

Identification et distribution des virus du *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl et *Citrullus* sp. en Côte d'Ivoire

Thérèse Atcham Agneroh *, Kouakou Théodore Kouadio, Koloholotcholofolo Soro, Jean Pohé

Département de Formation et de Recherche Agriculture et Ressources Animales/Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny -Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Végétale B.P. 1313 Yamoussoukro Côte d'Ivoire

*E-mail auteur correspondant : tatchamagneroh@yahoo.fr Téléphone : (225) 08 50 10 01

Mots clés : *Lagenaria siceraria*, *Citrullus* sp., diagnostic sérologique, virus, Côte d'Ivoire

Key words: *Lagenaria siceraria*, *Citrullus* sp., serological testing, viruses, Côte d'Ivoire

1 RESUME

L'état virologique des pistaches *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl et *Citrullus* sp. a été étudié dans les départements de Korhogo, de Bouaké et de Yamoussoukro en Côte d'Ivoire en vue d'envisager la lutte contre leurs virus et d'améliorer leur productivité à travers leur qualité phytosanitaire. Pour ce faire, des échantillons présentant des symptômes de type viral ont été collectés dans ces différentes localités. Ces échantillons, après avoir été séchés au chlorure de calcium, ont été analysés par des tests DAS-ELISA (*Double Antibody Sandwich-Enzyme linked Immunosorbent Assay*), en utilisant quatre antisera anti *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), *Watermelon mosaic virus* (WMV) et *Papaya ringspot virus* (PRSV). Sur 65 échantillons collectés, le CMV, le ZYMV et le PRSV ont pu être identifiés. Le DAS-ELISA a révélé que 84,62% des échantillons sont infectés. En termes d'infection sur les cultures, le PRSV avec 58,46% d'échantillons infectés vient en première position suivi du ZYMV et du CMV infectant respectivement 53,87% et 30,77% des échantillons. Le CMV et le ZYMV ont été identifiés dans les échantillons des trois départements de l'étude alors que le PRSV a été détecté seulement sur les échantillons de *L. siceraria* de Korhogo et de *Citrullus* sp. à Bouaké. Les infections simples de CMV, de ZYMV et de PRSV sont respectivement 3,08%, 7,069% et 23,08% des échantillons analysés. Les doubles infections de CMV+ZYMV, de CMV+PRSV et de ZYMV+PRSV représentent respectivement 15,38%, 4,62% et 23,08% des échantillons testés. La triple infection CMV+ZYMV+PRSV représente 7,69% des échantillons testés.

SUMMARY

The virological state of oil cucurbits such as *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl and *Citrullus* sp. has been studied in the departments of Korhogo, Bouaké and Yamoussoukro in order to consider control measures of their viruses and to improve their productivity through their phytosanitary quality. In that regard, some samples with viral symptoms had been collected in the different areas of the study. All samples, after being dried over calcium chloride, were tested by DAS-ELISA (*Double Antibody Sandwich-Enzyme linked Immunosorbent Assay*) with four antisera anti CMV, ZYMV, WMV and PRSV. *Cucumber mosaic virus*, ZYMV and PRSV were identified from the 65 samples collected. The DAS-ELISA revealed that 84.62% of samples were infected. In terms of infection on the crops, PRSV comes in first place with 58.46% followed by ZYMV and CMV infecting respectively

53.85% and 30.77% of samples. *Cucumber mosaic virus* and ZYMV were found in the samples of the three departments of the study while PRSV was detected only in samples of *L. siceraria* of Korhogo and *Citrullus* sp. of Bouaké. The simple infections by CMV, ZYMV and PRSV are 3.08%, 7.69% and 23.08% of samples tested respectively. The double infections CMV+ZYMV, CMV+PRSV and ZYMV+PRSV represent 15.38%, 4.62% and 23.08% of samples tested respectively. The triple infections CMV+ZYMV+PRSV represent 7.69% of samples tested.

2 INTRODUCTION

Les graines de cucurbites oléagineuses africaines dont *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl communément appelées « pistaches » ou « egousi » sont utilisées dans l'alimentation humaine (Fondio *et al.*, 2000; Vodouhé *et al.*, 2000; Zoro Bi *et al.*, 2003). Elles constituent une source de lipides et de protéines (Achu *et al.*, 2005; Chinyere *et al.*, 2009; Augem *et al.*, 2011; Enzonga-Yoca *et al.*, 2011). En Côte d'Ivoire, elles sont consommées séchées sous forme de pâte pour épaisser les sauces. La sauce pistache est très prisée lors des festivités populaires telles que la fête des ignames chez le peuple Akan (Zoro Bi *et al.*, 2003). Les pistaches représentent une source de revenus pour certains groupes vulnérables notamment les femmes qui les produisent en association avec les principales cultures vivrières (Agence Nationale d'Appui au Développement Rural (ANADER), 2004; Anonyme, 2011). Nettoyées et séchées, elles se vendent à un prix moyen de 1 500FCFA /kg soit presque une fois et demie le prix du kilogramme de cacao et deux fois et demie celui du café. Sur un hectare, il est possible d'obtenir jusqu'à 200 kg de graines de pistache ; ce qui fait une recette de 300 000 FCFA pour la première culture ou 600 000 FCFA /an (Anonyme, 2011).

Malgré leur importance nutritionnelle et socio-économique, les cucurbites africaines oléagineuses demeurent des cultures mineures sujettes aux attaques des ravageurs et aux maladies qui réduisent leur rendement de 40-70 % (Fondio *et al.*, 2000; Vodouhé *et al.*, 2000). Parmi les agents pathogènes, les virus des cucurbites africaines oléagineuses tout comme ceux des autres Cucurbitacées (Provvidenti, 1996; Berger *et al.*, 2005) causent des

symptômes de mosaïques, de chlorose internervaire et de boursouflures sur les feuilles, des fruits difformes, et des plants rabougris (Nono-Womdim, 2001; Mnari-Hattab, 2003; Ali *et al.*, 2004; Verma *et al.*, 2004; Mantri *et al.*, 2005; Dukic *et al.*, 2006; Zeng *et al.*, 2007).

