. — Bananier de semis *Musa balbisiana* : à gauche, témoin ; à droite, bananier inoculé avec une souche purifiée du virus de la mosaïque du bananier type « AD ».

FIG. 22. — Spectre d'absorption d'une préparation purifiée du virus de la mosaïque du bananier souche type AD. Rapport DO max/DO Min : 1,2.

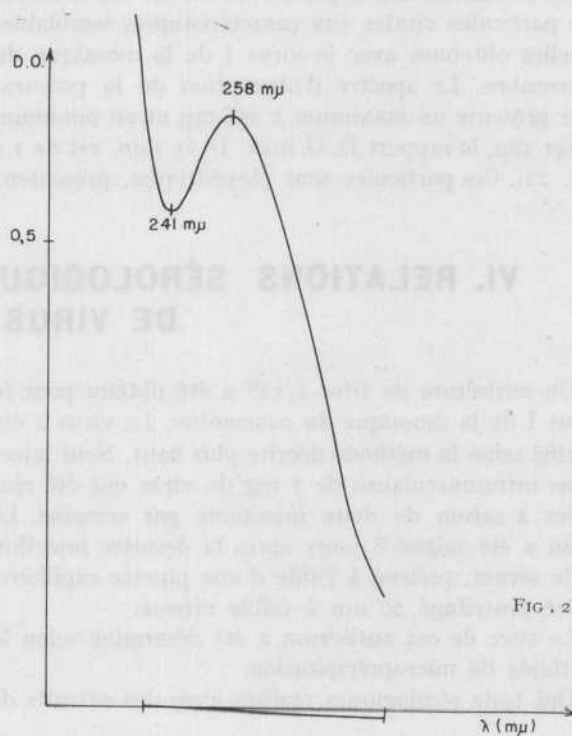


FIG. 22

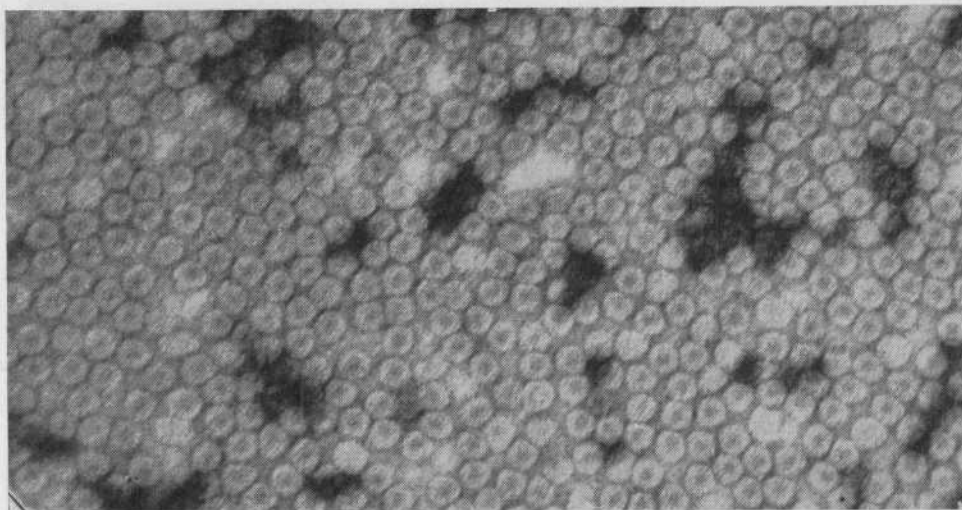


FIG. 27.
Virus de la mosaïque du bananier souche « MG ». Fixation à la glutaraldéhyde et coloration à l'acétate d'uranyl. Support formar. $\times 120\ 000$.

nir un diagramme de sédimentation montrant la présence d'un seul composant, très homogène (fig. 21).

Le coefficient de sédimentation de ce composant est de 100 S et sa masse moléculaire, déterminée par diffusion de la lumière, de $5,35 \times 10^6$ (16). Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par FRANCKI (12).

