



THÈSE

Pour l'obtention du **Diplôme de Doctorat**

Domaine : Sciences Exactes et Naturelles

Formation Doctorale : Sciences Biologiques (FD-SBIO)

Spécialité : Biologie et physiologie Végétale

Option : Physiologie et Production Végétale (PPV)

Présentée et soutenue publiquement le 24 février 2022

par

Mme VALAM ZANGO Adonise Francielle

Titulaire d'un Master de Biochimie Appliquée

TITRE :

La mosaïque africaine du manioc en Afrique centrale : Caractérisation moléculaire des begomovirus et évaluation variétale

DIRECTEUR DE THÈSE : Fidèle MIALOUNDAMA, Professeur Émérite CAMES

COMPOSITION DU JURY

Président :	DIATEWA Martin	Professeur, Université Marien NGOUABI Brazzaville (Congo)
Rapporteur externe :	MONDE Godefroid	Professeur, IFSA, Yangambi (RDC)
Rapporteur interne :	ATTIBAYEBA	Professeur, Université Marien NGOUABI Brazzaville (Congo)
Examineur :	NGUIMBI Etienne	Professeur, Université Marien Ngouabi, Brazzaville (Congo)
Directeur de Thèse :	Fidèle MIALOUNDAMA	Professeur émérite, Université Marien NGOUABI Brazzaville (Congo)
Co- Directeur :	Joseph MABANZA	Maître de recherche, DGRST (Congo)

DÉDICACE ET REMERCIEMENTS

DÉDICACE

*A mon mari : Paulin Narcisse **MBANGAPOU***

*A mes enfants : Luciana Rosiana Miséricorde **MBANGAPOU N'GOAMÉ** et Triomphe Israël Nardoni
MBANGAPOU N'GOAMÉ*

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans trois différents laboratoires de recherches : le Centre de Recherche sur l'Amélioration Génétique des plantes (CERAG) de Brazzaville au Congo, le Centre International de Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD 3P) de la Réunion en France et le Laboratoire des Sciences Biologiques et Agronomiques pour le Développement (LASBAD) à l'Université de Bangui en Centrafrique, sous les bienveillantes responsabilités du Dr Claude Armand M'VILLA, du Dr Jean-Michel LETT et du Dr Innocent ZINGA, auxquels j'exprime ma vive gratitude pour les nombreux conseils qu'ils m'ont donnés, les moyens matériels qu'ils ont mis à ma disposition et pour la confiance totale qu'ils m'ont témoignée. Surtout au Dr ZINGA qui a déployé des grands efforts pour la réussite de cette thèse par son encadrement.

Mes sincères remerciements vont à l'endroit de plusieurs Organismes, Institutions et personnes qui ont soutenu ce travail :

- Pôle Régional de recherche Appliquée au Développement des Systèmes agricoles d'Afrique Centrale (PRASAC) qui a toujours été le moteur de ce travail.
- Programme d'Appui à la Recherche en Réseau en Afrique (PARRAF) qui à travers le projet Protection des Végétaux (ProVeg), a appuyé une partie de ma formation en biologie moléculaire.
- Agence Internationale de l'Énergie Atomique (AIEA) et Organisation des Nations Unies pour l'Éducation, la Science et la Culture (UNESCO), la Coopération Française pour leurs soutiens à des séjours de formations en biotechnologie végétale, en rédactions scientifiques et analyses des données.

J'exprime ma gratitude à l'équipe de la formation doctorale en Sciences Biologiques de l'Université Marien Ngouabi de Brazzaville (Congo) pour avoir accepté avec bon cœur mon inscription en thèse.

Je remercie le Pr Fidèle MIALOUNDAMA de l'Université Marien Ngouabi de Brazzaville, d'avoir accepté de diriger ce travail.

Mes sincères remerciements vont à l'endroit du Dr Joseph MABANZA, membre de la formation doctorale en Sciences Biologiques de l'Université Marien Ngouabi de Brazzaville (Congo) et en même temps l'encadreur de cette thèse. Votre rigueur dans le travail et la rédaction, votre ténacité à l'aboutissement de cette thèse m'a toujours encouragé à continuer le chemin de la recherche. Je n'oublierai pas nos multiples photos faites lors de votre mission en Centrafrique.

J'exprime ma gratitude aux membres du jury qui ont accepté d'être présents à la soutenance et d'apporter des des éléments pouvant améliorer la qualité de ce travail.

À tous les chercheurs du CERAG : Dr Françoise OTABO, Mme MABANZA, M. Jean Claude BAMBOU, M. MATOKO, M. MBEMBE et tous les techniciens, je vous remercie pour vos formations et conseils.

Pour vous Pr SILLA SEMBALLA, le doyen de la faculté des sciences de l'Université de Bangui. Vous avez toujours été attentif à mes difficultés depuis le master lorsque vous étiez le directeur de LASBAD, vous n'avez jamais accepté des erreurs, aujourd'hui l'honneur est à vous.

J'exprime toute ma gratitude à L'équipe du laboratoire des Sciences Biologiques et Agronomiques pour le Développement (LASBAD) ; les docteurs : KOSH-KOMBA Éphrem, DETHOUA Mariette, MAKATIA S. Patricia, DAGUIA John Clotaire, MANDJEKA J. C. Amédée, ABA TOUMNOU Lucie, NZOUMBOU-BOKO Romaric, TOCKO MARABENA B. Kette, YANDIA Prosper, BALLOT Christiant, LONGUE Dimitri Régis et KAMBA Emanuel ; les doctorants : LAKOUE TENE D. P Béranger, MOÏTA NASSY L. Marielle, YANGAKOLA T. Maryse, GBAKOMA Wilfried, KOLA DOLI Alain, DOUBRO BO-MBI Arnaud, GADO Nicole, NGUEREPENDE Odilon, REO NDOUBA Rufin, LAKOUE Yvette et TAWALA Saint Cyr ; les stagiaires : BAKONDJA Parfait, BEMOLINDA Charly. Je vous témoigne toute ma reconnaissance.

Au Dr Guy- Florent ANKOGUI, directeur du Laboratoire de Cartographie, de Climatologie des Etudes Géographiques (LACCEG) en même temps animateur du module de renforcement des capacités du PRASAC, je vous remercie pour la main que vous m'avez toujours tendue.

Mes remerciements vont également à l'endroit de l'équipe du CIRAD 3P sans oublier l'équipe médicale de l'hôpital Saint - Pierre de la Réunion (FRANCE) dont votre contribution et votre collaboration ne m'ont jamais manqué.

Pour les familles : VALAM, MBANGAPOU, NGOLLO, ZANGO, OUANGALA, ZABO, MBILLAUT, DALLY, NGBAYANGUERE, KPATA, NAÏGUI, tous mes frères et sœurs, oncles, tantes, cousins et cousines, neveux et nièces, beaux-frères et belles sœurs, je vous exprime mes sincères reconnaissances pour vos encouragements, conseils et soutiens.

Je remercie particulièrement MADENG Marie Joelle, toi qui as été à l'écoute de mes difficultés, de mes douleurs. Merci pour tout.

A ma sœur cadette Mme OUANGALA née VALAM Lidwine, la vie n'était pas facile pour nous après la mort de nos parents et étant adolescentes nous avons pris notre avenir en main, voici le fruit de ce que nous avons semé il y a longtemps. Je te remercie infiniment.

A vous, mes feux parents, qui m'ont éduqué et m'ont montré le chemin de l'école, que ce document témoigne du fruit de vos souffrances et que vos âmes reposent en paix.

TABLE DE MATIÈRES

DÉDICACE ET REMERCIEMENT.....	i
PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES.....	vi
TABLE DE MATIÈRE.....	viii
ACRONYMES ET ABRÉVIATIONS.....	xi
LISTE DE FIGURES ET TABLEAUX.....	xv
INTRODUCTION.....	1
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	7
1.1 Généralité sur le manioc	10
1.1.1 Origine.....	10
1.1.2 Systématique	11
1.1.3 Description Botanique.....	11
1.1.4 Utilisations du manioc.....	13
1.1.5 Importance nutritionnelle.....	14
1.1.6 Production du manioc en Afrique et dans le monde	15
1.1.7 Production de manioc dans les pays de la CEMAC.....	16
1.2 Maladies et ravageurs.....	17
1.2.1 Les principaux ravageurs	17
1.2.1.1. Les cochenilles.....	17
1.2.1.2. Les acariens verts.....	18
1.2.2. Les principales maladies	19
1.2.2.1 La maladie de la striure brune de manioc (CBSD).....	19
1.2.2.2 La maladie de la mosaïque africaine du manioc (MAM).....	20
II. MATERIEL ET METHODES.....	42
2.1 Zone d'étude.....	43
2.2 Site de collecte des échantillons.....	45
2.3 Site d'expérimentation.....	46
2.3.1 Site d'expérimentation champs école paysan	46
2.3.2 Lieu de l'expérimentation <i>in vitro</i>	47
2.2.2 Matériel de terrain.....	49
2.2.3 Matériel de laboratoire	49
2.5 Méthodes.....	49
2.5.1 Caractérisation moléculaire des begomovirus impliquées dans la MAM.....	49

2.5.1.1 Echantillonnage	49
2.5.1.2 Prélèvement des échantillons	49
2.5.1.3. Extraction d'ADN total.....	50
2.5.1.3.1 Extraction par le CTAB	50
2.5.1.3.2. Extraction à l'aide du Kit DNeasy® de Qiagen	50
2.5.1.4 Amplification PCR des begomovirus du manioc	50
2.5.1.4.1 Amorces utilisées	50
2.5.1.4.2 Composition des mix et programmes PCR	50
2.5.1.5 Electrophorèse sur gel d'agarose	53
2.5.1.6. Séquençage partiel des produits PCR.....	53
2.5.1.7. Clonage des génomes complets (ADN génomiques)	53
2.5.1.8 Traitement des données.....	57
2.5.2 Evaluation de l'impact de la MAM sur les variétés de manioc	57
2.5.2.1 Echantillonnage	57
2.5.2.4 Conduite expérimentale	58
2.5.2.5 Collecte des feuilles pour la détection des Begomovirus du manioc.....	59
2.5.2.6 Analyse et traitement des données	60
2.5.3 Lutte contre la MAM par l'utilisation des boutures de manioc infectées.....	60
2.5.3.1 Echantillonnage	60
2.5.3.2 Traitement par la thérapie	60
2.5.3.3 Préparation des milieux de culture	60
2.5.3.4. Culture des méristèmes et des fragments de tiges	61
2.5.3.5 Multiplication in vitro	61
2.5.3.6 Sevrage des vitro plants	62
2.5.3.8 Durcissement	62
2.5.3.9 Détection des virus de la mosaïque sur les plants de manioc sevrés	62
2.5.3.10 Paramètres étudiés et analyses des données	62
III RESULTATS ET DISCUSSION.....	63
3.1 Résultats.....	64
3.1.1 Caractérisation moléculaire des begomovirus impliquées dans la MAM	64
3.1.1.1 Diagnostic des espèces virales par la PCR	64
3.1.1.2. Le séquençage des produits PCR	67
3.1.1.3. Séquençage des génomes complets.....	67
3.1.1.4 Phylogénie	68

3.1.1.5 Répartition géographique des espèces virales	71
3.1.2 Evaluation de l'impact de la MAM sur les variétés de manioc	72
3.1.2.1 Incidence de la maladie.....	72
3.1.2.2 Sévérité de la mosaïque	72
3.1.2.3 Densité des mouches blanches.....	73
3.1.2.4 La taille des tiges de manioc	73
3.1.2.5 La circonférence des tiges de manioc.....	74
3.1.2.6 Nombre de tubercules	75
3.1.2.7 Rendement.....	75
3.1.2.8 Détection des virus.....	76
3.1.3 Lutte contre la MAM par l'utilisation des boutures de manioc infectées	76
3.1.3.1 Effet de la thermothérapie sur l'incidence et la sévérité de la mosaïque	76
3.1.3.2 Culture des méristèmes et des fragments de tiges	77
3.1.3.3 Taux de réussite d'acclimatation des vitroplants.....	78
3.1.3.4 Nombre des feuilles développées sur les vitroplants sevrés	78
3.1.3.5 Détection des begomovirus sur les plantes sevrées	78
3.2 Discussion	
3.2.1 Caractérisation moléculaire des begomovirus impliquées dans la MAM	79
3.2.2 Evaluation de l'impact de la MAM sur des variétés de manioc	81
3.2.3 Lutte contre la MAM par l'utilisation des boutures de manioc infectées.....	83
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	85
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	88
ANNEXES.....	104
ARTICLES.....	125

ACRONYMES ET ABRÉVIATIONS

Acronymes

ACMBFV : African cassava mosaic Burkina Faso virus

ACMV : African cassava mosaic virus

BCTV : Beet curly top virus

BeYDV : Bean yellow dwarf virus

CMMGV : Cassava mosaic Madagascar virus

EACMCV : East African cassava mosaic Cameroun virus

EACMKV : East African cassava mosaic Kenya virus

EACMMV : East African cassava mosaic Malawi virus

EACMV : East African cassava Malawi virus

EACMZV : East African cassava mosaic Zamby virus

ICMV : Indian cassava mosaic virus

MSV : Maize streak virus

SACMV : South African cassava mosaic virus

TGMTV : Tobacco golden mosaic virus

TPCTV : Tomato pseudo curly top virus

TYDV : Tobacco yellow dwarf virus

TYLCV : Tomato yellow leaf curl virus

Abréviations

3P: Pôle de Protection des Plantes

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADN-A : Composant A du génome des Begomovirus