Certaines études ont été déjà menées pour identifier les virus responsables de mosaïques chez *L. siceraria* par Mantri *et al.* (2005) et Madhubala *et al.* (2005) en Inde, Dukic *et al.* (2006) en Serbie, Kim *et al.* (2010) en Birmanie. En Côte d'Ivoire, les travaux de Fauquet et Thouvenel (1987) ont permis d'identifier le virus de la mosaïque du concombre ou *Cucumber mosaic virus* (CMV) et le *Papaya ringspot virus* (PRSV) autrefois appelé *Watermelon mosaic virus* I (WMV I) produisant des mosaïques sur le concombre et la courgette, bien que les pertes de rendement ne soient pas quantifiées. Une étude récente menée au sud de la Côte d'Ivoire sur les mêmes cultures a permis d'identifier en plus du CMV et du PRSV le *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) (Koné *et al.*, 2010). Des prospections effectuées dans le cadre des projets interuniversitaires ciblés entre la Belgique et la Côte d'Ivoire ont permis la collecte de nombreuses variétés de pistaches regroupées en cinq genres : *Citrullus*, *Cucumeropsis*, *Cucumis*, *Cucurbita* et *Lagenaria*, dans le but de l'évaluation moléculaire, l'étude de la biologie reproductive et des essais de micro propagation afin d'améliorer les rendements (Commission Universitaire pour le Développement (CUD), 2007). Des inventaires entomologiques ont été entrepris en station à Yamoussoukro depuis 2008 par le laboratoire de Zoologie Agricole et d'Entomologie de

l’Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB) sur *L. siceraria* et *Citrullus* sp. Les plus récents ont été effectués par Biékré et Kouakou (2010), Nanou (2010) et Soumahoro (2011). Aucune étude n’a jamais été conduite pour décrire la situation virologique des pistaches en Côte d’Ivoire. Cependant des prospections effectuées en 2009 et 2010 par AGNEROH et KOUADIO du laboratoire de Phytopathologie et Biologie Végétale de l’INP-HB sur des champs expérimentaux et paysans de Cucurbitacées dans le département de Yamoussoukro ont révélé la présence de plants de *L. siceraria* sévèrement attaqués par les virus et hébergeant de nombreux insectes (données

3 MATERIEL ET METHODES

3.1 Collecte des isolats de virus : Les échantillons de feuilles de 65 isolats viraux ont été collectés dans diverses zones de production du centre et du nord de la Côte d’Ivoire. *Lagenaria siceraria* (55 échantillons) a été collecté dans les départements de Korhogo et de Yamoussoukro respectivement dans les champs paysans et dans la parcelle expérimentale du Laboratoire d’Entomologie et de Zoologie Agricole de l’INP-HB. Les 10 échantillons de *Citrullus* sp. ont été récoltés à Kanoroba-Bouaké. La collecte de ces échantillons est faite sur la base des symptômes de maladies virales qu’ils présentaient. Les symptômes observés ont été décrits. Après avoir photographié et noté l’incidence de la maladie (le nombre de plants malades sur le nombre de plants total du champ), 2 ou 3 feuilles ont été prélevées par plant. Les feuilles ont été découpées pour chaque échantillon en lanières avec des ciseaux désinfectés à l’alcool et à l’eau de Javel. Elles ont été enroulées sans les tasser à la manière des bonbons dans du papier absorbant pour former quatre rouleaux par échantillon et par pot codé. Chaque isolat a été identifié par un code : la première lettre représente l’initiale du département de collecte de l’échantillon et la deuxième lettre (L ou C) pour désigner soit *L. siceraria* ou *Citrullus* sp. L’on a aussi associé un numéro à ces deux lettres pour la distinction et la numérotation des échantillons. Le conditionnement des échantillons est fait pour une conservation sous déshydratation par la méthode de Bos (1977). Cette conservation se faisait le jour de la collecte pour éviter que les virus perdent leur pouvoir infectieux.

non publiées). Une meilleure connaissance de ces virus s’avère nécessaire afin d’envisager leurs méthodes de lutte et améliorer la productivité des pistaches à travers leur qualité phytosanitaire. C’est pourquoi il nous a paru nécessaire d’aborder cette étude sur le diagnostic des virus de deux espèces de pistaches cultivées en Côte d’Ivoire. L’objectif de ce travail est l’identification, la détermination de l’incidence et de la répartition géographique des quatre virus les plus rencontrés dans le monde et responsables de mosaïque sur les Cucurbitacées à savoir le CMV, le ZYMV, le WMV II et le PRSV sur les pistaches *L. siceraria* et *Citrullus* sp. en Côte d’Ivoire.

Les rouleaux ont été insérés dans des pots de pellicules photo contenant 3,5 g de chlorure de calcium. Ces pots, fermés hermétiquement, ont d’abord été conservés à la température ambiante jusqu’au retour de la collecte. Ensuite ils ont été acheminés au Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Végétale de l’INP-HB de Yamoussoukro et enfin maintenus à 4°C avant la réalisation des tests sérologiques.

3.2 Diagnostic sérologique

3.2.1 Technique d’étude : Afin d’identifier les virus présents dans les deux espèces de pistaches, les échantillons collectés dans les différents départements ont été soumis au DAS-ELISA comme décrit par Clark et Adams (1977). Le principe du DAS-ELISA consiste à révéler les interactions spécifiques entre les antigènes et les anticorps grâce au marquage des immunoglobulines à l’aide d’enzymes telles que la phosphatase alcaline gouvernant une réaction colorée (Astier *et al.*, 2001). Les échantillons ont été testés au Laboratoire de Phytopathologie et Biologie Végétale du Département Agriculture et Ressources Animales de l’INP-HB vis-à-vis de quatre virus responsables de mosaïque chez les Cucurbitacées à savoir le CMV, le PRSV, le WMV (II) et le ZYMV. Des kits complets comportant différents antisera et conjugués et des témoins positifs et négatifs ont été achetés à la structure LOEWE Biochemica GmbH (Sauerlach, Allemagne). Les tests ont été effectués selon les dilutions des réactifs et le nombre de lavages des puits spécifiés à chaque phase du protocole par le fabricant des kits. Les feuilles