Purification du virus de la mosaïque du bananier.

La méthode de purification précédente, appliquée à des souches de mosaïque du bananier, du type « AD » (tableau II) a permis de mettre en évidence des particules virales aux caractéristiques semblables à celles obtenues avec le virus I de la mosaïque du concombre. Le spectre d'absorption de la préparation présente un maximum à $258\ m\mu$ et un minimum à $241\ m\mu$, le rapport D. O. max. D. O. min. est de 1,2 (fig. 22). Ces particules sont ployédriques, présentent

un diamètre d'environ $26\ m\mu$ (fig. 23) et un coefficient de sédimentation voisin de 100 S.

Des tests d'inoculation réalisés sur *Vigna*, courges et tabacs ont prouvé que ces préparations étaient très infectieuses (fig. 24 et 25). Elles ont permis de transmettre la mosaïque du bananier à un jeune bananier de semis (*Musa balbisiana*) (fig. 26).

Avec les souches du type « MG » et du type « Aboisso », la purification est possible mais ces souches sont moins stables et la précipitation du virus au sulfate d'ammonium se traduit par une perte importante de virus.

Dans la méthode utilisée, nous avons donc seulement réalisé le premier traitement au sulfate d'ammonium (clarification) et éliminé le deuxième, c'est-à-dire la précipitation du virus. Cette méthode a permis néanmoins d'obtenir des préparations infectieuses de la souche MG relativement propres (fig. 27).

VI. RELATIONS SÉROLOGIQUES DES DIFFÉRENTES SOUCHES DE VIRUS DU BANANIER

Un antisérum de titre 1/128 a été obtenu pour le virus I de la mosaïque du concombre. Le virus a été purifié selon la méthode décrite plus haut. Neuf injections intramusculaires de 7 mg de virus ont été réalisées à raison de deux injections par semaine. Le lapin a été saigné 8 jours après la dernière injection et le sérum, prélevé à l'aide d'une pipette capillaire, a été centrifugé 20 mn à faible vitesse.

Le titre de cet antisérum a été déterminé selon la méthode de microprécipitation.

Des tests sérologiques réalisés avec des extraits de

tabacs 'Xanthi' inoculés avec les différentes souches de mosaïque du bananier ont donné des résultats positifs avec l'antisérum anti-virus I de la mosaïque du concombre.

Par contre, il n'a pas été possible de réaliser des tests sérologiques avec le jus de feuilles de bananiers atteints de mosaïque car ces jus précipitent spontanément, même avec du sérum normal. Différentes expériences ont été réalisées afin d'éliminer cette précipitation mais aucun résultat entièrement satisfaisant n'a encore été obtenu.

CONCLUSION

D'après les symptômes obtenus sur des hôtes herbacés sensibles, auxquels la mosaïque « en plages » du bananier a pu être inoculée mécaniquement, diverses souches de virus ont pu être mises en évidence.

La nature des hôtes sensibles, la taille, la masse et les réactions sérologiques des particules virales montrent que les mosaïques « en plages » sont dues à des souches du virus I de la mosaïque du concombre.

Manuscrit reçu le 12 juillet 1966.

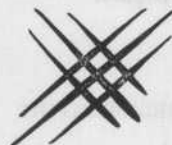
Remerciements.

