

CONTRAINTES DANS LA DETECTION ET L'IDENTIFICATION DES VIRUS DES PLANTES EN AFRIQUE : CAS DU TOGO.

Présenté par :

Djodji Kossikouma ADJATA

UNIVERSITE DE LOME

ÉCOLE SUPERIEURE D'AGRONOMIE

LABORATOIRE DE VIROLOGIE ET DE

BIOTECHNOLOGIE VEGETALES (LVBV)

 : (00228) 225 41 97 / 997 84 33

 : (00228) 221 85 95

 *E mail* : dadjata@yahoo.fr

Plan de l'exposé

Première partie

Introduction générale :

- Importance des maladies virales en Afrique
- Les principaux groupes de virus couramment identifiés sur les cultures tropicales
- La détection et l'identification des phytovirus en Afrique.



Plan de l'exposé (Suite)

Deuxième partie

Quelques expériences pilotes de collaboration entre des virologues des pays en développement et ceux des pays développés :

- Cas de deux potyvirus du niébé CAMV et BLCMV.
- Cas des viroses du manioc (Projet ICP).
- Cas du TSWV (Tomato Spotted Wild Virus) à Hawaï

Contraintes

Quelques suggestions en vue d'améliorer la situation actuelle.

Conclusion



Première partie

Introduction

Importance des maladies virales en Afrique

Un virus est une association d'une protéine et d'un acide nucléique (information génétique) capable de se multiplier seulement dans une cellule vivante. L'importance des virus végétaux réside essentiellement dans les pertes de rendement (quantitative ou qualitative) qu'ils occasionnent (Fargette et al., 1988 ; Thottappilly et Rossel, 1992).

La gravité des viroses vient du fait aussi qu'il n'existe pratiquement pas de moyens sûrs d'éradication de ces maladies. De plus, les maladies virales sont insidieuses ne tuant pas nécessairement les plantes infectées (Gumedzoe, 1988).

Les principaux groupes de virus couramment identifiés sur les cultures tropicales

Une trentaine de groupes d'affinités de virus végétaux sont actuellement connus.

Parmi les 900 phytovirus signalés, trois cents seulement sont bien caractérisés (Francki, 1983).

Un grand nombre d'entre eux infectent les plantes cultivées en Afrique.



Les groupes de virus les plus importants

Parmi les différents groupes de virus les plus dangereux se trouvent : les potyvirus, les begomovirus, les comovirus, les rhabdovirus, les cucumovirus, les tymovirus, les tobamovirus, les carlavirus, les tospovirus etc....

La plupart de ces groupes de virus se retrouvant sur ces cultures vivrières telles que le manioc, la patate douce, le taro, l'igname, le niébé, le haricot, le soja, le maïs et le riz où ils entraînent de fortes réductions de rendement, ces mêmes virus peuvent être détectés sur des production horticoles (Lana, 1980).



La détection et l'identification des phytovirus en Afrique : Contraintes.

Introduction

Pour lutter efficacement contre les agents responsables des maladies virales, il faut détecter et identifier les virus en cause.

Plusieurs méthodes d'identification des virus sont utilisées (méthodes biologiques et sérologiques ainsi que l'observation des particules infectieuses au microscope électronique) ;

et d'autres méthodes plus récentes (hybridation moléculaire, PCR et toutes les variantes de ces méthodes) issues du développement des biotechnologiques, sont utilisées dans les Laboratoires équipés des pays du Nord Spire, 1988)

Introduction (Suite)

En Afrique, les quelques rares et courageux virologues travaillant sur les maladies virales des plantes cultivées utilisent pour la détection et l'identification des phytovirus des méthodes biologiques et sérologiques (immunodiffusion et quelquefois le test ELISA) (Gumedzoe, 1988 ; Reddy, 1990 ; Thottappilly *et al.*, 1993). Des contraintes variées (financières, matérielles et institutionnelles etc...) empêchent des progrès dans le domaine du diagnostic des phytovirus dans les états africains (Gumedzoe, 1988).



Principales méthodes de détection et d'identification des Phytovirus

L'objectif principal du virologue étant d'œuvrer dans la perspective d'une lutte préventive ou curative contre les maladies virales des plantes, l'établissement d'un diagnostic correct représente une étape essentielle de sa mission.

Les critères utilisés pour poser un diagnostic sont de ces ordres :

- les uns immédiatement utilisables portent sur l'analyse des symptômes et sur les circonstances entourant l'apparition et le développement d'une maladie déterminée.
- Les autres s'appuient sur des techniques de laboratoire spécifiques, l'étude des caractéristiques biologiques (symptômes, modalité de transmission etc...).
- La microscopie électronique fournit des informations sur la morphologie et les dimensions des particules virales.