séchées de chaque isolat ont été imbibées pendant deux à trois minutes dans le tampon d'extraction (0,2-0,3 g de feuilles / 4ml de tampon) et broyées avec un extracteur manuel à billes (AGDIA Inc. 30380 County Road 6, Elkhart, Indiana 46514-USA). Les jus ont été conservés pendant 24 heures au congélateur à -20°C avant leur utilisation. Les différentes plaques ont été recouvertes avec des anticorps spécifiques dilués dans le tampon de fixation suivant les proportions de 50 µl d'anticorps de recouvrement dans 10 ml de tampon de fixation. Chaque puits a reçu 100 µl du mélange. Les plaques ont été mises à l'étuve pour 4 heures d'incubation à 37°C dans un environnement humide (papier absorbant mouillé) pour permettre aux anticorps de se fixer solidement à la paroi des puits. Après le lavage des plaques par le tampon de lavage, les échantillons ont été mis dans les puits et incubés toute la nuit pendant 16 heures à 4°C. Deux puits successifs étaient utilisés pour chaque échantillon, les contrôles positifs et négatifs. Après une série de lavages, chaque type d'anticorps conjugué à la phosphatase alcaline (50 µl) a été dilué dans 10 ml de tampon du conjugué et déposé dans les puits. Les plaques ont été remises en incubation pendant 4 heures à 37°C et lavées. Le substrat sous forme de comprimé de p-nitrophénol phosphate a été dissout dans les proportions de 10 mg dans 10 ml de

tampon de substrat (pH 9,8). La dissolution a duré 15 minutes à l'obscurité avant le dépôt du substrat dans les puits et une autre série de lavages des plaques. Dans l'obscurité chaque puits a reçu 100 µl de substrat. Les plaques ont été placées dans une chambre noire pour une incubation à la température ambiante. Les lectures de la densité optique ont été effectuées avec un lecteur de plaques (Multiskan plus version 2.01) à 405 nm une heure et deux heures après le dépôt de substrat. Le spectrophotomètre a été relié à une imprimante EPSON LX-800 pour l'impression des résultats.

3.2.2 Analyse des données sérologiques : La valeur de l'absorbance correspondant au seuil de positivité (SP) est calculée avec les densités optiques (D.O) des puits contenant les blancos ou le contrôle négatif de la deuxième lecture (Gassan Köklü et Özgür Yilmaz, 2006). Dans le cadre de cette étude, le SP a été calculé avec les D.O des puits contenant le contrôle négatif par la formule (Sevik et Arli-Sökmen, 2003 ; Mnari *et al.*, 2008) : $SP = 2 \times$ la moyenne des DO à 405 nm des puits ayant reçu le contrôle négatif. Les échantillons déclarés positifs au DAS-ELISA donc virosés étaient ceux pour lesquels la moyenne des DO était supérieure au SP. Les échantillons négatifs étaient ceux pour lesquels la moyenne des DO était inférieure au SP.

4 RESULTATS

4.1 Prospection et la collecte : Les différents symptômes observés dans les parcelles où des feuilles ont été prélevées dans les départements de Korhogo, Bouaké et Yamoussoukro sont les lisérés

de nervures, les chloroses internervaires, les chloroses, les mosaïques, les boursouflures et les déformations foliaires (figures 1, 2, 3, 4 et 5).



Figure 1: Liséré de nervures, mosaïque et déformations foliaires de *L. siceraria* à Korhogo



Figure 2 : Boursouflures sur *L. siceraria* à Korhogo



Figure 3: Mosaïque sur plusieurs feuilles de *L. siceraria* à Yamoussoukro



Figure 4: Mosaïque de feuilles de *L. siceraria* à Yamoussoukro



Figure 5: Mosaïque sur feuilles de *Citrullus* sp. à Bouaké

4.2 Tests sérologiques

4.2.1 Statut sérologique des échantillons : Le statut sérologique des échantillons testés révélé à travers la connaissance de leurs DO et du SP a permis de les regrouper en deux groupes (positifs et négatifs) pour chaque virus. La gamme des valeurs d'absorbances des contrôles positifs variait de 1,387 à 2,950 selon les antisera utilisés. Les DO

des contrôles négatifs (0,103 à 0,393) ont été également relevés pour les plaques de titration utilisées lors des tests. Les échantillons positifs ont donné des DO de 0,2165 à 2,440 (tableau 1). Les pourcentages d'échantillons infectés par chaque virus ou un complexe viral ont été déterminés pour chaque culture et par localité afin d'établir la distribution des virus concernés par l'étude.

Tableau 1 : Gamme des valeurs d'absorbances des contrôles et les échantillons négatifs et positifs

Virus ^a	Valeurs de l'absorbance			
	Contrôles négatifs	Contrôles positifs	Echantillons positifs	Echantillons négatifs
CMV	0,11-0,122	1,387-2,65	0,229-0,589	0,084-0,225
PRSV	0,103-0,188	2,722-2,850	0,2165-0,5535	0,102-0,328
WMV	0,123-0,393	2,708-2,825		0,092-0,3075
ZYMV	0,188-0,196	2,722-2,950	0,238-2,440	0,101-0,3915

^a*Cucumber mosaic virus* (CMV), *Papaya ringspot virus* (PRSV), *Watermelon mosaic virus* (WMV) et *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV).

4.2.2 Infections virales par culture : Pour connaitre l'importance des différents virus sur chacune des cultures de *L. siceraria* et *Citrullus* sp., il

a été établi, dans le tableau 2, les pourcentages d'infections par culture et par virus.