ADN-B : Composant B du génome des Begomovirus

ADNsb : Acide désoxyribonucléique simple brin

ADN β : Acide désoxyribonucléique β

AIEA : Agence Internationale de l'Energie Atomique

ANOVA : Analysis of Variance

ARN : Acide Ribonucléique

BamHI : Enzyme de restriction produit par la souche bactérienne Bacillus

Bp : Paire de bases

CEMAC : Comité Economique et Monétaire de l'Afrique Centrale

CERAG : Centre d'Etude sur la recherche en Amélioration Génétique

CIRAD : Centre International de la Recherche Agronomique pour le Développement

CMD : Cassava mosaic disease
CP : Protéine de Capside
CTA : Centre Technique Agricole.
dNTP : désoxynucléotide triphosphate
EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique
ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (Test immunoenzymatique)
FAO : Food and Agriculture Organization
FAOSTAT : Statistic Food and Agricultural Organization
FNUAP : Fond des Nations Unies pour la Population
GenBank : Banque de données génomiques des Etats-Unis d'Amérique
Genn. : Gennadius
ICRA : Institut Centrafricain de la Recherche Agronomique
ID : Immuno-Diffusion
IFAD : International Fund for Agricultural Développement
IgG : Immunoglobuline G
IGS : Indice de Gravité des Symptômes
IITA : Institut International de l'Agriculture Tropicale
INRA : Institut National de la Recherche Agronomique
IR : Région intergénéique
Kb : Kilobase
KDa : Kilodalton
LASBAD : Laboratoire des Sciences Biologiques et Agronomiques pour le Développement
NaCl : Chlorure de sodium
ONG : Organisation Non Gouvernementale
ORF : Open Reading Frames
PARRAF : Programme d'appui à la recherche en réseau en Afrique
PCR: Polymerisation chain reaction
PNUD : Programme des Nations Unies pour le Développement
PRASAC : Pôle régional de Recherche Appliquée au développement des Savanes d'Afrique Centrale
ProVeg : Protection des Végétaux
RCR : Rolling Circle Replication
RDC : République Démocratique du Congo
RDR : Réplication dépendante de la Recombinaison
Rep : Protéine de Réplication

RFLP : Polymorphisme de la longueur des fragments de restriction

RGK : Rifampicine Gentamicine Kanamycine

Rpm : Rotation par minute

TAE : Tris-Acétate-EDTA

TAS-ELISA : Triple Anticorps Sandwich-ELISA

TBE : Tris-Borate-EDTA

TE : Tris-EDTA

TrAp : Protéine activatrice de la transcription

UNESCO : United Nations for Educational, Scientific and Cultural Organization

UV : Ultra-Violet

FIGURES ET TABLEAUX

Figures

Figure 1 : Principales voies de dissémination du manioc en Afrique et Asie	11
Figure 2 : Morphologie du manioc.....	13
Figure 3 : Production du manioc dans le monde et en Afrique.....	16
Figure 4 : La production du manioc dans les pays de la CEMAC.....	17
Figure 5 : Cochenille du manioc sur la face inférieure d'une feuille de manioc.....	18
Figure 6 : Acarien vert du manioc.....	19
Figure 7 : Les différents symptômes de la striure brune du manioc	20
Figure 8 : Les symptômes de la mosaïque de manioc selon l'échelle de l'IITA	21
Figure 9 : Distribution géographique des CMGS impliqués dans la mosaïque du manioc en Afrique et en Inde.....	24
Figure 10 : Représentation schématique des génomes des <i>Geminiviridae</i>	26
Figure 11 : Organisation génomique des Begomovirus et de leurs satellites associés.	28
Figure 12 : Organisation génomique des <i>Begomovirus</i>	29
Figure 13 : Schématisation des modèles de RCR et de RDR	31
Figure 14 : Schématisation des différents événements de recombinaison	33
Figure 15 : photo de <i>Bemisia tabaci</i>	34
Figure 16 : Carte de la zone d'étude. Source : PRASAC	44
Figure 17 : Sites d'échantillonnage selon les pays	46
Figure 18 : Site d'expérimentation du champ école paysan	47
Figure 19 : Echantillons de feuilles de manioc déshydratées.	48
Figure 20 : Les trois cultivars de manioc.	48
Figure 21 : Le cultivar six-mois	48
Figure 22 : Schéma du principe d'amplification par Phi 29	54
Figure 23 : Action des enzymes de restrictions <i>BamHI</i> et <i>EcoRI</i>	54
Figure 24 : Représentation du vecteur pGEMg-3Zf(+) (source : Promega)	55
Figure 25 : Représentation des étapes de ligation, de transformation et de criblage des colonies transformées	56
Figure 26 : Dispositif parcellaire, En haut : dispositif pour la technique conventionnelle,	59
Figure 27: photos de gel.....	64
Figure 28 : Diversité génétique des begomovirus observée dans la zone CEMAC	66
Figure 29 : Arbre phylogénétique.....	70
Figure 30 : Incidence de la mosaïque sur les deux parcelles	72
Figure 31 : sévérité de la mosaïque dans les deux parcelles	73
Figure 32 : Densité des mouches blanches en fonction des cultivars et pratiques culturales.....	73
Figure 33 : hauteur de tiges de manioc en fonction des pratiques culturales et de variétés	74
Figure 34 : Circonférence des tiges de manioc en fonction des pratiques culturales et de cultivar	74
Figure 35 : Rendement en nombre de tubercules de manioc.	75
Figure 36 : Rendement ; TCC : Technique Culturelle Conventiennelle ; TCP : Technique Culturelle Paysanne.....	76
Figure 37 : Effet de la thérapie sur l'incidence et la sévérité de la mosaïque. (A) : Incidence ;.....	77
Figure 38 : Taux d'ensemencement en fonction des explants	77
Figure 39 : Nombre de feuilles moyen après trois semaines d'acclimatation en fonction des explants	78
Figure 40 : détection des Begomovirus dans les feuilles de vitroplants	79

Tableaux

Tableau 1 : Composition nutritionnelle des feuilles racines de manioc	15
Tableau 2 : Comparaison des compositions nutritionnelles des feuilles fraîches et tubercules de manioc.	15
Tableau 3 : Description de l'échelle de l'IITA.....	21
Tableau 4 : Caractéristiques des variétés utilisées.	58
Tableau 5 : Couples d'amorces utilisés pour l'amplification d'ADN des virus.....	52
Tableau 6 : Incidence moléculaire des begomovirus dans les 6 pays de la CEMAC	65
Tableau 7 : Répartition des espèces virales de la mosaïque africaine du manioc	67
Tableau 8 : Récapitulatif des séquences complètes.....	68
Tableau 9 : origine géographique des geminivirus identifiés dans les feuilles de manioc	71
Tableau 10 : Détection des virus de la mosaïque dans les échantillons de Togo blanc.	76

INTRODUCTION

Contexte et justification

Le manioc (*Manihot esculenta* Crantz) est une culture vivrière qui nourrit près de 500 millions de personnes, en particulier en Afrique subsaharienne et dans les pays d'Asie (Best and Henry 1992 ; Stone 2002 ; Ano et al., 2013), et près d'un milliard de personnes dans le monde (Sajid and Joachim, 2014). Il représente une des principales plantes à racines amylacées cultivées dans le monde, (FAOSTAT, 2010). Le manioc est cultivé sur une superficie totale mondiale de 23 millions d'hectares avec une production totale de 300 millions de tonnes dans le monde, dont la moitié est apportée par le continent africain (FAOSTAT, 2019). Dans les pays de la Communauté Economique et Monétaire de l'Afrique Centrale (CEMAC) qui regroupe le Cameroun, la République Centrafricaine (RCA), la République du Congo, le Gabon, la Guinée Equatoriale et le Tchad, la production du manioc est d'environ 9 millions de tonnes de tubercules frais insuffisants pour la consommation des populations de cette région (FAOSTAT, 2019).

Le manioc occupe une place prépondérante dans les systèmes de production agricole en Afrique Centrale (Tricoche et al., 2008). Originaire de l'Amérique latine, le manioc a été introduit en Afrique pour la première fois vers 1558 à travers le bassin du Congo par les Portugais et est prioritairement cultivé pour une agriculture vivrière ou l'autoconsommation. Dans un contexte de fluctuation des prix des cultures de rente telles que le café, le cacao et le coton, et l'augmentation rapide de la demande alimentaire des grands centres urbains, la culture du manioc a connu un développement exponentiel dans une région qui présente d'énormes potentialités non seulement à travers l'expansion des superficies cultivées mais également par l'amélioration des rendements.

Le manioc produit des rendements acceptables même sur des sols pauvres en éléments nutritifs et dans des conditions de sécheresse. En effet le manioc est une plante dite ubiquiste qui a la capacité de croître sur les latitudes de 30° N à 30° S ce qui lui confère une surface de culture très importante (Mombo et al., 2016). C'est une plante pérenne qui peut être conservée plusieurs mois dans le sol après sa période de maturité. Elle est de ce fait disponible quasiment toute l'année, elle est aussi cultivée dans les pays en développement comme réserve végétale (El-Sharkawy et al., 2004).

Les raisons qui expliquent la propagation rapide du manioc dans les zones tropicales et subtropicales sont la capacité de la plante à pousser sur des terres marginales sur lesquelles d'autres cultures sont difficiles à cultiver, la résistance de la plante à certaines conditions de sécheresse que ne peuvent supporter certaines céréales, la possibilité de laisser la plante en terre et de la récolter progressivement pour se prémunir des pénuries alimentaires éventuelles et enfin la capacité de la plante à se protéger de certains ravageurs du fait de sa teneur en glucosides cyanogéniques (IFAD, 2008 ; Mombo et al., 2016).

Le manioc est cultivé essentiellement pour ses racines tubéreuses et aussi pour ses feuilles. Il représente la 4^e source de sucre (hydrates de carbone) dans les tropiques, après le riz, le maïs et la canne à sucre (Blagbrough et al., 2010). Ses feuilles sont consommées comme des légumes dans de nombreux pays d'Afrique et constituent une source de protéines, de vitamine et de sels minéraux (Laure, 1981 ; Legg and Fauquet, 2004 ; Achidi et al., 2005 ; Dixon et al, 2008). Les racines constituées essentiellement de glucides, pauvres en protéines, sont consommées en Afrique centrale sous forme de chikwange (le bâton de manioc), de la farine «fufu», du gari, du tapioca etc.

Le manioc est une plante peu exigeante, se développant bien dans des régions marquées par une faible pluviométrie ou un climat capricieux. Véritable « culture de crise », le manioc exige peu d'intrants. Les tubercules peuvent être laissés en terre pendant plus d'une année et récoltés lorsque des pénuries alimentaires surviennent ou que les coups des céréales s'envolent. Bien qu'essentiel pour la survie d'une large proportion de la population mondiale, cette plante n'a jusqu'à présent reçu que peu d'attention de la part de la communauté scientifique. Cette situation s'explique par le fait qu'elle est cultivée et consommée en grande majorité localement dans le cadre d'une agriculture de subsistance et qu'elle n'a donc que peu d'impact sur le commerce régional ou international. La culture du manioc possède néanmoins un fort potentiel de développement, autant dans une perspective d'utilisation alimentaire que d'utilisation industrielle. Si les efforts de recherche et de développement adéquats sont mis en œuvre, le manioc peut être amené à jouer un rôle de premier ordre dans l'augmentation de la production alimentaire mondiale (Thèse Zinga, 2012).

En effet, la consommation de manioc par habitant est de 115 kg en 2010 dans les pays d'Afrique, des Caraïbes et du Pacifique (ACP) africains contre 18 kg dans le reste du monde (FAOSTAT, 2012). Le manioc est la cinquième production végétale alimentaire du monde, après le maïs, le riz, le blé et la pomme de terre. Dans six (6) pays africains (RD Congo, Mozambique, Congo, Angola, Ghana et République Centrafricaine), les racines de manioc fournissent plus de 25% de la ration énergétique des populations et constituent donc la base de l'alimentation (Trèche, 1995 ; IFAD, 2008).

Fort de ce potentiel, le développement et la promotion du manioc figurent parmi les priorités agricoles de l'Afrique centrale, une région qui continue d'enregistrer des situations de déficits alimentaires importants (CTA, 2016). Ainsi les initiatives gouvernementales en matière de sécurité alimentaire, avec l'appui des donateurs internationaux, ont contribué à augmenter considérablement la production du manioc dans tout le continent africain. Des actions visant à améliorer la productivité au champs ont été menées par notamment (1) l'identification de boutures de qualité, à haut rendement, adaptées à chaque terroir et aux besoins du marché, (2) le renforcement des capacités des producteurs et des multiplicateurs locaux de boutures constitués en réseau, (3) la remise à niveau des modes de

production des paysans, (4) la production et la diffusion des paquets techniques et la création des champs-écoles (IFAD, 2008). Alors que l'encadrement technique et la formation relèvent actuellement surtout des projets de développement, la production et la transformation des tubercules, doivent pouvoir s'appuyer sur la recherche (IFAD, 2008 ; FAO, 2009).

En 2011 le Pôle régional de Recherche Appliquée au Développement des Systèmes Agricoles d'Afrique Centrale (PRASAC) a développé un projet, de recherche / Développement financé par la CEMAC et l'Union Européenne, intitulé : « Production durable du manioc en Afrique Centrale et Intégration aux marchés ». Ce projet a comme activités sur le manioc de : valoriser les variétés cultivées localement, améliorer les pratiques culturales paysannes, lutter contre les maladies et les ravageurs, améliorer la qualité des produits dérivés du manioc. Le projet PRASAC-manioc se déroule dans les six pays membres de la CEMAC (Cameroun, Congo, Gabon, Guinée Equatoriale, RCA et Tchad). Ces pays sont propices à la production des racines et tubercules, ils ont en commun une longue tradition de production et de consommation du manioc, puisque le manioc y constitue la base de l'alimentation des populations et ces pays se retrouvent tous parmi les vingt (20) pays les plus grands consommateurs du manioc par habitant dans le monde (IFAD, 2008).

Au cours de ces dernières années, les taux de croissance de la production alimentaire en Afrique centrale et notamment dans les pays de la CEMAC sont inférieurs à ceux de la population (FAOSTAT, 2005). La situation alimentaire précaire s'est aggravée ces dernières années. Les pays de la zone CEMAC sont caractérisés par une dépendance progressive des importations alimentaires notamment sous la pression de la demande alimentaire urbaine, l'insuffisance des disponibilités alimentaires et la malnutrition, la faible productivité de l'agriculture et la pauvreté en zone rurale (IFAD, 2008). Le manioc peut jouer un rôle capital et des efforts doivent être déployés pour améliorer sa culture et sa productivité.

Face à l'augmentation incessante de la demande, il est en effet indispensable d'améliorer les conditions de production de cette culture et la qualité des produits. Malgré sa place de première culture, la filière du manioc en Afrique souffre de nombreux problèmes qui touchent à la fois les systèmes de culture, la productivité et la qualité des produits. Le système cultural du manioc en Afrique est ainsi dépourvu de toute mécanisation. C'est un système manuel qui demande énormément d'efforts physiques, de travaux d'installation et d'entretien des parcelles (défrichage, labour, bouturage et sarclage) réalisés à l'aide d'outils rudimentaires tels que machette, houe et pioche. La récolte se fait aussi manuellement et demande une main d'œuvre importante. C'est une culture de subsistance développée sur des petites parcelles dispersées.