Principales méthodes de détection et d'identification des Phytovirus (Suite)

La microscopie électronique couplée à la sérologie est une technique fiable d'identification des phytovirus.

- Enfin, les techniques d'hybridation de l'acide nucléique avec des sondes connues spécifiques, et les nouvelles techniques de PCR et de ses différentes variantes constituent des techniques d'avenir pour le diagnostic des maladies virales des plantes.



Deuxième partie

Quelques expériences pilotes de collaboration entre des virologues des pays en voie de développement et ceux des pays développés.

En vue de faire progresser les recherches en virologie végétale sur le continent africain, différents projets pilotes de collaboration entre Laboratoires du Nord et ceux du Sud ont été initiés en vue de produire des anticorps (tant polyclonaux que monoclonaux) et de mettre au point des tests de diagnostic des phytovirus.

Nous analyserons certains de ces projets pilotes



Cas de deux potyvirus du niébé CAMV et BLCMV

(Thottappilly *et al.*, 1993 ; Huguenot *et al.*, 1992)

Objectif général

Ce projet a pour objectif général d'accélérer l'identification des virus économiquement importants en Afrique en vue de faciliter les études épidémiologiques et de faire développer des variétés de plantes résistantes à l'égard de ces virus.

Stratégie

La stratégie choisie dans ce projet pilote pour l'identification des virus et de l'étude de leur distribution géographique a consisté à produire des anticorps monoclonaux spécifiques aux deux virus (BLCMV et CAMV) et à leurs souches, et à optimiser les tests de diagnostic utilisables en conditions de champs.

Les différentes étapes du projet

- Etablissement d'une collection de virus du niébé suivi de la caractérisation partielle et la production d'anticorps polyclonaux à l'égard de certains d'entre eux (à l'IITA, Ibadan, Nigéria).
- Multiplication et purification des isolats viraux du niébé reconnus comme étant des potyvirus (comparaison de ces isolats avec d'autres références, mise au point des tests de diagnostic, préparation d'anticorps polyclonaux et monoclonaux (VRS, Vancouver, CANADA).
- Sélection des virologues africains à impliquer dans le projet pour la détection des virus du niébé.
- Développement d'outils de diagnostic utilisant des anticorps monoclonaux à l'égard du BLCMV et CAMV.



Les différentes étapes du projet (Suite)

- Séminaire atelier à l'IITA sur l'utilisation des tests sérologiques pour le diagnostic et la détection du BLCMV et CAMV et de leurs souches en utilisant des anticorps monoclonaux.
- Fourniture de trousse de diagnostic aux virologues participant en vue de la conduite de prospection phytosanitaires dans les différents pays et l'identification de BLCMV et CAMV (avec la trousse fournie)
- Compilation des données provenant des différents pays sur l'incidence des deux virus dans les régions et des propositions pour les programmes de sélection et d'amélioration du niébé.
- Application de la même stratégie en vue de l'identification des maladies virales des principales cultures vivrières en Afrique et extension de la phase du projet à d'autres virologues africains.



Les résultats et Critiques

1. Résultats

La première phase (d'une durée de trois ans) du projet pilote a permis de mettre au point et d'appliquer des méthodes sérologiques pour identifier plusieurs virus du niébé : CAMV, BLCMV, CPMV, CMeV et SBMV.

2. Critiques

- Projet très intéressant, mais il manque la dimension multidisciplinaire. De plus, l'approvisionnement des partenaires en antisera n'est plus correctement suivi après la fin du projet.



Cas des viroses du manioc (Projet ICP)

(Fargette *et al.*, 1985 ; Bock et Harrison, 1985 ; Costa et Kitajima, 1972).

Objectifs

Le programme 'International Cassava trans Project' a pour objectif d'appliquer les biotechnologies à l'étude et au contrôle des viroses du manioc et en particulier aux deux maladies virales les plus répandues dans le monde : la mosaïque du manioc en Afrique et la mosaïque commune du manioc en Amérique du Sud. Lorsque l'on aura maîtrisé les techniques de transformation du manioc pour un virus donné, il sera beaucoup plus facile de répéter l'expérience avec d'autres virus du manioc.



Cas des viroses du manioc (Projet ICP)

(Fargette *et al.*, 1985 ; Bock et Harrison, 1985 ; Costa et Kitajima, 1972).

Objectifs (Suite)

Le manioc est, de par le monde, parasité par au moins onze virus appartenant à divers groupes.

L'importance respective de ces virus en terme d'impact économique est peu ou mal connue, sauf pour la mosaïque africaine et la mosaïque commune du manioc.