Tableau 2 : Pourcentages d'échantillons infectés par chaque virus

Virus	Nombre d'échantillons infectés		% d'infection / culture		% d'infection / virus
	<i>L. siceraria</i>	<i>Citrullus</i> sp.	<i>L. siceraria</i>	<i>Citrullus</i> sp.	
CMV	24,00	2,00	43,64	20,00	40,00
ZYMV	32,00	2,00	58,18	20,00	52,31
WMV (II)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PRSV	27,00	2,00	49,09	20,00	44,62
Négatifs	7,00	3,00			
Positifs	48,00	7,00	87,27	70,00	84,62
Total	55,00	10,00			

Des quatre virus recherchés (CMV, ZYMV, WMV(II) et PRSV) trois ont pu être révélés par le test sérologique. Ce sont le CMV, le ZYMV et le PRSV. Sur les 65 échantillons testés, 55 sont infectés par au moins un virus des quatre virus identifiés par le DAS-ELISA. Des quatre virus testés, le CMV, le ZYMV et le PRSV ont été retrouvés respectivement dans 40%, 52,31% et 44,62% des échantillons. Les échantillons infectés par au moins un des quatre virus représentent 84,62% du total de tous les échantillons. Le CMV a infecté 43,64% de *L. siceraria*, 20% de *Citrullus* sp., et 40% du total des

échantillons des deux espèces de pistaches de cette étude. Quant au ZYMV, ce virus a été détecté dans 58,18% des échantillons de *L. siceraria*, dans 20% de ceux de *Citrullus* sp. et dans 52,31 % du total des échantillons. Le PRSV a été identifié dans 49,09% des échantillons de *L. siceraria*, puis dans 20% des *Citrullus* sp. et enfin dans 44,62 % de toutes les cultures confondues. Le WMV n'a pu être identifié dans les échantillons soumis au test DAS-ELISA. Les différents types d'infections uniques, doubles et triples sur *L. siceraria* et *Citrullus* sp. sont présentés dans la figure 6.

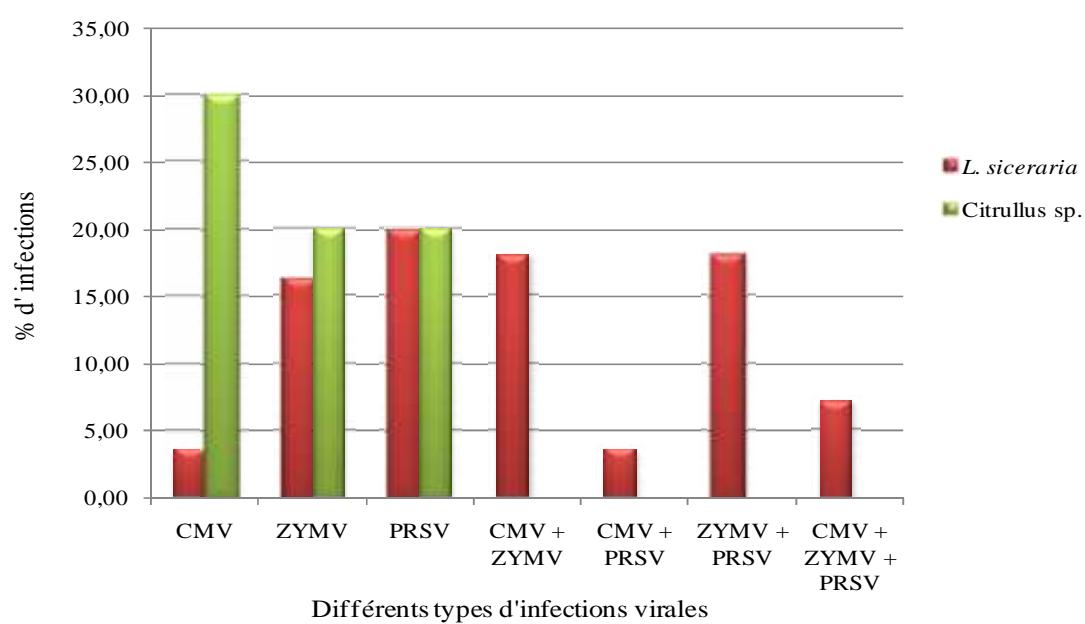


Figure 6 : Pourcentage d'infections virales simples ou multiples par culture

Chez *L. siceraria*, les infections uniques sont de 3,64% pour le CMV, 16,36% pour le ZYMV et 20% pour le PRSV. Les doubles infections CMV+ZYMV, CMV+PRSV et ZYMV+PRSV représentent respectivement 18,18% ; 3,64% et 18,18%. Les triples infections CMV+ZYMV+PRSV ont été identifiées dans 7,27% des échantillons de *L. siceraria*. Chez *Citrullus*

sp. les infections uniques de CMV, de ZYMV et de PRSV sont respectivement de 30% ; 20% et 20%. Il n'y a pas eu de doubles infections révélées sur *Citrullus* sp. testé dans le cadre de l'étude. Le tableau 3 donne les pourcentages des infections uniques, doubles et triples dans les échantillons testés de *L. siceraria* et *Citrullus* sp.

Tableau 3 : Pourcentages des infections uniques ou multiples par culture

Types d'infection	% d'infection/ culture		% Total d'infection
	<i>L. siceraria</i>	<i>Citrullus</i> sp.	
Unique	40,00	12,73	81,12
Double	40,00	0,00	61,54
Triple	7,27	0,00	11,19

Chez *L. siceraria* le taux d'infection unique est de 40%, celui des doubles infections de 40% et la triple infection de 7,27%. Pour les échantillons de *Citrullus* sp. 12,73% ont été infectés par un des trois virus. Aussi chez cette dernière culture, les infections mixtes n'ont pas été identifiées.

4.2.3 Infections virales par localité : La distribution des virus ainsi que le pourcentage d'infection de chaque virus sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Pourcentage des échantillons infectés par chaque virus dans les départements

Virus	Nombre d'échantillons infectés			% d'infection/localité			% d'infection/ virus
	Kgo	Bké	Yakro	Kgo	Bké	Yakro	
CMV	10,00	3,00	8,00	25,00	30,00	53,33	32,31
ZYMV	20,00	2,00	13,00	50,00	20,00	86,67	53,85
WMV (II)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PRSV	25,00	2,00	2,00	62,50	20,00	13,33	44,62
Négatifs	7,00	3,00	0,00				
Positifs	33,00	7,00	15,00	82,50	70,00	100,00	84,62
Total	40,00	10,00	15,00	Total échantillons = 65			

Kgo = Korhogo ; Bké = Bouaké ; Yakro = Yamoussoukro

Le CMV a été identifié dans 25% des échantillons de Korhogo, 30% des échantillons de Bouaké et 53,33% des échantillons de Yamoussoukro. Le pourcentage des échantillons infectés par le ZYMV est de 50% à Korhogo, 20% à Bouaké et 86,67% à Yamoussoukro. Le PRSV est présent dans 62,50% des échantillons de Korhogo, dans 20% de ceux de Bouaké et dans 13,33% de ceux de Yamoussoukro.