Les cultivars utilisés sont en majorité traditionnels souvent peu performants et sensibles aux maladies et ravageurs. Le rendement moyen se situe entre 7 à 8t/ha (Silvestre et Arraudeau, 1983 ; IITA, 1990). Selon Muengula-Manyi et al. en 2012, à ces limitations s'ajoutent la baisse de la fertilité des sols, l'impossibilité d'utiliser de coûteux intrants et l'absence d'un marché stable et suffisamment rémunérateur. Au-delà de toutes ces limitations, parmi les contraintes majeures de la culture du manioc on note également les contraintes biotiques avec notamment les maladies virales à transmission vectorielle. Le manioc est vulnérable à une vingtaine de maladies virales dont les plus importantes actuellement en Afrique sont la maladie de la mosaïque africaine du manioc (MAM) appelée encore cassava mosaic disease (CMD) et la striure brune du manioc ou cassava brown streak disease (CBSD) (Legg et al., 2006 ; Patil and Fauquet, 2009).

La mosaïque africaine du manioc (MAM), décrite pour la première fois en Afrique de l'Est en 1894, représente l'une des premières contraintes virales du manioc en Afrique (Sserubombwe et al., 2001 ; Owor et al., 2004a ; Patil and Fauquet, 2009). Les virus responsables de cette maladie appartiennent à la famille des Geminivirus et plus particulièrement au genre Begomovirus transmis par la mouche blanche appelée *Bemisia tabaci*. La présence de la mosaïque africaine du manioc a été signalée dans la grande majorité des pays africains subsahariens (Fargette, 1987 ; Ndunguru et al., 2005; Ndunguru et al., 2006; Patil and Fauquet, 2009) où elle cause de sérieux problèmes (Gibson et al., 1996 ; Otim-Nape et al., 1997; Legg et Ogwal, 1998 ; Legg, 1999; Fondong et al., 2000 ; Owor et al., 2004a; Owor et al., 2004b; Patil and Fauquet, 2009 ; Zinga et al., 2008 ; Mallowa et al., 2011). Les pertes dues à la mosaïque sont estimées à 15-24% de la production, soit l'équivalent de 15-27 million de tonnes par an en Afrique (Thresh et al., 1997). La forme traditionnelle et endémique de la mosaïque du manioc a été décrite dans toutes les zones de production du manioc en Afrique. La maladie n'a jamais été décrite comme une importante menace pour le manioc avant les années 90 en Afrique (CTA, 1990), exception faite de l'épidémie sévère qui a touché Madagascar dans les années 1930 (Cours, 1951). L'agent pathogène de cette forme traditionnelle de la mosaïque initialement caractérisé en Afrique a été appelé African cassava mosaic virus (ACMV) (Bock and Woods, 1983a; Stanley and Gay, 1983). La description d'une seconde espèce de *Geminivirus* du manioc en Afrique de l'Est a rapidement suivie avec l'East African cassava mosaic virus (EACMV) (Hong et al., 1993). Dans les années 90, une épidémie sévère de la mosaïque du manioc s'est déclarée en Ouganda. Elle a initialement été associée à la seule présence d'une nouvelle souche recombinante (nommée souche ougandaise ou encore variant ougandais, EACMV-UG) issue de la recombinaison génétique entre l'ACMV et l'EACMV (Deng et al., 1997 ; Otim-Nape et al., 1997 ; Zhou et al., 1997 ; Legg and Ogwal, 1998 ; Otim-Nape et al., 2000). La poursuite des recherches a permis de montrer que cette forme sévère de la mosaïque du manioc était principalement causée par la co-infection et la synergie virale entre l'ACMV et l'EACMV-UG (Fondong et al., 2000 ; Pita et al., 2001 ; Ariyo et al.,

2005 ; Busogoro et al., 2008). Au début des années 2000, cette épidémie sévère de CMD s'est rapidement répandue à travers l'Afrique (Legg and Fauquet, 2004). Les virus responsables de la maladie ont été identifiés au Cameroun, au Congo, en République Démocratique du Congo, au Gabon et récemment au Burkina Faso (Legg, 1999; Fondong et al., 2000; Legg and Fauquet, 2004; Ntawuruhunga and Legg, 2007; Tiendrébéogo et al., 2009).

Problématique

Culture à propagation végétative, le manioc est particulièrement vulnérable à l'effet des maladies virales, qui constituent une menace importante pour des millions d'Africains surtout la maladie de la mosaïque du manioc (MAM) ou cassava mosaic disease (CMD) (Legg et al, 2006).

La mosaïque africaine du manioc est causée par les cassava mosaic geminiviruses (CMGs) appartenant à la famille des Geminiviridae, et au genre Begomovirus (Legg et al, 2006 ; Tresh, 2006). Les CMGs sont transmis à la fois par les mouches blanches (*Bemisia tabaci*) et par l'utilisation de boutures infectées (Harrison, 1987). Les pays d'Afrique centrale ne semblent pas être épargnés par cette maladie. Les virus responsables de la maladie ont été identifiés au Cameroun, au Congo, au Gabon, en RCA et au Tchad (Legg, 1999 ; Fondong et al., 2000 ; Ntawuruhunga et al., 2002 ; Legg and Fauquet, 2004 ; Akindade et al., 2010 ; Zinga et al., 2012 ; 2013). Par contre aucune information n'était disponible sur l'identité des geminivirus responsables de la MAM en Guinée Equatoriale. Par ailleurs, exception faite des caractérisations moléculaires des CMGs réalisées au Cameroun, en RCA et au Tchad aucune donnée moléculaire n'était disponible sur la diversité des CMGs à l'échelle de tous les pays d'Afrique centrale membres de la CEMAC.

La multiplication par voie végétative est le principal mode de reproduction du manioc et favorise de ce fait une augmentation du taux de contamination, alors qu'une bonne production exige du matériel de plantation libre de tout pathogène (Yaninek et al., 1997). L'utilisation de variétés de manioc améliorées et présumées résistantes à la mosaïque s'avère être une solution de choix. Cependant, celles-ci, introduites dans nos pays par les instituts de recherche en provenance de l'International Institute of Tropical Agriculture (IITA) d'Ibadan au Nigeria entre les années 1990 et 2000, n'ont cependant pas toujours donné entière satisfaction et ce pour plusieurs raisons : contournement de la résistance, inadéquation avec les habitudes culinaires ou organoleptiques des populations (CTA, 1987 ; Fauquet and Fargette, 1990, Legg et al., 2006), méfiance des populations vis-à-vis du nouveau matériel et difficulté d'accès au matériel pour le paysannat. La plupart des variétés locales sont sensibles à la mosaïque, ainsi donc les populations ne font que planter des boutures sensibles à la mosaïque. De plus en plus la contamination ne fait qu'augmenter sur les champs de manioc car le virus de la mosaïque se transmet par les boutures et les mouches blanches (Harrison, 1985). Aujourd'hui face à des contraintes parasitaires associées à la culture

du manioc, il apparaît indispensable de mettre à la disposition des paysans un matériel végétal répondant aux exigences des populations. C'est dans ce contexte de forte pression parasitaire et d'absence de solution intégrée de lutte, que se place mon travail de thèse intitulé : « **la mosaïque africaine du manioc en Afrique centrale : caractérisation moléculaire des begomovirus et évaluation variétale** ». En effet, pour lutter contre la mosaïque africaine du manioc, il est important d'avoir une meilleure connaissance des espèces virales qui infectent le manioc dans la sous-région afin de mettre en place une lutte adaptée.

Objectifs

L'objectif général de ce travail est d'améliorer la productivité du manioc afin d'assurer une sécurité alimentaire durable dans les pays de la CEMAC.

Les objectifs spécifiques sont :

1. Identifier les begomovirus impliqués dans la MAM dans les pays de la zone CEMAC, en vue d'actualiser ou de renforcer des données moléculaires ;
2. Evaluer l'impact de la MAM sur des variétés de manioc par une approche champ école paysan afin de proposer aux producteurs de manioc des variétés résistantes et des bonnes pratiques de cultures de manioc ;
3. Lutter contre la MAM par l'utilisation des boutures de manioc assainies

Hypothèses de recherche

Les objectifs fixés dans cette étude ont permis de formuler les hypothèses suivantes :

- Plusieurs espèces virales sont à la base des dégâts de la maladie de la mosaïque africaine du manioc en Afrique Centrale
- Il existe également des cultivars productifs dans le gremoplasme disponible chez le paysan en Afrique Centrale
- Des apports techniques dans les itinéraires culturaux paysans peuvent renforcer la lutte contre la maladie de la mosaïque africaine du manioc

Structuration de la thèse

Trois chapitres composent cette thèse. Ils sont précédés par une introduction qui présente la problématique, les objectifs et les hypothèses de recherche.

Le premier chapitre porte sur la synthèse bibliographique du manioc notamment sa botanique, son importance et sa production. Ce chapitre décrit également les maladies du manioc et les moyens de lutte contre ces maladies.

Le deuxième chapitre expose d'abord la zone d'étude et ensuite le matériel et les méthodes utilisées pour atteindre les objectifs.

Le troisième chapitre présente les résultats et la discussion. Ces résultats concernent :
Enfin, une conclusion générale et des perspectives feront le point de la présente étude

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Généralité sur le manioc

1.1.1 Origine

Le manioc, *Manihot esculenta* Crantz de la famille des Euphorbiaceae est une plante pérenne dicotylédone cultivée principalement en région tropicale pour la consommation de ses racines tubérisées mais aussi de ses feuilles. En provenance d'Amérique du Sud (Figure 1), les marins portugais ont vraisemblablement introduit pour la première fois le manioc en Afrique dans le Golfe de Guinée au 16^e siècle (Fauquet and Fargette, 1990).

Une deuxième vague de dissémination a permis au manioc d'atteindre la côte Est de l'Afrique, via Madagascar et la Réunion, probablement l'Inde et le Sri Lanka au 18^e siècle. En Afrique, la consommation du manioc semble avoir mis longtemps à être acceptée, avant de se répandre rapidement à travers le continent au 19^e siècle. Le manioc est actuellement cultivé dans tous les pays d'Afrique subsaharienne (FAOSTAT, 2012).

Le manioc est la culture vivrière la plus importante dans la zone tropicale humide à cause de sa productivité et de sa plasticité. Il est cultivé pour ses racines tubérisées qui entrent dans l'alimentation quotidienne de nombreuses populations au Sud du Sahara. Ses feuilles sont également consommées sous forme de légumes, par contre les tiges servent à la fabrication de sels non alimentaires (Laure, 1981). Mais la consommation sans prétraitement peut provoquer des troubles de santé tels que des troubles de la thyroïde et le ralentissement de la croissance chez l'enfant.

Les cultivars de manioc ont été classés en deux groupes : les variétés amères dans lesquelles le taux de manihotoxine est élevé et les variétés douces, dans lesquelles le taux de manihotoxine est faible et confiné principalement au niveau de la peau. La chair des variétés douces est donc relativement exempte de glucoside cyanhydrique (Lancaster et al., 1982).

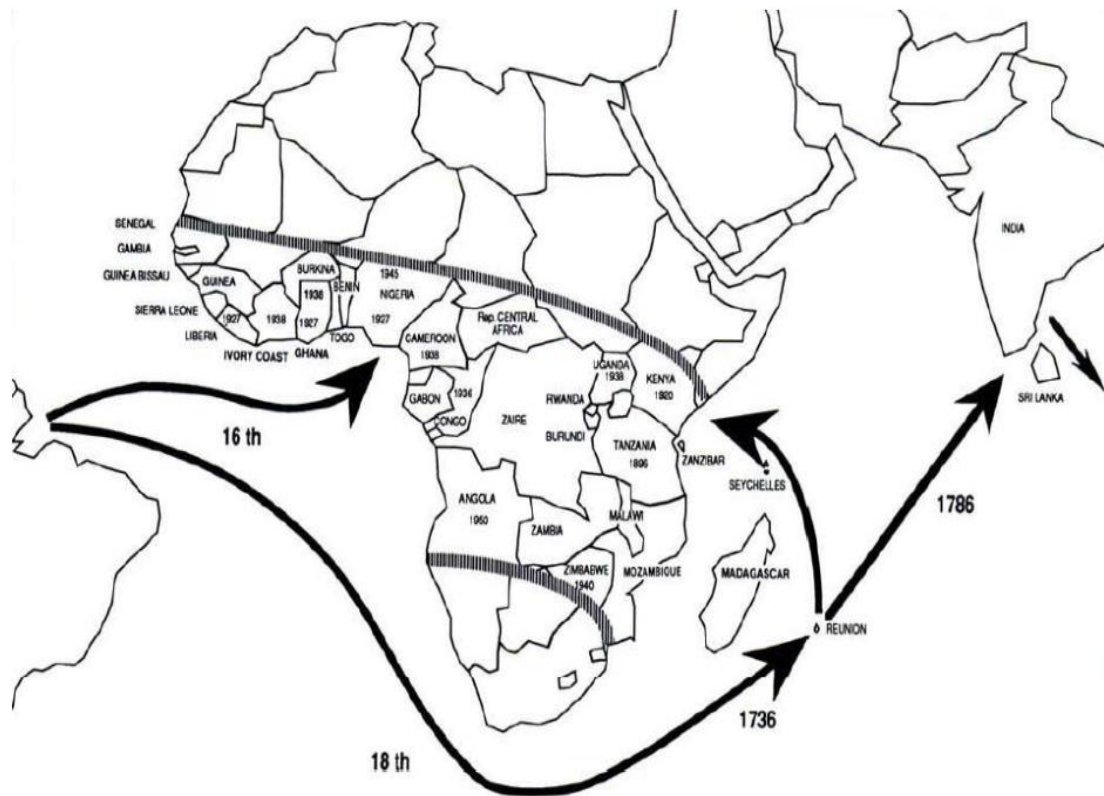


Figure 1 : Principales voies de dissémination du manioc en Afrique et Asie en provenance de l'Amérique du Sud. La distribution géographique des zones de production du manioc en Afrique et les dates des premières descriptions de la mosaïque sont présentées pour certains pays africains (Fauquet et Fargette, 1990).

1.1.2 Systématique

Le manioc appartient à la classe des dicotylédones, et à la famille des Euphorbiaceae. Les Euphorbiaceae montrent une très grande diversité morphologique et chimique. Cette famille compte plus de trois genres et huit milles espèces presque toutes tropicales. Le genre *Manihot* comprend plus de 200 espèces dont *Manihot glaziovii* Muell, plante à caoutchouc et *Manihot esculenta* Crantz qui est la plante vivrière la plus importante de la zone tropicale humide par sa production et sa plasticité (Silvestre et Arraudeau, 1983).