Le diagnostic de la mosaïque africaine du manioc et, en conséquence, la sélection de plantes saines se font essentiellement par diagnostic visuel (Fargette *et al.*, 1985).

Des anticorps monoclonaux ont été produits à l'égard de ce virus mais non utilisés à grande échelle (Fargette *et al.*, 1988). Des techniques d'hybridation par sondes moléculaires ont été mises au point mais pas vulgarisées.

Stratégie et critiques

Stratégies

La stratégie adoptée a consisté à :

- Constituer une 'Fédération' internationale d'institutions autour du thème 'transformation du manioc'
- Réaliser le programme dans des lieux et avec les chercheurs les plus compétitifs dans chacun des domaines retenus (clonage, transformation, régénération et évaluation).

Critiques

Programme multidisciplinaire assez vaste mais qui n'a pu atteindre ses objectifs pour différentes raisons.



Cas du TSWV (Tomato Spotted Wild Virus) à Hawaï

(Cho *et al.*, 1989; Reddy and Wightman, 1988).

Introduction

Le TSWV affecte sérieusement la productivité des cultures vivrière et ornementales dans le monde entier. Sa gamme d'hôtes est très large incluant 237 espèces appartenant à 46 familles végétales. La tomate, le tabac, l'arachide, la laitue et certaines plantes ornementales sont parmi les cultures affectées par cet agent pathogène.

Compte tenu de l'importance l'épidémie de TSWV dans les productions maraîchères à Hawaï, il a été décidé de faire une revue globale du problème dans le pays. Ensuite, un projet de recherche multidisciplinaire a été initié.

Les objectifs du projet

Les objectifs poursuivis par l'équipe de recherche sont :

1. développer des méthodes rapides de diagnostic
2. développer des connaissances de base sur les relations suivantes :
 - virus - plantes hôtes
 - virus – insectes vecteurs
 - insectes vecteurs – plantes hôtes.
3. développer et évaluer les programmes de lutte contre cette maladie virale à court terme.
4. évaluer les germoplasmes de tomate et de laitue et sélectionner des cultivars résistants de ces espèces à l'égard du TSWV.
5. étudier la possibilité d'utiliser la prémunition comme moyen de lutte.

Le programme multidisciplinaire.

Les promoteurs du projet pilote ont compris qu'il n'était pas possible de trouver une solution facile et rapide pour réduire les pertes causées par le TSWV aux cultures maraîchères.

La nature complexe de la maladie implique que des chercheurs de disciplines différentes participent au projet en vue de développer des méthodes de lutte fiable.



Composition de l'équipe multidisciplinaire

L'équipe de recherche comportait :

- Un entomologiste (spécialiste des problèmes de vulgarisation agricole)
- Des phytopathologistes
- Un virologue moléculaire
- Des entomologistes
- Un malherbologiste
- :des généticiens (amélioration des plantes)
- Deux virologues classiques
- Des producteurs de tomates, de laitue etc...

Composition de l'équipe multidisciplinaire (Suite)

- L'équipe ainsi constituée a reconnu la nécessité de développer des cultivars résistants à l'égard du TSWV en vue de trouver une solution durable au problème posé, mais elle est aussi consciente que cette voie exigerait plusieurs années de travail.
- Un plan d'action a été établi comprenant une liste d'objectifs majeurs et des objectifs subordonnés en vue de mettre au point des méthodes de lutte efficace contre ce virus dans un délai relativement court.
- Le plan d'action a été présenté à l'occasion d'une réunion regroupant les représentants des producteurs, des chercheurs et des spécialistes de la vulgarisation agricole et il a été adopté par l'ensemble des participants.



Résultats

L'approche multidisciplinaire a permis d'obtenir des connaissances de base sur le vecteur, le virus et sur les virus – vecteurs et virus – plantes hôtes.

De même de nouveaux outils de diagnostic ont été développés ; des sondes spécifiques obtenues ont été utilisées pour identifier le TSWV dans différentes espèces végétales.

De même il est envisagé d'utiliser les techniques de l'ADN recombinant pour produire des cultivars de tomate génétiquement résistants.

Conclusion et critiques

- **Conclusion**

Cette approche multidisciplinaire peut être adoptée pour étudier d'autres maladies virales transmises par des insectes.

- **Critiques**

Projet très intéressant, multidisciplinaire et impliquant les producteurs. Si le problème du coût des outils de diagnostic du TSWV est résolu, c'est une telle approche multidisciplinaire, avec une bonne répartition des tâches entre les différents partenaires qu'il faut encourager.