Le pourcentage total d'échantillons positifs à au moins un des quatre antisera est de 82,50% à Korhogo, de 70% à Bouaké et 100% à Yamoussoukro. Les figures 7 et 8 présentent respectivement le pourcentage de chaque type d'infection par département et les pourcentages des différentes infections simples et multiples.

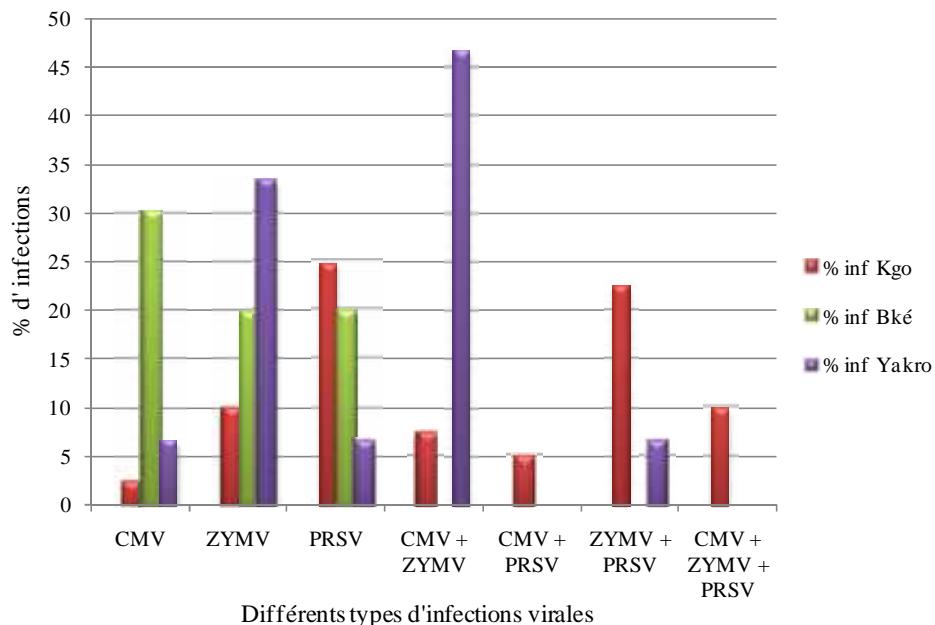


Figure 7 : Pourcentages des infections uniques et multiples par département
 Inf = infection ; Kgo = Korhogo ; Bké = Bouaké ; Yakro = Yamoussoukro

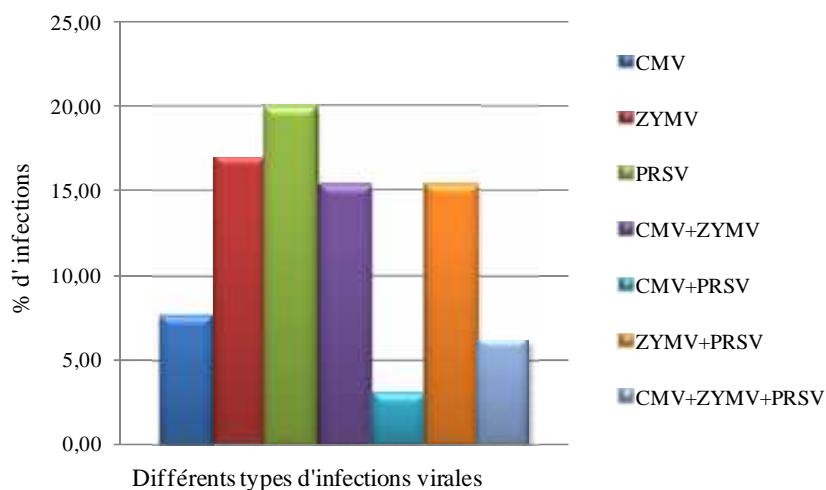


Figure 8 : Pourcentages des différents types d'infections

Les infections uniques totales de CMV, de ZYMV et de PRSV représentent respectivement 7,69% ; 16,92% et 20% des échantillons testés. Les doubles infections de CMV+ZYMV, de CMV+PRSV et de ZYMV+PRSV représentent respectivement

15,38% ; 3,08% et 15,38% des échantillons testés. La triple infection de CMV+ZYMV+PRSV représente 6,15%. Le tableau 5 donne le pourcentage des infections uniques, doubles et triples dans les différents départements.

Tableau 5 : Pourcentages des infections uniques et multiples par département

Types d'infection	Nombre d'infection/ département			% Total d'infection
	Korhogo	Bouaké	Yamoussoukro	
Unique	15,00	7,00	7,00	44,62
Double	14,00	0,00	8,00	33,85
Triple	4,00	0,00	0,00	6,15

Des infections uniques sont révélées sur 44,62% des échantillons. Les infections doubles et triples quant à elles représentent respectivement 33,85% et 6,15% des échantillons. Dans les différents départements, les infections uniques correspondent à 37,5% dans le département de Korhogo, 70% dans celui de Bouaké et 46,67% dans celui de

Yamoussoukro. C'est à Korhogo et à Yamoussoukro que des infections doubles ont été identifiées respectivement dans 35% et 53,33% des échantillons. Concernant l'infection triple, c'est seulement à Korhogo qu'elle fut détectée dans 10% des échantillons de cette localité.

5 DISCUSSION

5.1 Symptômes observés : Les symptômes les plus sévères sur les plantes sont observés dans les cas où il y a eu des triples infections que celles des infections simples et doubles. Sur *Citrullus* sp., seulement des infections uniques ont été révélées par le test DAS-ELISA. Les symptômes les plus sévères ont été observés sur *L. siceraria* chez lequel il y a des infections doubles et même triples, contrairement à *Citrullus* sp. Cette observation suggère que les pertes de récoltes seraient probablement plus significatives dans les cas où il y a eu plus d'un virus à cause de l'effet synergique des virus qui infectent les Cucurbitacées, comme mentionné par Luis-Arteaga *et al.* (1998).