1.1.3 Description Botanique

Le manioc est une plante arbustive, semi-ligneuse et pérenne. Elle est pluriannuelle, mais généralement cultivée comme plante annuelle ou bisannuelle. Comme toutes les Euphorbiacées, ses diverses parties contiennent du latex.

Il existe un grand nombre de cultivars ou de variétés cultivées de manioc. Ils se distinguent par des attributs morphologiques, tels que la taille et la forme des feuilles, la taille de la plante, le mode de ramification, la couleur des tiges et des pétioles, la forme des tubercules, la durée du cycle et le rendement (Kosh-komba et al, 2013) et aussi l'acidité de certaines plantes.

Tiges : Un pied de manioc peut présenter une ou plusieurs tiges, plus ou moins verticales avec ou sans ramifications. Les tiges à maturité peuvent atteindre 6 mètres de haut. L'écorce de la tige est de couleur variée : blanc verdâtre, gris, jaunâtre, violacé, rouge, brun (Figure 2 A). Leur diamètre est de 3 à 4 cm en moyenne. Lorsque les feuilles tombent, on remarque à leur point d'insertion une protubérance protégeant un œil. On appelle à tort cet ensemble protubérance-œil, " nœuds ". Ces nœuds sont disposés en spirale et la longueur des " entre-nœuds " est croissante de la base au sommet exprimé en cm. Les tiges ne s'ajoutent que dans la moitié inférieure de leur hauteur, et comportent dans cette partie, une moelle centrale (Kosh-Komba *et al*, 2013).

Le port de la plante : A une certaine hauteur, les tiges peuvent se ramifier en 2 ou 3 branches, qui à leur tour peuvent se ramifier jusqu'à dix fois au cours du cycle. Cette ramification provoquée par la floraison, est sous contrôle variétal. Elle est également influencée par les facteurs du milieu. Le port de la plante est donc variable : rampant, étalé, dressé ou érigé (Figure 2 B).

Les feuilles : Les feuilles du manioc sont simples à limbe découpé, et à nervation palmée (feuilles palmatilobées) de 3 à 11 lobes (Figure 2 C). Elles sont à phyllotaxie alterne et caduques, car elles tombent durant la phase de repos de la plante. Les feuilles mesurent de 10 à 20 cm de long et sont portées par un pétiole dont la longueur varie de quelques millimètres à 6 cm, à la couleur jaune clair ou rouge en passant par le vert (Kosh-Komba et al, 2013).

Les inflorescences : Les inflorescences du manioc apparaissent aux points de ramification des tiges (Figure 2 D). Ce sont des grappes qui comprennent en général 80 à 120 fleurs mâles et 4 à 10 fleurs femelles Basales (Kosh-Komba et al, 2013).

Fruits : Après la pollinisation et la fécondation, l'ovaire se développe en un jeune fruit qui arrivera à maturité entre 70 et 90 jours plus tard. Le fruit est une capsule globulaire déhiscente à 3 loges contenant chacune une graine (Figure 2 D). Elles mûrissent en 5 mois et projettent les graines à 10 m environ. Elles ont la même couleur que les rameaux et comportent à leur surface externe 6 ailes plus ou moins sinueuses (Kosh-Komba et al, 2013).

Racines : Les racines du manioc sont fasciculées et se gonflent en se gorgeant d'amidon. La plante forme une centaine de racines mais quelques-unes seulement forment des tubercules. Les tubercules ont de 20 à

80 cm de long et de 5 à 15 cm de diamètre (Figure 2 E). Ils sont attachés au collet de la plante par un pédoncule plus ou moins long, parfois inexistant. Ils se situent à quelques centimètres de la surface du sol.

Une coupe transversale d'un tubercule montre :

- une écorce externe grise violacée ou brune formée de liège, le péricarpe ;
- une écorce interne de 2 à 10 mm d'épaisseur, le "phelloderme", blanche ou rose, plus ou moins violacée, pauvre en fécule et riche en produit toxique (manihotoxine) ;
- un cylindre central blanc ou jaune clair riche en fécule, appelé pulpe au centre duquel se trouve le cœur.
- Les tubercules ont des formes très variables et pèsent de 100 g à 3 Kg chacun. Un pied du manioc peut produire 5 à 6 Kg de tubercules et parfois plus.

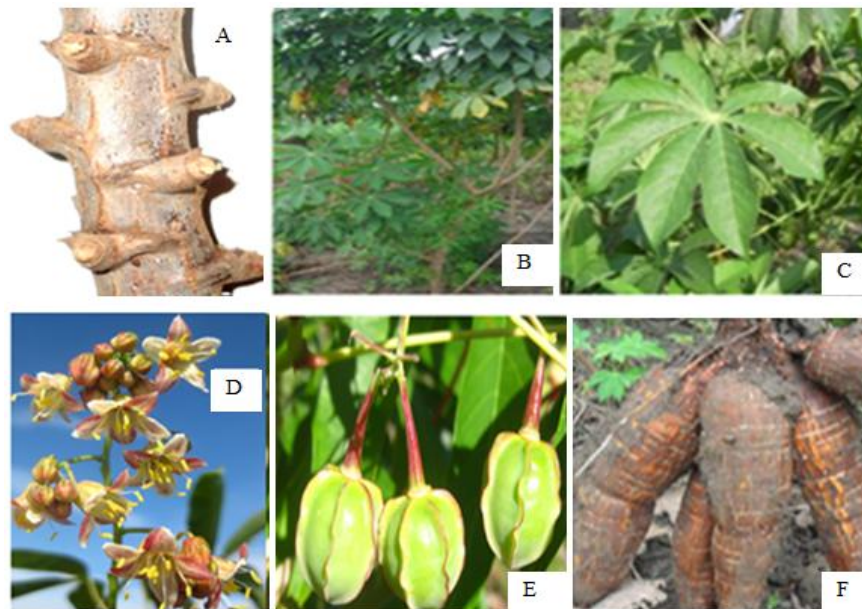


Figure 2 : Morphologie du manioc, (A) : partie d'une tige de manioc ; (B) : Port érigé ; (C) Rameau avec des feuilles vertes ; (D) : Inflorescence ; (E) : Grappe de fruits ; (F) : . Source Racines ou tubercules.

Ballot, 2016 ; Zinga, 2012 ; Internet :

<https://www.google.fr/search?q=inflorescence+et+fruits+du+manihot+esculenta>

1.1.4 Utilisations du manioc

Les produits de transformation des tubercules sont diversifiés. Ils varient d'un pays à un autre ou d'une région à une autre, selon les habitudes culinaires des différentes communautés.

Les variétés amères après détoxification par rouissage et broyage se consomment sous diverses formes. Les tubercules épluchés, rous, morcelés et séchés prennent le nom de cossette en Afrique centrale (Silvestre et Arraudeau, 1983 ; IITA, 1990 ; IFAD, 2008). La farine issue des cossettes transformées en pâte à l'aide d'eau chaude est appelée *foufou* ou *fufu* en Afrique centrale (Silvestre et Arraudeau, 1983 ; IFAD, 2008). Les cossettes représentent d'excellents moyens de conservation et

entrent dans diverses préparations culinaires. En Afrique centrale, le manioc roui (trempé dans l'eau pour éliminer le cyanure et transformé en pâte) donne naissance à la fabrication des «bâtons de manioc» appelés «chikwangu» ou «kwanga» au Congo et RDC, «mangbéré» ou «chikwangu» en Centrafrique, «bobolo» et «miondo» (la forme effilée) au Cameroun.

Les tubercules de manioc doux râpés et fermentés donnent du «gari» au Nigéria, Bénin, Togo et Ghana, de l'«attiéké» en Côte d'Ivoire et de la «malanje» en Angola (IITA, 1990). Ce sont des préparations sous forme de farine assez grossières de couleur blanche à jaune paille. Le tapioca est préparé à partir de la pulpe par lavage de celle-ci, puis broyage et suivi de sédimentation et séchage de l'amidon.

En Afrique, la farine de manioc sert de matière première à la fabrication artisanale de l'alcool (Silvestre et Arraudeau, 1983). Le manioc est aujourd'hui convoité dans les pays émergents pour la fabrication du bioéthanol (FAOSTAT, 2012).

Dans tous les pays où le manioc joue un rôle alimentaire important, les feuilles tendres sont consommées (Achidi et al., 2005). Les extrémités des rameaux sont coupées sur une longueur de 20 à 30 cm utilisées sous forme d'épinards, pilonnées pour la préparation de sauce. En Centrafrique et au Congo, les feuilles sont utilisées pour la fabrication des galettes et de plusieurs types de sauce.

D'après Danilo Mejia, (FAO, 2008), le manioc a aussi d'excellentes propriétés pour les utilisations non alimentaires (pharmaceutiques, films thermoplastiques). Les cossettes sont utilisées comme aliment pour bétail (Charrier et al., 1997 ; Dahouda et al., 2008).

1.1.5 Importance nutritionnelle

L'importance et le rôle de la culture de manioc en Afrique centrale sont en effet les caractéristiques des apports nutritionnels. La composition des feuilles et des racines de manioc est décrite dans le tableau 1. Ces auteurs ont noté une faible quantité de vitamines et de minéraux et précisent que l'amidon du manioc présente une faible teneur en amylose : environ 17 %, comparée aux amidons de pomme de terre (22 %) et de maïs (21 %). Les protéines du manioc sont riches en arginine et faible en certains acides aminés essentiels tels que la méthionine, la lysine, le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine (Falade et al., 2010). Toutefois, il ressort que l'apport nutritif du manioc est considérable dans la mesure où il est riche en calories et peut donc être très utile pendant les périodes de soudure (Diallo et al., 2013).

Tableau 1 : Composition nutritionnelle des feuilles racines de manioc

Composition nutritionnelle	Feuilles de manioc	Racines de manioc épluchées	Racines entières
Eau	85	60	65
Glucides (%MS)	41	91 (68 à 78% amidon)	89
Lipides (%MS)	6	0,5	1
Protéines (%MS)	25	2	2,5
Cendres (%MS)	8	2,5	3
Fibres (%MS)	20	4	4,5
Glucosides cyanogéniques (mg/kg/ de poids frais)	380 à 590	30 à 240	140 à 640

Source : P. Sylvestre et M. ARRAUDEAU dans « Le Manioc », 2006, Collection FAO.

Tableau 2 : Comparaison des compositions nutritionnelles des feuilles fraîches et racines tubéreuses de manioc et d'autres légumes frais données pour 100 g de matière fraîche (Mélania Broin, CTA).

Eléments nutritifs	Feuille manioc	Racine tubéreuse manioc	Moringa oléifera Feuille	Carotte	Gombo	Oignon	Tomate	Chou vert	Concombre	Epinard
Teneur en eau (%)	72	59,7	75	88	87	89	94	86	96	91
Protéines digestibles (g)	5,2	1,36	6,3	0,8	1,6	0,9	0,7	3,2	0,4	2,1
Potassium (mg)	ND	271	325	324	195	154	252	448	160	540
Calcium (mg)	280	16	525	38	68	21	10	210	16	117
Phosphore (mg)	118	27	78	36	73	32	23	84	17	49
Magnésium (mg)	65	21	101	13	37	9	12	31	8	63
Fer (mg)	7,6	0,27	6,8	0,4	0,7	0,2	0,4	1,8	0,2	4
Vitamine A (mg)	ND	0	3556	1524	65	1	96	840	62	810
Vitamine C (mg)	308	20,6	213	7	35	7	20	104	8	54
Riboflavine Vit B2 (g)	588	0,948	2375	54	78	19	36	248	30	207
Nicotinamide Vit B3 (g)	2352	0,854	2800	600	780	187	540	2100	200	648

1.1.6 Production du manioc en Afrique et dans le monde

Avec une production mondiale évaluée à plus de 300 millions de tonnes en 2019, le manioc est l'une des principales productions végétales alimentaires au monde (Figure 3) (FAOSTAT, 2019). L'importance de la culture du manioc n'est plus à démontrer en Afrique dans la mesure où le continent contribue à plus de 53% en moyenne à la production mondiale depuis 2004 (CTA, 2016).

En Afrique, le manioc contribue à assurer la sécurité alimentaire des populations ; on estime en effet à 70 millions le nombre de personnes sur le continent dont l'alimentation repose sur le manioc (ce dernier constituant leur denrée principale et contribuant à leur alimentation à raison de 500 kcal par jour et par personne, (FAO 2010).

Le manioc permet également d'améliorer les revenus et par conséquent les conditions de vie des ménages en milieu rural sur le continent. Sa contribution à la création de richesse s'observe à travers les

multiples formes de valorisation de la culture. Il est en effet considéré comme une matière première pour différents types d'industries au niveau local. Il y est transformé en produits qui peuvent se substituer aux produits importés en vue de réduire les importations de produits alimentaires, d'améliorer la balance du commerce extérieur et de générer des revenus locaux (Nteranya, 2011).

Cette double fonction qu'occupe le manioc au plan socio- économique, lui confère une place prépondérante dans les systèmes de productions agricoles en Afrique de façon générale.

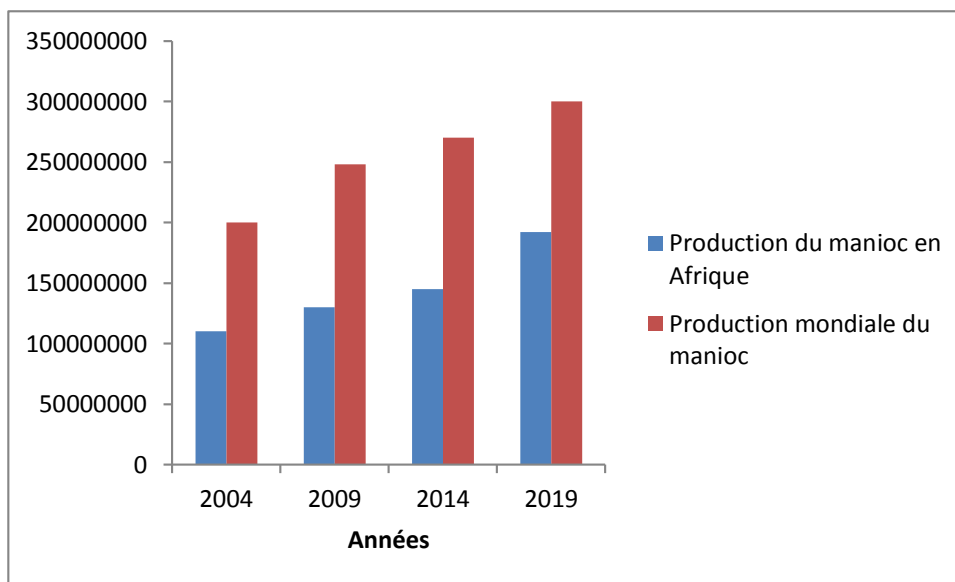


Figure 3 : Production du manioc dans le monde et en Afrique (CTA, 2016 ; FAOSTAT, 2019)

1.1.7 Production de manioc dans les pays de la CEMAC

Dans les pays de la CEMAC, la production de manioc est en total de 8 231 566 tonnes (FAOSTAT, 2016). La production est beaucoup plus importante au Cameroun (Figure 4), car la culture du manioc représente 20% des superficies cultivables emblavées et près de 46 % de la production vivrière nationale (Emmanuel, 2013).