Nous remercions vivement M. le professeur P. HORN, Institut de Physique, Nancy, qui a bien voulu réaliser les ultracentrifugations analytiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. D. A. BENIGNO (1963). — Studies on the identity of Abaca mosaic virus through transmission and physical properties. *Philipp Abstract*, vol. 4, n° 2.
2. K. S. BHARGAVA (1951). — Some properties of 4 strains of CMV. *Ann. Appl. Biol.*, XXXVIII, 2, p. 337-388.
3. J. BIRD, F. L. WELLMAN (1964). — Une mosaïque des plantains et autres groupes de bananiers à Puerto-Rico. *Journée d'Étude de la Banane*, février 1964, I. F. A. C., Bassé Terre, BP 53, Guadeloupe.
4. A. A. BRUNT, R. H. KENTEN (1963). — The use of protein in the extraction of Cocoa Swollen-Shoot virus from Cocoa-Leaves. *Virology*, 19, 388-392.
5. C. H. CADMAN (1959). — Some properties of an Inhibitor of virus-infection from leaves of raspberry. *J. Gen. Microbiology*, 20, p. 113-128.
6. B. S. CASTILLO (1954). — Transmission studies on banana mosaic in the Philippines. *Philipp. J. Agric.*, vol. 17, p. 91-97.
7. W. T. DALE (1956). — Virus disease of Solaneous crops in Trinidad. *Trop. Agricult. Trin.* 33, 7, p. 35.
8. D. DAUTHY et J.-M. BOVÉ (1965). — Recherches sur les mosaïques du bananier. C. R. du Congrès de la Protection des Cultures Tropicales, mars. Chambre de Commerce et d'Industrie de Marseille, mars 1965.
9. T. O. DIENER, H. A. SCOTT et J. M. KAPER (1964). — Highly Infectious Nucleic acid from crude and purified preparations of CMV (Y Strain). *Virology*, 22, 131-141.
10. S. P. DOOLITTLE (1931). — *Commelina nudiflora*, a monocotyledonous host of celery mosaic. *Abs. Phytopatho*, 21, 114.
11. R. I. FRANCKI (1964). — Inhibition of CMV infectivity by leaf extracts. *Virology*, 24, p. 193-199.
12. R. I. FRANCKI, J. W. RANGLES, T. C. CHAMBERS & S. B. WILSON (1966). — Some properties of Purified Cucumber Mosaic Virus (Q Strain). *Virology*, 28, 728-741.
13. R. G. GROGAN, D. H. HALL & K. A. KIMBLE (1959). — Cucurbit mosaic viruses in California. *Phytopatho*, 49, p. 366-367.
14. F. HEROLD & F. DAO (1961). — La chlorosis infectiosa, una nueva enfermedad virosa del banano (*Musa sp.*) en Venezuela. *Agron. Trop.*, Venezuela, 11, 3, p. 147-155.
15. H. A. VAN HOOF (1962). — Een virusziekte van bacove in Banaan. *Surinean Landb.*, vol. 10, p. 47-52.
16. P. HORN et coll., manuscrit en préparation.
17. J. M. KLISIEWICZ (1962). — CMV on safflower. *Plant Dis Rep.* vol. 46, p. 849-851.
18. C. J. MAGEE (1930). — A new virus disease of bananas. *Agric. Gaz. N. S. W.*, XLV, 12, 929.
19. C. J. MAGEE (1940). — Transmission of Infections chlorosis or Heart Rot of the banana and its relationship to CMV. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.*, VI, 44-47.
20. W. C. PRICE (1934). — Dans Textbook of plant virus diseases, p. 230. 2^e ed. K. SMITH, J. A. CHURCHILL ed.
21. W. C. PRICE (1935). — Acquired Immunity from CMV in Zinnia. *Phytopatho*, vol. 25, p. 776-789.
22. W. C. PRICE (1935). — Classification of southern celery mosaic virus. *Phytopatho*, vol. 25, p. 947-954.
23. Z. POLAK (1964). — *Campanula rapunculoides*, a natural source of cucumber mosaic virus. *Preslia*, 36, 3, p. 306.
24. M. H. V. VAN REGENMORTEL (1961). — Zone electrophoresis and Particle size of CMV. *Virology*, 15, p. 221-223.
25. O. A. REINKING (1950). — Banana virus studies and observations made at Tawau, Semporna, ...British North-Borneo : suggested studies for investigations to clarify the abaca bunchy-top relationship with the banana virus complex. *Plant Disease Reporter*, vol. 34, n° 3, p. 66-69.
26. D. E. SCHLEGEL (1960). — Transmission of several plant-virus by phenol-water extracts of diseased tissues. *Phytopatho*, 50, 156-158.
27. H. SCOTT (1963). — Purification of CMV. *Virology*, 20, p. 103-106.
28. K. SILBERSCHMIDT & N. R. NOBREGA (1941). — Sobre una doença de virus de bananeira. *Biológico*, 7, 215-219.
29. J. N. SIMONS (1957). — Three strains of CMV affecting bell pepper in the everglades area of south florida. *Phytopatho*, 47, p. 145-150.
30. J. B. SINCLAIR & J. C. WALKER (1956). — Extent of cross protection among strains of CMV in cucumber and cowpea. *Phytopatho*, 46, p. 367-371.
31. K. M. SMITH (1951). — Quelques plantes horticoles susceptibles à l'infection par le virus de la mosaïque du concombre. *J. Roy. Hort. Soc.*, LXXVII, 1, 19-21.
32. J. M. TAGER (1958). — Isolation of mitochondria from ripening bananas. *S. African J. Sci.*, 54, 324-326.
33. H. H. THORNBERRY (1935). — Effect of tannic acid on the infectivity of tobacco mosaic virus. *Phytopatho*, 25, p. 931-946.
34. J. A. TOMLINSON, R. J. SHEPHERD & J. C. WALKER (1958). — Purification and Serology of Cucumber mosaic virus. *Nature*, vol. 182, p. 1616.