5.2 Incidence des différents virus : Les résultats de ce premier travail sur les virus de ces deux pistaches oléagineuses montrent que le CMV, le ZYMV et PRSV infectent les cucurbites à Korhogo, Bouaké et Yamoussoukro. Une étude faite au Brésil en Amérique du Sud, sur cinq virus à savoir les quatre de notre étude plus le *Zucchini leaf mosaic virus* (ZLMV) avait révélé seulement la présence de trois de ces virus sur *L. siceraria* (Yuki *et al.*, 2000). Des études réalisées en 2004 et 2005 en Inde, un pays de l'Asie sur *L. siceraria* ont permis d'identifier également le CMV, le PRSV et le ZYMV sur cette culture (Verma *et al.*, 2004 ; Mantri *et al.*, 2005). Une autre étude menée en Serbie sur *L. siceraria* dans le sud-est de l'Europe par Dukic *et al.*, (2006) a permis d'identifier en plus du CMV et du ZYMV, le WMV. Par ailleurs, le WMV n'a pas été identifié dans les échantillons soumis aux tests ELISA de notre étude. Sur *L. siceraria* avec un taux

d'infection de 58,18%, le ZYMV représente le virus le plus important suivi respectivement du PRSV et du CMV. Le ZYMV est le virus le plus prépondérant en termes de nombre d'échantillons infectés. Ce virus a déjà été identifié sur la courgette et le concombre par Koné *et al.* (2010). Les cucurbites sauvages virosées présentes dans l'environnement immédiat des cultures peuvent constituer une source d'inoculum de ce virus. Aussi une présence massive de pucerons a été observée sur les cultures de *L. siceraria* à Korhogo et à Bouaké. Ces pucerons peuvent être ceux qui transmettent plus efficacement le ZYMV que les autres virus en présence. Sur *Citrullus* sp. les virus CMV, ZYMV et PRSV ont infecté tous 20% des échantillons. Ici nous pouvons dire que cette espèce est faiblement infectée par rapport à *L. siceraria*. Cependant, l'espèce n'étant pas spécifiée toute comparaison ou similarité devient difficile.

L'analyse des échantillons provenant de Korhogo montre que le PRSV avec 62,50% d'infection est le virus prépondérant sur *L. siceraria* dans cette partie du pays. A Bouaké c'est le CMV avec 30% d'échantillons infectés qui est le virus prépondérant. Le ZYMV qui a infecté 86,67% des échantillons de *L. siceraria* prédomine ainsi sur le CMV et le PRSV dans cette localité. Les trois virus CMV, ZYMV et PRSV sont tous présents dans les trois départements de l'étude. Le CMV, le ZYMV et le PRSV (Diallo *et al.*, 2007) ont été détectés dans les échantillons de concombre et de courgette dans le sud de la Côte d'Ivoire (Koné *et al.*, 2010). Cela peut avoir pour raison les échanges commerciaux de

plantes hôtes cultivées de ces virus qui ont lieu entre les pays frontaliers à la Côte d'Ivoire. Le ZYMV a été découvert au Mali en 2010 sur le concombre, une cucurbitoleagineuse et sur un melon non identifié (*Cucumis* sp.) (Tsai *et al.*, 2010). Dans le cas de cette étude du Mali, seulement le ZYMV a pu être identifié dans les échantillons testés. Le ZYMV pourrait être l'un des virus les plus prépondérants en Afrique de l'Ouest. Aussi cette prévalence du ZYMV peut bien changer d'une année à une autre si l'on a une très grande destruction des hôtes alternatifs comme cela fut le cas en France (Lecoq, 2011). Quant au CMV, il a de nombreuses plantes hôtes cultivées ou spontanées en Côte d'Ivoire (Fauquet et Thouvenel, 1987; Aka *et al.*, 2009 ; Koné *et al.*, 2010). Aucun échantillon collecté dans la parcelle en monoculture de *L. siceraria* à Korhogo ne présentait des infections virales au CMV. Par contre c'est là où il y a eu une association *L. siceraria*-patate douce qu'on a obtenu des échantillons infectés par le CMV. En effet, en Côte d'Ivoire la patate douce a déjà été identifiée comme étant un hôte du CMV par Fauquet et Thouvenel (1987). Si la patate douce est infectée, elle devient une source d'inoculum du CMV. Les insectes après acquisition du CMV à partir de la patate l'inoculeraient immédiatement à *L. siceraria*. Aussi les insectes vecteurs auront un hôte alternatif après avoir transmis le CMV au *L. siceraria*. Cela va consister à accroître l'incidence de la maladie dans le

6 CONCLUSION

Sur les quatre virus recherchés, les résultats des analyses sérologiques ont permis d'identifier trois virus qui sont le CMV, le ZYMV et le PRSV sur les deux cultures. Le CMV et le ZYMV ont été détectés dans les échantillons de chacun des trois départements prospectés. Quant au PRSV, il a été détecté dans les échantillons de Korhogo et de Yamoussoukro. Le CMV, le ZYMV et PRSV sont non seulement présents sur les pistaches, mais aussi dans les départements de Korhogo, de Yamoussoukro et de Bouaké. A Korhogo, c'est le PRSV qui a été identifié comme le virus prépondérant, suivi du ZYMV et du CMV. Le CMV est plus important à Bouaké suivi du ZYMV et du PRSV. Par contre, à Yamoussoukro, le ZYMV a été révélé comme le virus prépondérant sur le CMV. Aucun échantillon infecté par le WMV n'a pu être révélé par cette étude. Les échantillons testés positifs aux virus représentent 84,62%. Compte tenu de la présence et de l'impact économique de

champ. Le WMV n'a pas été détecté dans les échantillons que nous avons analysés.