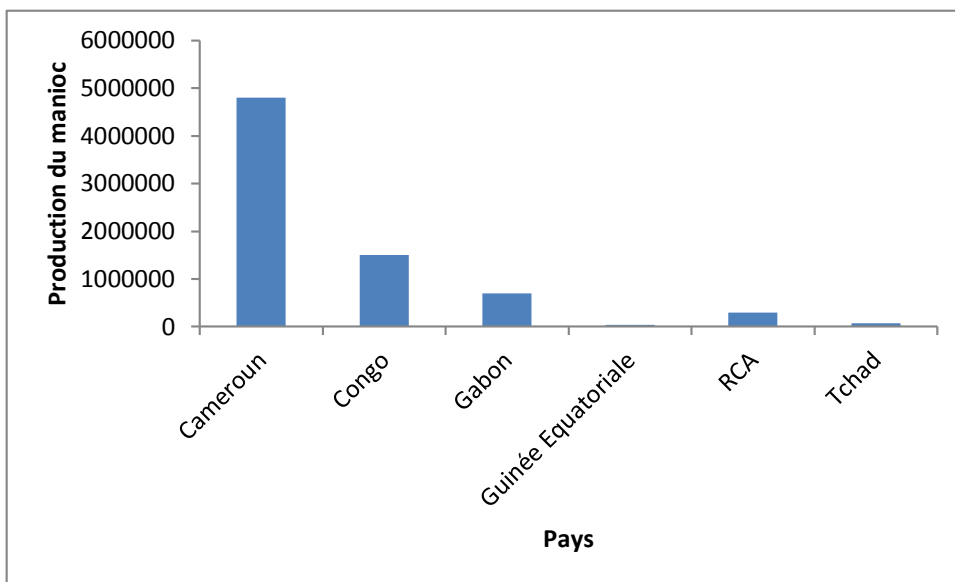


Figure 4 : La production du manioc dans les pays de la CEMAC (FAOSTAT, 2020)

Le Cameroun a produit en 2016, 4,8 millions de tonnes de manioc, c'est un pays peuplé que les autres, il présente un fort potentiel d'autosuffisance des produits dérivés du manioc et d'autres cultures vivrières. Le manioc est l'aliment de base de la population congolaise et centrafricaine mais sa production est moindre respectivement de : 1,6 millions de tonnes et 720 milles de tonnes. Ces deux pays importent parfois selon les saisons le manioc du Cameroun et de la RDC pour combler leur manque. Le Gabon, la Guinée Équatoriale et le Tchad ne donnent pas beaucoup d'importance à la culture du manioc car ils ont d'autres sources d'alimentation telles que les céréales, les patates...

1.2 Les contraintes liées à la production du manioc en Afrique

1.2.1 Les principaux ravageurs

1.2.1.1. Les cochenilles

Ce ravageur constitue un véritable fléau sur le continent africain. Originaire d'Amérique du Sud, il fut introduit fortuitement en Afrique au début des années 70 par le biais de matériel végétatif de plantation. Signalé pour la première fois en RDC en 1973 (IITA, 1990), il s'est propagé dans presque toutes les zones de production de manioc d'Afrique. La cochenille prélève la sève au niveau du phloème. Ses attaques initiales se concentrent autour du sommet de la plante pour se propager ensuite en direction des pétioles et des feuilles développées.

Le rabougrissement de la pousse feuillée (Figure 5) et le raccourcissement des entre-nœuds seraient imputables à la présence d'une substance toxique dans la salive de l'insecte. Lors de fortes infestations, les pousses vertes périssent sans nécessairement provoquer de nécrose apicale. Pendant la

saison sèche, on enregistre une croissance numérique de la population de cochenilles. La sécheresse combinée à la température élevée (25°C) favorise l'abondance du ravageur. Les pertes de tubercules associées aux attaques de la cochenille varient entre 70 et 80% (IITA, 1990 ; IITA, 2000).

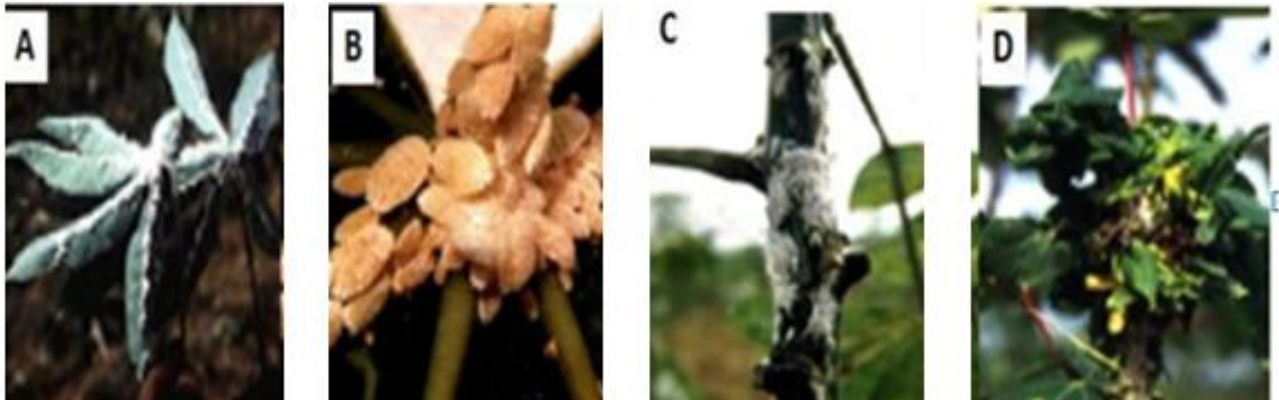


Figure 5 : Cochenille du manioc sur la face inférieure d'une feuille de manioc (A), cochenille du manioc (vue agrandie au microscope) (B), cochenille à raies sur une tige de manioc (C), extrémité d'une tige de manioc atteinte du "bunchy top" dû à la cochenille du manioc (D) (IITA, 2000).

1.2.1.2. Les acariens verts

En Afrique, l'acarien vert et l'acarien rouge sont les deux ravageurs les plus importants du manioc (Herrera et al., 2011). Originaire de l'Amérique du sud, l'acarien vert fut d'abord signalé en Ouganda en 1972. Après s'être rapidement propagé, il est aujourd'hui présent dans la plus grande partie du continent. *Monnychellus tanajoa* est la seule espèce d'acarien vert rencontrée en Afrique. Par contre, 4 espèces d'acarien rouge ont été répertoriées en Afrique avec *Oligonychus gossypii*, *Tetranychus telarinus*, *T. neocaledonicus* et *T. cinnabarinus*.

Les symptômes de tâches chlorotiques ou d'une chlorose intégrale des feuilles provoqués par les acariens verts ne sont pas constants et peuvent être attribués à tort à la mosaïque (Figure 6). Lors d'attaques massives, les feuilles sont rabougries et déformées. L'incidence des acariens est forte durant la saison sèche. Selon la gravité de l'attaque, la perte de tubercules peut varier de 20 à 80% (IITA, 1990 ; IITA, 2000).



Figure 6 : Acarien vert du manioc (vue agrandie au microscope) (A), feuille de manioc avec des tâches chlorotiques (pâles) causées par l'acarien vert du manioc (B), Feuilles de manioc avec des tâches chlorotiques (pâles) causées par la mosaïque du manioc (C), extrémité de pousse de manioc à feuilles réduites par l'acarien vert du manioc (D) (IITA, 2000).

1.2.2. Les principales maladies

1.2.2.1 La maladie de la striure brune de manioc (CBSD)

La maladie de la striure brune de manioc est l'une des principales contraintes du manioc à l'heure actuelle en Afrique de l'Est (Patil et al., 2011). Elle a été découverte pour la première fois en Tanzanie, en 1930 dans la zone côtière de l'Afrique de l'Est (Storey, 1936), la même zone dans laquelle la maladie de la mosaïque du manioc a été décrite par Warburg en 1894. Cette maladie est très répandue en Afrique dans la plaine côtière au Tanzanie et au Mozambique et dans le bassin du lac victoria en Ouganda, au Kenya, et Malawi (Hillocks and Thresh, 1998 ; Legg and Ogwal, 1998 ; Patil et al., 2011).

Les symptômes de la striure brune de manioc se manifestent sur les feuilles, les tiges et les racines tubérisées (Figure 7) (Hillocks and Thresh, 1998 ; Legg et al., 2011). Au niveau des feuilles, elle se manifeste par des chloroses en plage circulaire ou rugueuse sur les limbes et qui peuvent atteindre les nervures secondaires ou tertiaires. Sur les tiges et surtout sur les plants sensibles, on observe à la surface des tissus verts, des lésions violettes à brunes qui peuvent évoluer en lésions nécrotiques. La fusion de ces lésions entraîne la mort des bourgeons axillaires provoquant le raccourcissement des entre-nœuds. La manifestation des symptômes au niveau des tubercules est dévastatrice. Elle est à l'origine des colorations jaune-brunes qui en se développant induisent la pourriture des tubercules.

Cette maladie est provoquée par deux espèces du genre *Ipomovirus* de la famille des *Potyviridae*, il s'agit du *Cassava brown streak Uganda virus* (CBSUV) et *Cassava brown streak virus* (CBSV) (Hillocks and Thresh, 1998 ; Ogwok et al., 2010 ; Mohammed et al., 2012). Ce sont des virus à structure filamenteuse à ARN monopartite de polarité positive dont la taille est d'environ 650 nm de longueur (Mbanzibwa et al., 2009 ; Patil et al., 2011). Les cas de co-infection due aux deux virus et même des co-infections avec les *begomovirus* ont été mise en évidence (Mohammed et al., 2012).

La mouche blanche (*Bemisia tabaci*) est impliquée dans la transmission de ces deux espèces virales sur le manioc (Hillocks et al., 2002 ; Maruthi et al., 2005 ; Ogwok et al., 2010 ; Mohammed et al., 2012). La propagation de la maladie se fait non seulement par le vecteur mais surtout par la multiplication végétative (Hillocks et al., 2002 ; Maruthi et al., 2005). Les principales méthodes de lutte sont basées sur l'utilisation des plants sains (assainissement) et des variétés résistantes à la maladie (Hillocks et al., 2002 ; Legg et al., 2011). Les variétés transgéniques mis au point par l'équipe de Claude Fauquet ont montré une résistance majeure à la maladie de la striure brune (Patil et al., 2011). Ces variétés sont actuellement en cours de multiplication et de diffusion dans des zones les plus touchées en Afrique de l'Est (Ogwok et al., 2010).

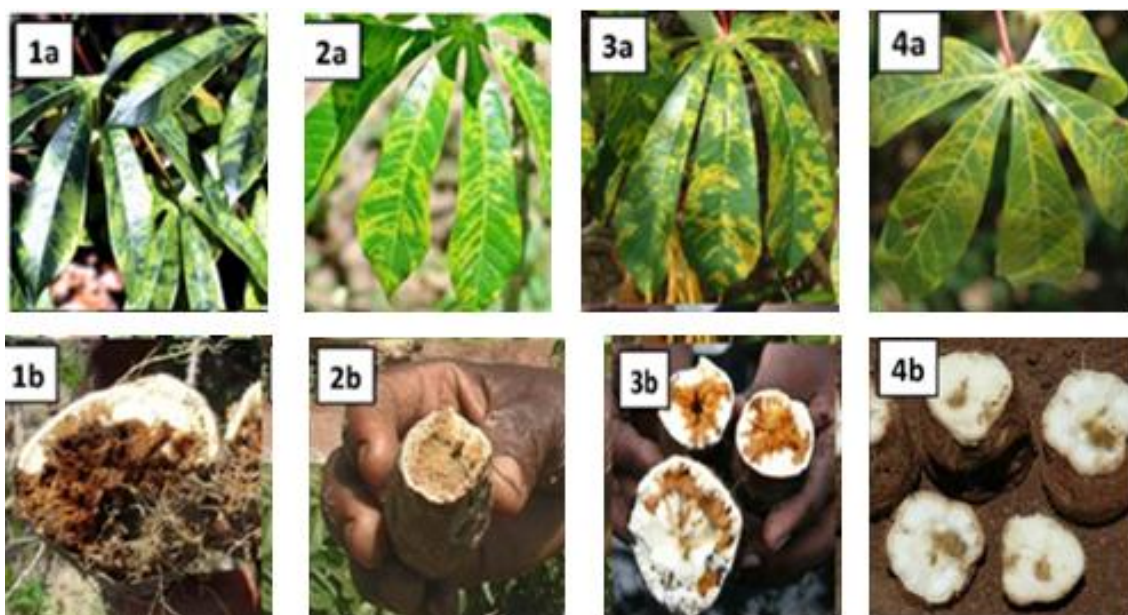


Figure 7 : Les différents symptômes de la striure brune du manioc sur les feuilles et les tubercules en Afrique de l'Est: zone côtière en Tanzanie (1a/b), région du lac en Tanzanie (2a/b), zone côtière au Kenya (3a/b) et centre-sud en Ouganda (4a/b) (Legg et al., 2011).