Contraintes

Plusieurs contraintes freinent le développement des travaux de diagnostic et de caractérisation des virus des plantes sur le continent africain, il s'agit entre autres de :

- Du manque de ressources humaines (important de former les jeunes cadres) et financières ;
- De l'absence d'infrastructures et d'équipements adaptés pour les recherches en virologie végétale (équipement pour la purification des virus et pour la production des anticorps monoclonaux, manque de serres etc...) ;
- Du manque de techniciens bien formés pour des travaux en virologie ;
- Difficultés d'accès à l'information scientifique récente (Internet, mais la plupart des données sont protégées à présent).



Contraintes (Suite)

- Difficulté d'accès aux techniques nouvelles d'identification ;
- Des problèmes d'équipement et de maintenance des appareils ;
- Du manque de structures adaptées à la formation des chercheurs et de moyens incitatifs pour maintenir les virologues formés dans le programme ;
- Des difficultés d'approvisionnement rapide en anticorps (et à des prix compétitifs).



Quelques suggestions en vue d'améliorer la situation actuelle.

A la fin de cette présentation, nous pensons que les recommandations suivantes peuvent être **suggérées** pour le futur visant à améliorer la situation actuelle.

1. D'abord, un effort important doit être fait pour assurer la formation d'un personnel compétant dans le domaine de la virologie.
2. Une meilleure utilisation des ressources existantes par une coopération régionale institutionnalisée ou non.
3. La création (ou redynamisation) d'un réseau de virologue travaillant sur les maladies virales des plantes cultivées en Afrique.



Quelques suggestions en vue d'améliorer la situation actuelle (Suite).

4. La création d'un institut international (avec possibilité de décentralisation) de virologie végétale en Afrique doit être sérieusement envisagée. Ce centre aura pour but de développer des techniques de détection (peu coûteuses) des virus des plantes et la production d'anticorps à mettre à la disposition des chercheurs faisant partie des virologues d'Afrique. Il pourra aussi organiser des stages de formation et de sensibilisation pour la reconnaissance des maladies virales des plantes cultivées.
5. Des efforts doivent être développés pour étudier en priorité certaines cultures qui constituent l'alimentation de base de nos populations (en particulier les viroses du maïs, du riz, du manioc, de l'igname et des légumineuses etc...).
6. Améliorer les possibilités d'approvisionnement en réactifs et en trousseaux d'identification des virus par la création de dépôts au niveau de certains laboratoires régionaux.



Conclusion

Il est nécessaire de savoir détecter les virus des plantes souvent de façon précoce afin de mettre en place et très rapidement des mesures de lutte efficace. Nous pouvons regrouper les principales méthodes d'identification des phytovirus en deux grandes catégories.

Conclusion (Suite)

- La première s'adresse directement à la particule proprement dite. On sera donc amené dans ce cas à étudier les constantes biologiques, les propriétés biochimiques et physico-chimiques de la particule virale et de l'acide nucléique.
- La seconde vise l'hôte contaminé chez lequel on détermine les conditions de l'infection (modalités de transmission et les facteurs en jeu) et les modifications d'ordre pathologique apparues (symptomatologie et gamme de plantes hôtes). Un bon repérage précoce des phytovirus nécessite un équipement complexe et coûteux.

Conclusion (Suite)

- En raison de l'insuffisance des infrastructures, de l'absence d'équipements et du manque de soutiens financiers au laboratoire de virologie végétale en Afrique, il est difficile voire impossible à la majorité des virologues africains d'identifier correctement les phytovirus de façon exacte et complète.
- En vue de faire progresser la recherche en virologie végétale sur le continent africain, différents projets pilotes de collaboration entre les laboratoires des pays développés et ceux en développement ont été initiés. Ceux-ci ont pour objectif de produire des anticorps tant polyclonaux que monoclonaux et de mettre au point des tests de diagnostic et des méthodes de lutte à l'égard des virus économiquement importants pour les cultures vivrières.



Conclusion (Suite)

Au cours de notre exposé, nous avons passé en revue trois de ces projets pilotes :

- ❖ L'un concernait l'identification des deux potyvirus du niébé (CAMV et BLCMV) et de leurs souches.
- ❖ Un autre sur l'identification des virus du manioc (ACMV et CCMV en particulier et leurs souches).
- ❖ Un dernier projet multidisciplinaire portait sur un virus très important pour les productions maraîchères, TSWV.

Nous avons analysé les succès et les échecs au niveau de ces projets pilotes, et nous avons formulé un certain nombre de propositions en vue d'augmenter les chances de succès de telles initiatives et de voir leur impact perdurer.

Remerciements

- Merci pour votre aimable attention
- Thank you for your attention