Les quatre antisera utilisés dans le cadre de cette étude ne nous ont pas permis de détecter la présence de virus dans dix échantillons. Cette absence d'infection virale peut être due à d'autres virus de Cucurbitacées déjà étudiés tels que le nouveau virus de *Lagenaria siceraria*, le *Potexvirus*, le La MMov (*Lagenaria mild mosaic virus*) identifié par Kim *et al.* (2010) en Birmanie ou bien le *Squash mosaic virus* (SqMV, *Comovirus*), le *Zucchini yellow fleck virus* (ZYFV, *Potyvirus*), le *Melon necrotic spot virus* (MNSV, *Carmovirus*), le *Moroccan watermelon mosaic virus* (MWMV, *Potyvirus*) (Yuki *et al.*, 2000 ; Mnari *et al.*, 2008). Aussi l'utilisation d'autres antisera spécifiques à ces virus pourraient permettre de les révéler dans ces dix échantillons n'ayant pas réagi au test sérologique. Les autres facteurs responsables de ces réactions négatives aux tests ELISA seraient la faible concentration des particules virales dans les échantillons soumis aux tests ou des facteurs abiotiques provoquant des symptômes semblables à ceux de virus des plantes qui restent à expliquer. L'identification d'infections simples et mixtes dans un même champ peut être expliquée par le fait que dans un champ les symptômes observés ne sont pas forcément dus à un seul ou même virus. Aussi certaines plantes peuvent échapper à la piqûre d'insectes virulifères.

certaines viroses dans l'agriculture ivoirienne, une amélioration du rendement des pistaches nécessite la prise en compte de la situation virologique. Nous proposons que des tests PCR (*Polymerase chain reaction*) soient réalisés pour la caractérisation moléculaire des isolats. Cette caractérisation moléculaire pourra servir dans le cadre des programmes d'améliorations génétiques à la mise en place de variétés résistantes. La microscopie électronique permettrait aussi de déterminer la morphologie des virus.

Cette étude a permis de mettre à jour les plantes hôtes des virus déjà découverts en Côte d'Ivoire. Elle peut aussi servir de base pour poursuivre la mise en place de variétés résistantes et tolérantes. Les prospections démarquées dans la partie nord du pays devraient être reprises afin d'avoir une situation des virus des pistaches sur l'ensemble du territoire ivoirien.

7 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Achu MB, Fokou E, Tchiégang C, Fotso M and Tchouanguep FM: 2005. Nutritive value of some Cucurbitaceae oilseeds from different regions in Cameroon. *African Journal of Biotechnology* 4 (11):1329-1334.
- Aka A R, Kouassi NK, Agneroh TA, Amancho NA et Sangaré A: 2009. Distribution et incidence de la mosaïque du concombre (CMV) dans des bananeraies industrielles au Sud-est de la Côte d'Ivoire. *Sciences et Nature* 6 (2): 171-183.
- Anonyme : 2011. La pistache africaine, la plante qui rapporte 300 mille à l'hectare. Emploi et business /Business Agricole : A la découverte des richesses de la pistache africaine. Le Journal de l'Economie N°127 du Lundi 10 au dimanche 26 octobre 2011. Marius Nouza. P 8.
- Ali A, Natsuaki T and Okuda S: 2004. Identification and molecular characterization of viruses infecting cucurbits in Pakistan. *Journal of Phytopathology* 152 : 677-682.
- ANADER : 2004. Rapport d'activité 2003, Zone d'Abengourou. 82pp.
- Astier S, Albouy J, Maury Y et Lecoq H: 2001. Principe de virologie végétale, génome, pouvoir pathogène, écologie des virus. Ed, INRA, p. 242.
- Augem V, Baert D et Telliez A: 2011. Valorisation d'un produit d'origine congolaise / Graines de *Cucumeropsis mannii*. Projets Etudiants IAAL4-année 2010-2011. Polytech'Lille-département IAAL.Pp1-16.
- Berger PH, Adams MJ, Barnett OW, Brunt AA, Hammond J, Hill JH et al. 2005. Family *Potiviridae*. In: Virus Taxonomy, VIIIth Report of the ICTV (Ed. Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U & Ball LA) pp: 819-841, Elsevier/Academic Press, London (GB).
- Biékré AS et Kouakou OK: 2010. Etude des populations des principaux insectes ravageurs des pistaches et leur impact sur la production. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur des Techniques Agricoles. Ecole de Formation Continue et de Perfectionnement des Cadres / Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny, Yamoussoukro. 53 pages.
- Bos L: 1977. Persistence of infectivity of three viruses in plant material dried over CaCl₂ and stored under different conditions. *Neth. J. Pl. Path.* 83: 217-220.
- Chinyere CG, Akubugwo EI, Chinene NI and Ugbogu AE: 2009. Nutritive value of *Lagenaria sphaerica* seed (Wild bottle gourds) from South-Eastern Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition* 8 (3): 284-287.
- Clark MF and Adams AN: 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34 : 475-483.
- Commission Universitaire pour le Développement (CUD) : 2007. Côte d'Ivoire : valorisation des cultures vivrières mineures de Côte d'Ivoire-cas des pistaches (*Cucurbitaceae* à graines consommées en sauce). Rapport annuel 2006/ Projet(s) Interuniversitaire(s) ciblé(s) 2004-2007. *Monique Goyens*.Pp 41 et 61.
- Diallo HA, Monger W, Kouassi N, Yoro D T and Jones P: 2007. Abstract. First report of *Papaya ringspot virus* infecting papaya in Côte d'Ivoire. *Plant Pathology* 56 (4): 718.
- Dukic N, Krstic B, Vico I, Berenji J and Duduk B: 2006. Abstract. First report of *Zucchini yellow mosaic virus*, *Watermelon mosaic virus* and *Cucumber mosaic virus* in Bottlegourd (*Lagenaria siceraria*) in Serbia. *Plant Dis.* 90 (3): 380.
- Enzonga-Yoca JA, Nitou JG, Kippré Allou V, Niamayoua RK, Mvoula-Tsieri M et Silou T: 2011. Caractérisation chimique et évaluation de la température de conservation du lait des grains de Cucurbitacées : *Cucumeropsis mannii* et *Citrullus lanatus*. *Journal of Animal and Plant Sciences* 10 (1): 1232-1238.
- Fauquet, C et Thouvenel, J-C: 1987. Les maladies virales des plantes en Côte d'Ivoire. Editions de l'ORSTOM. Institut Français de Recherches Scientifique pour le développement en Coopération. Collections Initiations-Documents