1.2.2.2 La maladie de la mosaïque africaine du manioc (MAM)

❖ Description et historique de la mosaïque africaine du manioc

✓ Description

Cette maladie virale se caractérise principalement sur les jeunes feuilles par une panachure vert clair à jaunâtre du limbe qui se déforme, se boursoufle et croît de manière asymétrique par suite de l'arrêt du développement des parties infectées (Figure 8). Lorsque l'infection est précoce et sévère, le développement de la plante entière est affecté : les entrenœuds se raccourcissent, la croissance est freinée ou stoppée, les feuilles déformées et décolorées sont de petites tailles. La base de certaines folioles est

réduite à la nervure principale bordée d'un peu de parenchyme décoloré, et la plante a un port rabougri (Fauquet and Fargette, 1990).

La sévérité de la maladie est quantifiable de nos jours par l'échelle de l'IITA qui correspond à l'échelle de Cours (1957) modifiée. Cette sévérité encore appelée Indice de Gravité des Symptômes (IGS) varie de 0 à 5 avec la notation de Cours et de 1 à 4 avec la notation de l'IITA (tableau 1). Dans l'échelle de Cours, les plants sains ont un degré de sévérité 0, alors que les plants malades ont un IGS variant de 1 à 5. Par contre l'échelle dans cette échelle les plants sains correspondent à l'IGS égal à 1 et les plants malades présentent une sévérité allant de 2 à 5 (Hahn et al., 1980 ; Sseruwagi et al., 2004). La sévérité de la maladie dépend des cultivars, de l'âge des plants, des conditions climatiques, de la saison, ou des agents causaux et de la co-infection (Hahn et al., 1980 ; Fauquet and Fargette, 1990 ; Gibson et al., 1996 ; Harrison et al., 1997 ; Fondong et al., 2000 ; Ngeve et al., 2003 ; Adriko et al., 2012).

Tableau 3 : Description de l'échelle de l'IITA

Indice 1	Pas de symptômes
Indice 2	Tâches jaunâtres couvrant la moitié du limbe, apparition des déformations foliaires
Indice 3	Feuilles atteintes déformées, partiellement recroquevillées, appareil végétatif réduit
Indice 4	Quasi-totalité des limbes recroquevillés, appareil végétatif réduit
Indice 5	Feuilles réduites au 1/10ème de leur surface, rameaux atrophiés, la plante dépérit et meurt en quelques mois

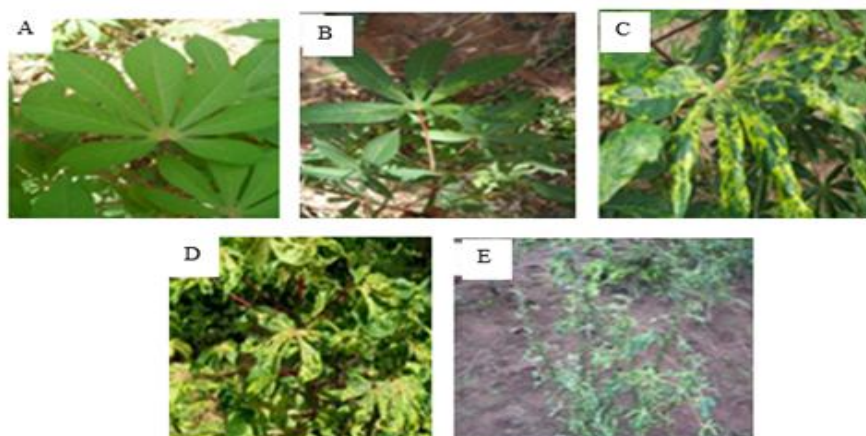


Figure 8 : Les symptômes de la mosaïque de manioc selon l'échelle de l'IITA qui varie de 1 à 5. Sévérité 1 (A), sévérité 2 (B), sévérité 3 (C), sévérité 4 (D), sévérité 5 (E)

Source : IITA 1987

✓ **Historique**

Après la première description de la Mosaïque par Warburg en 1894 en Tanzanie, les premières épidémies ont été observées entre 1920 et 1930 au Sierra Leone, en Côte-d'Ivoire, au Ghana, au Nigeria, à Madagascar et en Ouganda (Legg and Fauquet, 2004). Après cette période, la maladie semble s'être propagée en Afrique et dans les îles voisines dans toutes les zones de production de manioc. L'origine virale de la maladie et sa transmissibilité par l'aleurode *Bemisia tabaci* ont été prouvées en 1938 en Tanzanie (Storey and Nichols, 1938). Dans les années 1970, un projet ambitieux de virologie végétale, utilisant la microscopie électronique couplée à des techniques de purification de virus, a été mise en place au Kenya en collaboration avec des laboratoires du Royaume-Uni (Legg and Fauquet, 2004).

Les travaux de Bock ont ainsi montré que les particules virales impliquées dans la CMD présentaient une structure jumelée à symétrie icosaédrique, d'une taille de 30 x 18 nm (Bock, 1975 ; Bock et al., 1977). Harrison et son équipe ont montré que le matériel génétique du virus était constitué de deux molécules d'ADN circulaires monocaténares de 2800 pb (Harrison et al., 1997). Les premiers virus isolés à partir de manioc présentant des symptômes de CMD ont été appelés « cassava latent virus » (CLV), parce qu'ils étaient incapables d'infecter et d'induire les symptômes de la CMD sur des plantes de manioc après inoculation mécanique (Fauquet and Fargette, 1990).

La première séquence complète d'ADN-A a été publiée en 1983 (Stanley and Gay, 1983). Peu de temps après, la contamination expérimentale d'une plante de tabac *Nicotiana benthamiana* a permis de valider le postulat de Koch, et ainsi de démontrer le lien de causalité entre le virus de la mosaïque africaine du manioc (ACMV) et la CMD (Bock et Woods, 1983).

❖ **Impact économique de la mosaïque du manioc**

Les études réalisées dans différentes zones touchées par la CMD ont estimé les pertes de rendement entre 20 et 95 % (Fauquet and Fargette, 1990 ; Harrison et al., 1997 ; Fondong et al., 2000 ; Pita et al., 2001 ; Owor et al., 2004a ; Owor et al., 2004b). L'importance des effets sur le rendement diffère selon la nature des espèces virales impliquées dans la maladie. Les travaux réalisés en Ouganda ont montré que les pertes dues à la co-infection ACMV et le virus de la mosaïque africaine du manioc de l'Afrique de l'est (ACMV + EACMV-UG) étaient de 82%, alors qu'elles étaient de 42% avec l'ACMV, 12% avec la forme modérée de l'EACMV-UG et de 68% avec la forme sévère de EACMV-UG (Owor et al., 2004a), soulignant ainsi l'impact de la synergie entre les deux virus.

Les études réalisées en Côte d'Ivoire ont montré que les plants contaminés par bouture avaient une perte de rendement de plus de 75%. Par contre, les plants contaminés par le vecteur avaient une perte

moins importante, qui diminuait au fur et à mesure que le temps d'inoculation augmentait jusqu'à ne plus avoir d'effet si l'inoculation intervenait 70 jours après bouturage (Fauquet and Fargette, 1990).

Une estimation de la perte de production de manioc sur le plant continental de 37%, équivalente à 30 millions de tonnes, a été proposée (Fargette and Fauquet, 1988). Legg et Thresh s'inspirant des enquêtes réalisées dans plusieurs pays africains ont estimé une perte de rendement entre 30 à 40% en 2003 équivalant à des pertes de 19 à 27 millions de tonnes basées sur une production totale de 97 millions de tonnes (Legg and Thresh, 2003). La perte actuelle est estimée à 35 millions de tonnes par an en Afrique (FAOSTAT, 2012). Ces niveaux de perte élevés prouvent que la CMD est un problème majeur pour la culture de manioc en Afrique et justifient la poursuite des efforts de lutte contre cette pandémie.

❖ **Les *Begomovirus* impliqués dans la mosaïque africaine du manioc**

✓ **Taxonomie et nomenclature**

La classification des *begomovirus* est basée sur un seuil de distinction taxonomique de 89% d'identité nucléotidique sur la séquence complète de l'ADN-A (Fauquet et al., 2008). Sur la base de ce critère taxonomique, neuf espèces en Afrique et deux en Inde ont été décrites. Les espèces africaines sont : l'*African cassava mosaic virus* (ACMV), l'*East African cassava mosaic virus* (EACMV), l'*East African cassava mosaic Cameroon virus* (EACMCV), l'*East African cassava mosaic Zanzibar virus* (EACMZV), l'*East African cassava mosaic Malawi virus* (EACMMV), l'*East African cassava mosaic Kenya virus* (EACMKV) et le *South African cassava mosaic virus* (SACMV), l'*African cassava mosaic Burkina Faso virus* (ACMBFV) et le *Cassava mosaic Madagascar virus* (CMMGV) (Ogbe et al., 2003 ; Ndunguru et al., 2005 ; Ntawuruhunga et Legg, 2007 ; Patil and Fauquet, 2009 ; Legg et al., 2011 ; Harimalala et al., 2012 ; Tiendrébéogo et al., 2012). Les deux espèces identifiées sur le continent indien sont l'*Indian cassava mosaic virus* (ICMV) et le *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) (Saunders et al., 2002 ; Patil and Fauquet, 2009).

✓ **Distribution géographique**

Le CMD a été décrit seulement en Afrique et en Inde subcontinental, malgré la culture du manioc à grande échelle également en Amérique latine et en Asie du Sud-est (Figure 9) (Patil and Fauquet, 2009). Malgré la présence et la description de nombreux *Begomovirus* en Amérique du Sud et dans plusieurs pays du Sud-est asiatique, l'absence de la CMD pourrait être liée à l'absence de biotypes de *Bemisia tabaci* adaptés au manioc (Carabali et al., 2005).

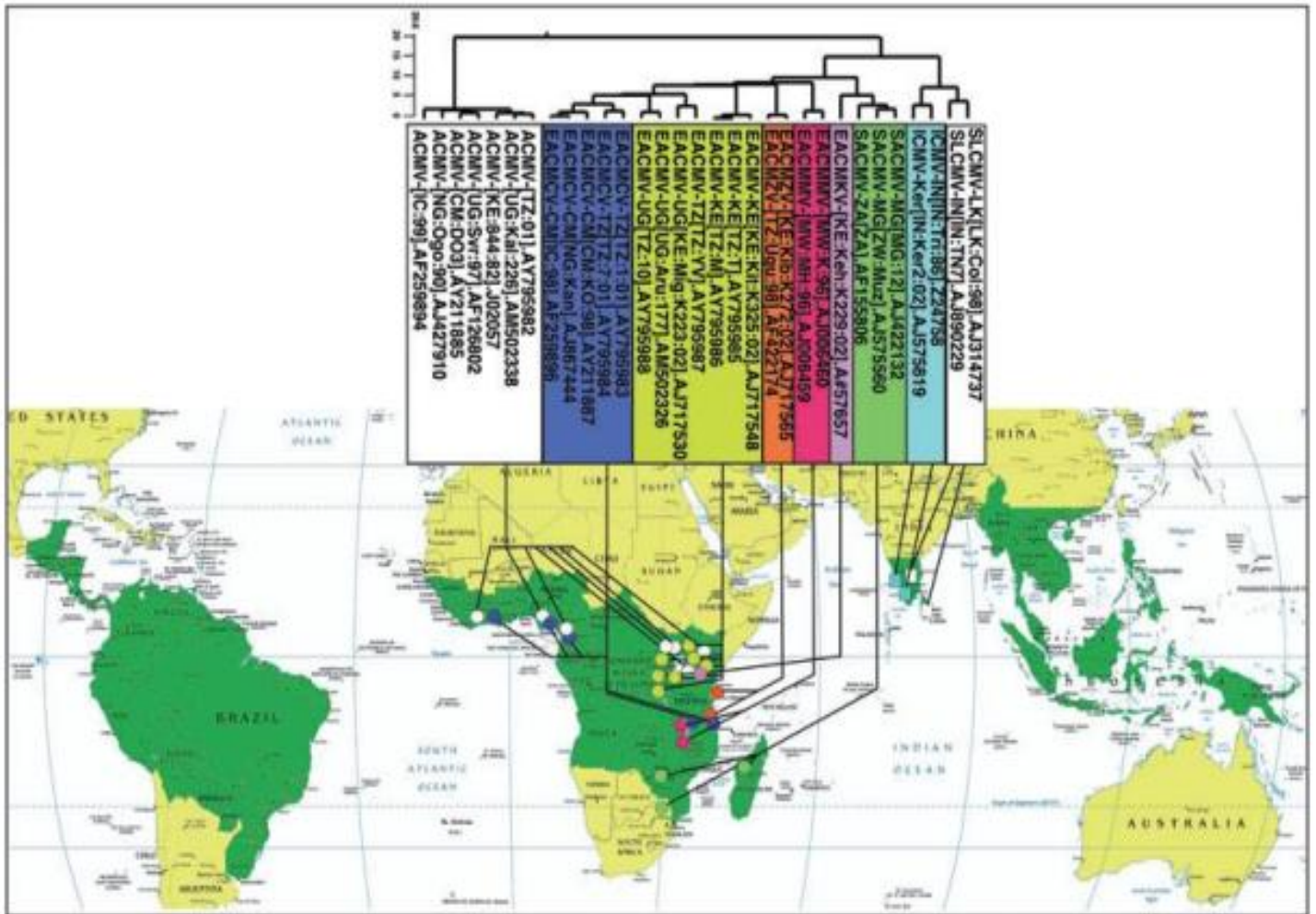


Figure 9 : Distribution géographique des géminivirus (CMGs) impliqués dans la mosaïque du manioc en Afrique et en Inde subcontinental. La couleur verte indique les zones de production du manioc dans le monde. Chaque couleur représente une espèce unique de CMGs dont les noms abrégés des virus sont décrits dans le paragraphe « Taxonomie et Nomenclature » (Patil and Fauquet, 2009).

✓ **La famille des *Geminiviridae***

Les *Geminiviridae* sont des virus phytopathogènes qui infectent une large gamme de plantes à travers le monde en causant des pertes de rendement important. Ce sont des virus à ADN monopartite et bipartite avec une particule à symétrie icosaédrique d’approximativement 20 x 30 nm (Lazarowitz and Shepherd, 1992 ; Kong et al., 2000). Cette famille comprend quatre genres (*Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocovirus* et *Begomovirus*) qui se distinguent par la structure du génome, le vecteur et la gamme d’hôtes (Fauquet et al., 2003 ; Fauquet and Stanley, 2005) (Figure 10).