35. J. H. THRESH (1956). — Some effects of tannic acid on leaf extracts which contains tannins on the infectivity of TMV and tobacco necrosis virus. *Ann. Appl. Biol.*, 44, p. 606-618.
36. B. H. WAITE (1960). — Virus disease of bananas in Central America. Proc. Carribean region. *Am. Soc. Hort. Sci.*, 4, 26-30.
37. C. W. WARDLAW (1934). — Bananas diseases. VIII. Notes on various diseases occurring in Trinidad. *Trop. Agricult. Trinidad*, vol. 11, n° 6, p. 143-149.
38. C. W. WARDLAW (1948). — Infectious chlorosis of bananas in the Cameroons. *Nature*, vol. 162, n° 4, 127, p. 894.
39. C. W. WARDLAW (1961). — Banana diseases. Longmans ed.
40. F. L. WELLMAN (1934). — A disease of banana markedly similar to bunchy top produced by celery virus 1 in U. S. A. *Phytopatho.*, 24, 1032-1034.
41. F. L. WELLMAN (1935). — The host range of Southern Celery mosaic virus. *Phytopatho.*, 25, p. 376-404.
42. O. C. WHIPPLE and J. C. WALKER (1941). — Strains of CMV pathogenic on bean and pea. *J. Agr. Research*, 12, p. 27-60.
43. R. E. WILKINSON (1953). — *Berberis Thunbergii*, a host of CMV (Marmor cucumeris). *Phytopatho.*, 43, p. 489.
44. R. S. WILLISON and M. WEINTRAUB (1957). — Properties of a strain of CMV isolated from Prunus hosts. *Canad. J. Bot.*, 35, p. 763-771.
45. H. YAMAZAKI and P. KAESBERG (1961). — Biophysical and biochemical properties of wild CMV and of two related virus-like particles. *Biochim. Biophys. Acta*, 51, p. 9-18.



PUBLICATION DE L'INSTITUT FRANÇAIS
DE RECHERCHES FRUITIÈRES OUTRE-MER (IFAC)

MALADIES A VIRUS DES AGRUMES

Analyses des publications de 1926 à 1962

Bibliographie établie par

l'Institut français de Recherches fruitières Outre-Mer (IFAC)

Sous les auspices de

l'Organisation internationale des Virologistes des Agrumes (IOCV)

945 analyses - un index-matières - un index-auteurs

Prix : 50 francs.

I.F.A.C., 6, rue du Général-Clergerie, Paris, 16°