- Techniques n°46. ORSTOM-PARIS. Pp. 83-86 & 99-106.
- Fondio L, Kouamé C et Djidia AH : 2000. Rapport d'avancement du projet de développement de la culture de la tomate et des plantes oléagineuses en région centre-Bouaké, Côte d'Ivoire : CNRA. 257 pages.
- Gassan Köklü and Özgür Yilmaz: 2006. Occurrence of cucurbit viruses on field-grown melon and watermelon in the Thrace region of Turkey. *Phytoprotection* 87 (3): 123-130.
- Kim O-K, Mizutani T, Soe K, Lee K-W and Natsuaki KT. 2010. Characterization of *Lagenaria mild mosaic virus*, a New *Potexvirus* from bottle gourd in Myanmar. *Plant Dis.* 94: 1225-1230.
- Koné D, Aké A, Abo K, Soro S, N'guessan CA, Wipf-Scheibel C, Chandeysson C, Desbiez C and Lecoq H: 2010. Abstract. First report of *Zucchini yellow mosaic virus* in Cucurbits in Ivory Coast. *Plant Dis.* 94 (11): 1378.
- Lecoq H, Wipf-Scheibel C, Chandeysson C, Fabre F et Desbiez C: 2011. Epidémiologie moléculaire du *Zucchini yellow mosaic virus*: retour sur 30 années d'observations et perspectives. 13 èmes Rencontres de Virologie Végétale-Aussois-2011/ 01/ 16-20. P 45.
- Luis-Artega M, Alvarez JM, Alonso-Prados JL, Bernal JJ, Gracia-Arenal F, Lavina A, Battle A and Moriones E: 1998. Occurrence, distribution, and relative incidence of mosaic viruses infecting field-grown melon in Spain. *Plant Dis.* 82: 979-982.
- Madhubala R, Bhadramurthy V, BhatAI, Hareesh PS, Retheesh ST and BhaiRS: 2005. Occurrence of *Cucumber mosaic virus* on vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) in India. *J. Biosci.* 30 (3):339-350.
- Mantri NL, Kitkaru AS, Misal MB and Ravi KS: 2005. Abstract. First report of *Papaya ringspot virus W* in bottle gourd (*Lagenaria siceraria*) from India. *Plant Pathology* 54: 806.
- Mnari-Hattab M, Jebari H et Zouba A: 2008. Identification et distribution des virus responsables de mosaïques chez les Cucurbitacées en Tunisie. *Bulletin OEPP/EPPO* 38 : 497-506.
- Mnari-Hattab M : 2003. Les maladies virales chez les Cucurbitacées en Tunisie et conduite prophylactique. Actes du Colloque Scientifique et Technique sur la pastèque, Tunis, 6-8 Mars 2003 Edition Jebari.
- Nanou KFO : 2010. Etude de la dynamique de l'entomofaune associée à *Lagenaria siceraria* cultivée seule ou en association avec *Manihot esculenta* ou avec *Dioscorea alata*. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Agronomie Approfondie- option Défense des Cultures. INP-HB, ESA, 53pp.
- Nono-Womdim R. 2001. An overview of major virus diseases of vegetable crops in Africa and some aspects of their control. Plant Virology in Sub-Saharan Africa Conference, IITA, Croydon (GBR), pp: 213-232.
- Provvidenti R: 1996. Disease caused by viruses. In: *Compendium of Curcubits Diseases* (Eds. Zitter TA, Hopkins DL & Thomas CE), pp. 37-45. APS press, St Paul, MN (USA).
- Sevik MA and Arli-Sökmen M. 2003. Viruses infecting cucurbits in Samsun, Turkey. *Plant Dis.* 87: 341-344.
- Soumahoro G : 2011. Etude de l'entomofaune associée à *Citrullus lanatus* cultivée en monoculture et en association avec *Manihot esculenta* ou avec *Dioscorea alata*. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur des Techniques. Ecole de Formation Continue et de Perfectionnement des Cadres / Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny, Yamoussoukro. 49 pages.
- Tsai WS, Abdourhamane IK., Knierim D, Wang JT and Kenyon L: 2010. Abstract. First report of *Zucchini yellow mosaic virus* associated with leaf crinkle and yellow mosaic diseases of cucurbits plants in Mali. *Plant Dis.* 94 (7): 923.
- Verma R, Ahlawat YS, Tomer SPS, Prakash S and Pant RP: 2004. Abstract. First report of *Zucchini yellow mosaic virus* in Bottlegourd (*Lagenaria siceraria*) in India. *Plant Dis.* 88: 426.
- Vodouhé S, Kouke A, Adjakidje V. et Achigan E: 2000. Observation sur la diversité génétique du egussi au Bénin (*Citrullus* spp.; *Cucumeropsis* spp.; *Lagenaria siceraria*; *Cucurbitaceae*). Cotonou, Bénin: IPGRI.



- Yuki VA, Rezende JAM, Kitajima EW, Barroso PAV, Kuniyuki H, Groppo GA and Pavan MA : 2000. Occurrence, distribution, and relative incidence of five viruses infecting cucurbits in the state of Sao Paulo, Brazil. *Plant Dis.* 84: 516-520.
- Zeng R, Liao Q, Feng J, Li D and Chen J: 2007. Synergy between *Cucumber mosaic virus* and *Zucchini yellow mosaic virus* on *Cucurbitaceae* Hosts Tested by Real-time Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction. *Acta Biochimica et Biophysica. Sinica* 39 (6): 431-437.
- Zoro Bi IA, Koffi KK et Dje Y: 2003. Caractérisation botanique et agronomique de trois espèces de cucurbites consommées en sauce en Afrique de l'Ouest : *Citrullus* sp., *Cucumeropsis mannii* Naudin et *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 7 (3-4) : 189-199.