✓ **Le genre *Mastrevirus***

Ce genre a pour espèce type le *Maize streak virus* (MSV). Il présente un génome monopartite de 2,6 à 2,8 kb comportant quatre gènes (V1, V2 et C1, C2). Les cadres ouverts de lecture ou *open reading frames* (ORFs) V1 et V2 sont lus dans le sens viral tandis que les ORFs C1 et C2 le sont dans le sens complémentaire (Figure 10). *Les mastrevirus* sont surtout décrits chez les poacées, anciennement appelé graminées (monocotylédones), et transmis par des cicadelles (Hemiptera : Cicadellidae). Cependant, on connaît au moins deux espèces qui infectent des dicotylédones (*Tobacco yellow dwarf virus*, TYDV ; *Bean yellow dwarf virus*, BeYDV) (Astier et al., 2001). En Afrique subsaharienne, les graminées non cultivées représentent les principales plantes réservoirs du MSV rendant le virus endémique et responsable de résurgences épidémiques (Mesfin et al., 1992 ; Monjane et al., 2011).

✓ **Le genre *Curtovirus***

Les *Curtovirus* ont un génome monopartite de 2,9 à 3 kb. Ils ont pour espèce type le *Beet curly top virus* (BCTV) et sont également transmis aux plantes dicotylédones par des cicadelles (Hemiptera : Cicadellidae). L'ADN code pour six ou sept ORFs. Les plantes cultivées les plus affectés par ces virus sont essentiellement la betterave à sucre (*Beta vulgaris*), la tomate (*Solanum lycopersicum* L.) et le melon (*Cucumis melo* L.). *Les curtovirus* sévissent en Inde, en Amérique et dans le bassin méditerranéen avec des maladies graves et des conséquences économiques importantes.

✓ **Le genre *Topocuvirus***

Le *Tomato pseudo curly top virus* (TPCTV) est le seul représentant connu de ce genre. Son génome monopartite de 2861 nucléotides code pour six ORFs (Bridson et al., 1996b ; Pringle, 1999). Il est transmis par un membracide *Micrutalis malleifera* Fowler (Hemiptera : Membracidae).

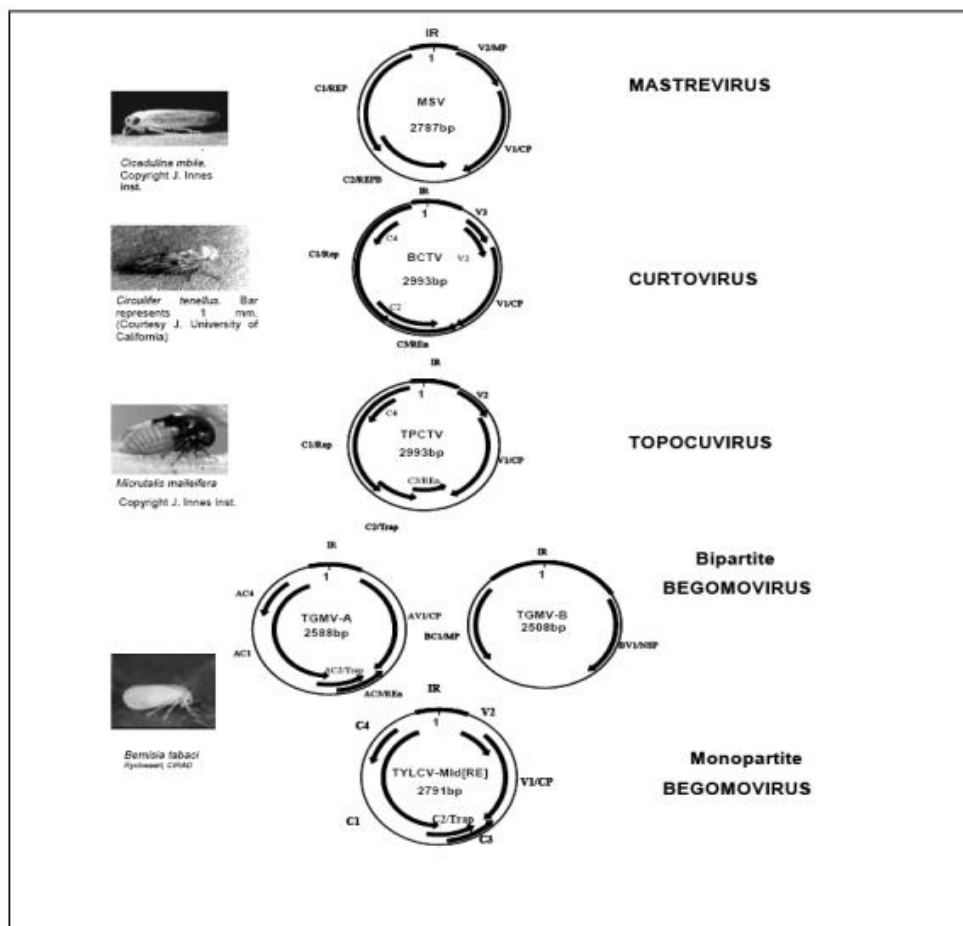


Figure 10 : Représentation schématique des génomes des *Geminiviridae* et quelques photos illustrants leurs insectes vecteurs respectifs. MSV : *Maize streak virus*; BCTV : *Beet curly top virus* ; TPCTV : *Tomato pseudo-curly top virus*; TGMV : *Tobacco golden mosaic virus*; TYLCV : *Tomato yellow leaf curl virus*. Les flèches indiquent les positions des cadres ouverts de lecture (Delatte et al., 2005).

❖ Description des *Begomovirus*

Le genre *Begomovirus* comprend les virus qui sont transmis par la mouche blanche *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera : Aleyrodidae) aux plantes dicotylédones avec pour espèce type le *Bean golden yellow mosaic virus* (Fauquet et al., 2003). Les *Begomovirus* provoquent de très graves maladies dans les régions tropicales, subtropicales et méditerranéennes sur les cultures maraîchères ou vivrières (Astier et al., 2001).

❖ Organisation génomique et rôles des différentes protéines

Les begomovirus sont monopartites ou bipartites, c'est-à-dire que l'information génétique est portée par un ou deux ADN circulaires de 2,5 à 2,8 kb (ADN-A-like ou ADN-A et ADN-B ; Fauquet et al. 2008). Une grande majorité des begomovirus originaires de l'Acien Monde sont monopartites. C'est le cas du *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) (Antignus et Cohen, 1994) et des begomovirus indigènes des îles

du sud ouest de l'océan Indien. Comme le *Tomato yellow leaf curl Comoros virus* (ToLCKMV) (Delatte et al., 2005 ; Lefeuvre et al., 2007). Plus récemment des ADN satellites ont été mis en évidence en association avec certains begomovirus (Bridson et Stanley, 2006 ; Nawaz-ul-Rheman et Fauquet, 2009). Ces ADN environ 1300 bases participent à l'infection virale

✓ **Structure du génome des Begomovirus**

Les Geminivirus, famille à laquelle appartient les Begomovirus, sont des virus à ADN circulaire simple brin (ssDNA) encapsidé dans une particule icosaédrique et associées en doublets, de 18-20 nm de diamètre et d'environ 30 nm de longueur (Lett, 2014). La taille du génome, mono ou bipartite est comprise entre 2,5 et 5,2 kb avec comme gamme d'hôtes les plantes mono et dicotylédones (Zerbini et al., 2017). Le genre Begomovirus comprend à lui seul plus de 320 espèces (Zerbini et al., 2017) qui infectent les plantes dicotylédones. Leur génome viral est soit monopartite ou bipartite comme c'est le cas des CMGs. Les Begomovirus monopartites possèdent un seul composant génomique, appelé ADN-A, d'une taille d'environ 2700 bases. Par contre, le génome des Begomovirus bipartites est constitué de deux composants, appelés ADN-A et ADN-B, aussi de taille d'environ 2700 bases chacun (Zhou, 2013). Le génome des Begomovirus monopartites est similaire à l'ADN-A des Begomovirus bipartites et est le plus souvent associé à des ADN satellites (Zerbini et al., 2017). Selon la classification du monde ancien, l'ADN des Begomovirus monopartites et l'ADN-A des Begomovirus bipartites ont chacun six (6) gènes (Figure 5) codant pour les protéines CP (AV1/V1), MP (AV2/V2), Rep (AC1/C1), TrAP (AC2/C2), REN (AC3/C3) et C4 (AC4/C4) et une région intergénique (IR). Par contre l'ADN-B a deux (2) gènes codant pour les protéines NSP (BV1) et MP (BC1) (Ndunguru et al., 2005; Zhou, 2013). L'ADN-A et l'ADN-B ont une CR (common region) similaire, de 200 à 250 nucléotides, contenus dans la région intergénique entre AV2 et Rep pour l'ADN-A et entre BV1 et BC1 de l'ADN-B. Cette région contient une séquence hautement conservée de 9 nucléotides: TAATATTAC qui servirait d'origine de réplication (Zhou, 2013). L'ADN-A peut se répliquer et non pas l'ADN-B qui est le plus souvent impliqué dans le mouvement. En effet, la NSP (BV1) et la MP (BC1) de l'ADN-B permettent respectivement le passage de l'ADN viral à travers l'enveloppe nucléaire de la cellule hôte pour sa réplication et le passage du virus d'une cellule à une autre pour une infection systémique (Zhou, 2013).

La CP (V1), protéine de la capsid, représente l'unité de base dans la constitution de la particule virale en doublet des Geminivirus. Elle joue aussi un rôle essentiel dans la reconnaissance et la transmission par son insecte vecteur. La protéine de la réplication (Rep; AC1/C1) et la protéine activatrice de la réplication (REN; AC3/C3) permettent l'accumulation de l'ADN viral dans les cellules végétales et sont également impliquées dans la dérégulation et le détournement de voies métaboliques cellulaires de l'hôte comme le contrôle du cycle cellulaire, la réplication de l'ADN, la différenciation cellulaire et

l'expression génique. La protéine activatrice de la transcription (TrAP; AC2/C2) contribue au pouvoir pathogène du virus et à l'activation de la transcription des gènes (Zinga, 2012) et est aussi impliquée dans la suppression du mécanisme de résistance des plantes aux virus (RNA silencing) (Zhou, 2013). La protéine C4, sur l'ADN monopartite, semble intervenir dans l'expression et la sévérité des symptômes, dans le choix de la gamme d'hôte, dans le mouvement de cellule à cellule et dans la systémique du virus. Elle intervient également dans la suppression du RNA silencing en association ou non avec la TrAP.

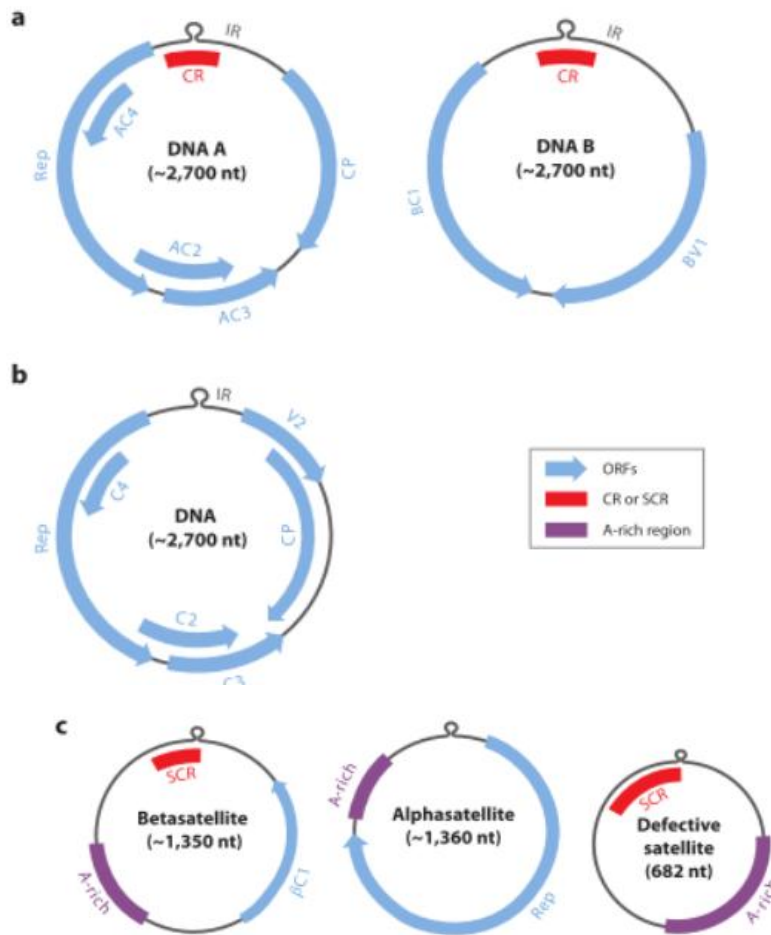


Figure 11 : Organisation génomique des Begomovirus et de leurs satellites associés. (a) Begomovirus bipartites contenant sept ORFs (open reading frames): CP, Rep, AC2, AC3, AC4, BV1 et BC1. (b) Begomovirus monopartites a six ORFs: CP, V2, Rep, C2, C3, C4. (c) Betasatellites et alphasatellites codent respectivement pour les protéines β C1 et Rep, et des molécules défectives de betasatellite sans ORFs. Abréviations: A-rich, adenine-rich region; CR, common region; IR, intergenic region; SCR, satellite conserved region (Zhou, 2013).

✓ Organisation génomique et rôles des différentes protéines

Les *Begomovirus* possèdent un génome bipartite composé d'ADN-A et d'ADN-B (Figure 12). Cependant, le nombre de *Begomovirus* à génome monopartite est en augmentation dans le vieux monde. Leur génome est formé uniquement de l'ADN-A. Très récemment, des ADN satellites (ADN Beta et ADN 1) d'environ 1,4 kb ont été mis en évidence en association avec certains *Begomovirus* monopartites (Stanley et al., 1997 ; Dry et al., 1997 ; Mansoor et al., 2003b ; Briddon et Stanley, 2006). Chez les *Begomovirus* bipartites, l'ADN-A comporte en général six régions codantes ou ORFs (Open Reading Frames) dont certaines sont chevauchantes et une région inter génique (Intergenic Region ou IR) (Figure 12).

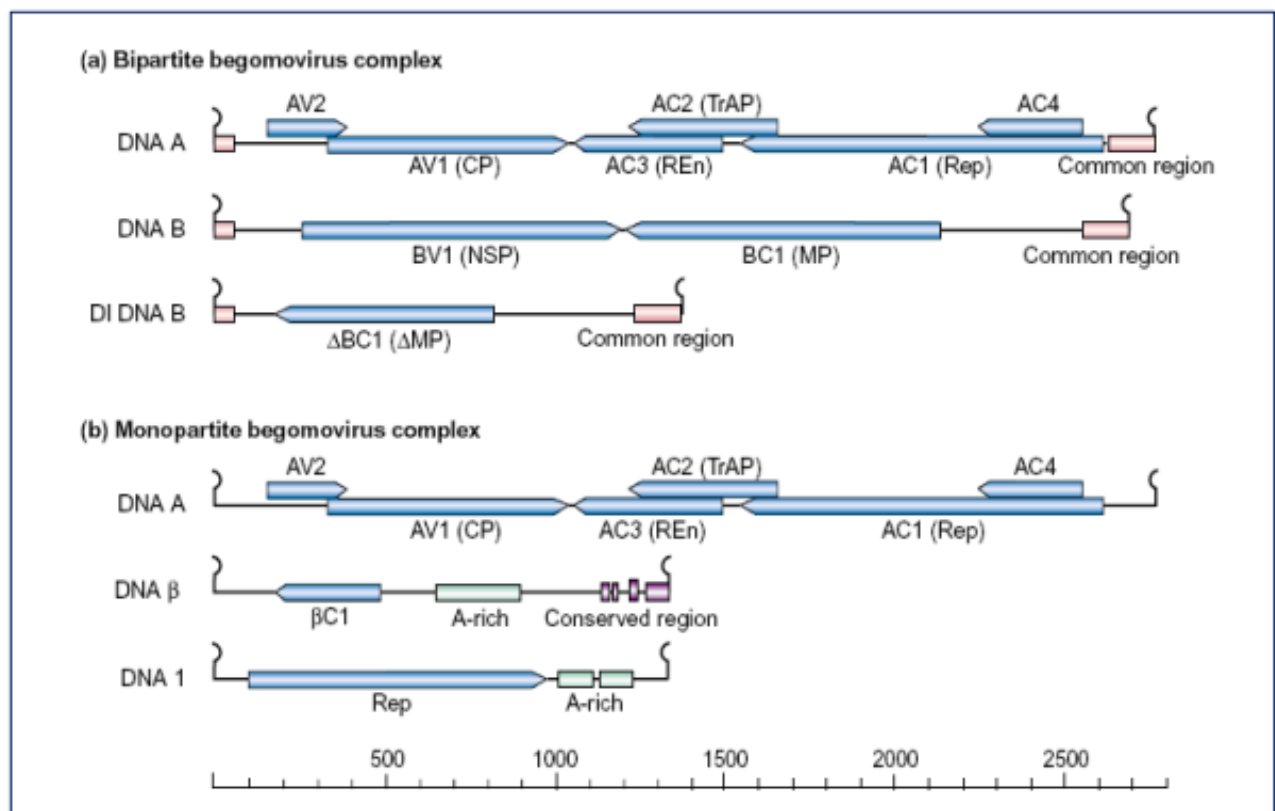


Figure 12 : Organisation génomique des *Begomovirus* bipartites (a) et monopartites (b) et des ADN satellites associés (Mansoor et al., 2003b).

Les ORFs AV1 et AV2 sont situés sur le brin viral et les ORFs AC1, AC2, AC3 et AC4 sont sur le brin complémentaire. Il faut cependant noter que AV2 est absent des *Begomovirus* du nouveau monde (Harrison and Robinson, 2002). L'ORF AV1 code pour la protéine de capsid (CP) qui représente l'unité de base dans la constitution de la particule virale. Elle enveloppe le génome viral et est aussi essentielle pour l'expression du virus. C'est une protéine qui permet le transfert de l'ADN viral dans le noyau de la cellule hôte et est aussi requise pour le passage du virus de l'insecte vecteur (la mouche blanche, *Bemisia*

tabaci) à la plante. La protéine de capsid (CP) associée à la protéine de mouvement (MP) produite par l'ORF AV2 intervient dans le mécanisme de diffusion du virus dans la plante hôte. La protéine associée à la réplication (Rep) codée par l'ORF AC1, intervient lors de la multiplication virale (Laufs et al., 1995).

L'ORF AC3 permet la production de la protéine activatrice de la réplication Ren (Replication Enhancer). Cette dernière en association avec la protéine Rep permet l'accumulation de l'ADN viral dans les cellules végétales (Azzam et al., 1994 ; Hanley-Bowdoin et al., 2000). L'ORF AC2 code la protéine d'activation de la transcription (TrAp). La protéine TrAp contribue au pouvoir pathogène du virus et à l'activation des ORFs des ADN-A et ADN-B dans le sens viral (Sunter and Bisaro, 1991 ; Van Wezel et al., 2001). La protéine, produit de l'ORF AC4 est impliquée dans la détermination de la gamme d'hôte du virus, la sévérité des symptômes et aussi les mouvements du virus (Laufs et al., 1995 ; Wartig et al., 1997). Les ORFs BV1 et BC1 situés sur l'ADN-B sont responsables des mouvements inter-cellulaires du virus dans la plante hôte (Lazarowitz, 1992 ; Hanley-Bowdoin *et al.*, 2000). Les deux ADNs, A et B ont en commun une région d'environ 200 paires de bases (pb) à l'intérieur de la région IR (Sunter et Bisaro, 1991 ; Lazarowitz, 1992). La région commune contient aussi deux promoteurs divergents qui régulent différemment l'expression temporelle des gènes viraux (Lazarowitz, 1992).

Les *Begomovirus* monopartites ont une organisation génomique similaire à l'ADN-A des bipartites avec six (6) cadres de lecture (cdls) ou ORFs. Ces ORFs codent pour des protéines d'environ 10 kDa ou plus (Navot et al., 1991 ; Antignus et Cohen, 1994). Ils sont organisés en deux groupes divergents séparés par une région inter génique (IR). L'unique génome des *Begomovirus* monopartites contient toute l'information nécessaire à la réplication et à l'infectivité du virus (Lazarowitz, 1992). Le troisième groupe de *Begomovirus* se compose des espèces virales à génome monopartite avec des ADN satellites (ADN Beta ou ADN-1). Ces ADNs avec une taille d'environ 1400 nucléotides participent à l'infection virale. L'ADN Beta est nécessaire à l'induction de symptômes par certains *Begomovirus* et jouerait un rôle de suppression du post-transcriptional gene silencing (PTGS) (Vanitharani et al., 2005 ; Briddon and Stanley, 2006 ; Vanderschuren et al., 2007). Quant à l'ADN-1, il porte un gène codant pour une protéine associée à la réplication (Rep) et semble jouer un rôle dans la modulation de l'accumulation du virus (Briddon and Stanley, 2006).

✓ **Réplication des *Begomovirus***

Les *Geminivirus* ne disposent pas d'équipement enzymatique nécessaire à leur expression dans la cellule hôte. Ils dépendent de l'ADN polymérase et des fonctions génétiques des cellules de la plante hôte. Ces virus se multiplient dans les cellules différenciées en phase G qui ont terminé leur activité de réplication propre. L'infection virale réactive la réplication en convertissant la cellule en phase S du cycle

cellulaire (Hanley-Bowdoin et al., 2000). Les *Begomovirus* utilisent deux mécanismes pour la réplication de leur génome : le mécanisme de réplication en cercle roulant (RCR) et la réplication dépendante de la recombinaison (RDR) (Hanley-Bowdoin et al., 2000 ; Jeske et al., 2001 ; Preiss et Jeske, 2003) (Figure 13).

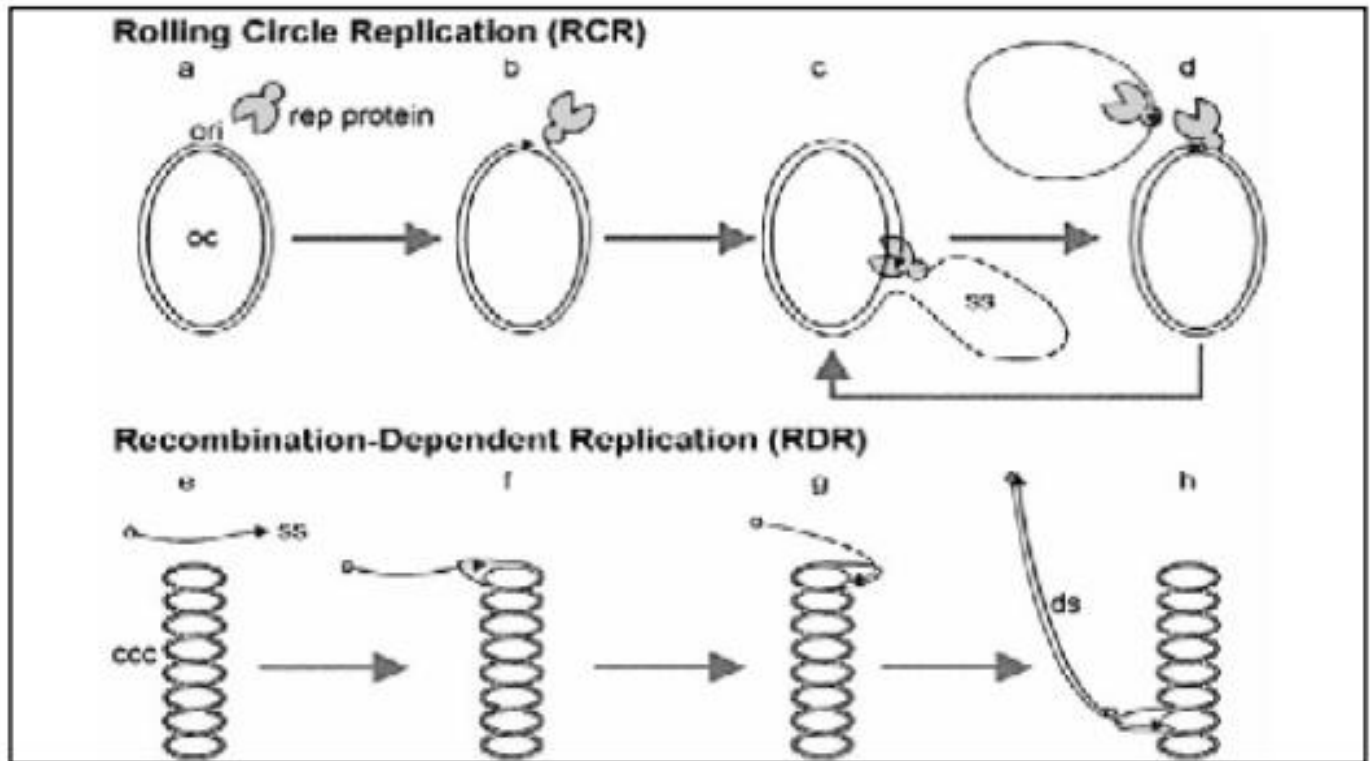


Figure 13 : Schématisation des modèles de réplication en cercle roulant (RCR) et de réplication dépendante de la recombinaison (RDR). Étape a : accrochage de la protéine associée à la réplication (Rep) à l'origine de réplication (OR). Étape b : ouverture de l'ADN et liaison covalente de la Rep à l'extrémité 5'. Étape c : déplacement et réplication. Étape d : nouvelle ouverture de l'ADN, fermeture des ADN simples brins et relargage de la Rep. Étape e : interaction entre un ADN simple brin incomplet et la forme super-enroulée de l'ADN viral (cccDNA) à des sites homologues. Étape f : recombinaison homologue. Étape g : élongation de l'ADN simple brin. Étape h : synthèse de l'ADN complémentaire et obtention d'un ADN double (Lefevre, 2008).

En effet, d'une façon générale, les ADN simples brins des *Geminivirus* se répliquent dans le noyau des cellules infectées via un mécanisme de cercle roulant utilisant une forme intermédiaire double brin (Stenger et al., 1991). La région IR du génome contient un nanonucléotide hautement conservé TAATATT↓AC contenant le site d'initiation (↓) de la RCR (Stanley, 1995 ; Hanley Bowdoin et al., 2000) ; ce site est aussi appelé origine de la réplication (OR). La protéine Rep initie le cycle de réplication en faisant un clivage unique du brin viral à l'origine de réplication. Après le clivage, la protéine Rep se retrouve liée de façon covalente au bout 5' de l'ADN clivé.

La synthèse de l'ADN simple brin (ADNsb) est régulée par l'activité synergique des protéines TrAp et REn qui agissent respectivement pour l'activation de la transcription et l'augmentation de la réplication (Sunter and Bisaro, 1991). Selon Xie et al. (1999), les *Geminivirus* dépendent des facteurs cellulaires pour compléter leur cycle de réplication. Quant au mécanisme de la RDR, il se déroule simultanément avec le mécanisme de la RCR. Ce mécanisme utilise des intermédiaires réactionnels et se déroule comme décrit dans la Figure 12. Ce dernier modèle de réplication est analogue à celui du bactériophage T4 (Mosig, 1998 ; Mosig et al., 2001).

✓ **Variabilité génétique des *Begomovirus***

Les *Begomovirus* sont en pleine expansion dans le monde et semblent très bien adaptés à de nouvelles niches écologiques. Cette adaptation semble liée à la grande variabilité génétique dans ce groupe de virus. Ces variations génétiques peuvent survenir par suite de mutation, de pseudo recombinaison et de recombinaison (Seal et al., 2006). Ces phénomènes se produisent dans la nature (Zhou et al., 1998 ; Sanz et al., 2000 ; Pita et al., 2001). Cependant, les facteurs qui concourent à l'évolution des *Begomovirus* dans leur environnement restent insuffisamment connus.

✓ **La mutation**

Les mutations sont des erreurs de copies générées lors de la réplication du génome par les polymérase ARN ou ADN dépendantes. Chez les virus à ARN, les taux d'erreur de la réplication sont compris entre 10^{-3} et 10^{-5} par nucléotide et par réplication (Jenkins et al., 2002). Les ADN cellulaires qui utilisent les polymérase des cellules végétales pour leur réplication ont des taux de mutation estimés entre 10^{-8} et 10^{-11} (Drake et al., 1998). Chez les *Begomovirus* qui utilisent ces mêmes polymérase, les fréquences de mutation restent très élevées (Ooi et al., 1997 ; Sanz et al., 1999). Ces fréquences sont souvent équivalentes à celles des virus à ARN. Ces taux de mutation anormalement élevés ont été rapportés chez le *Maize streak virus* (Isnard et al., 1998) et le *Tomato yellow leaf curl China virus* (Ge et al., 2007 ; Duffy and Holmes, 2008).

La recombinaison virale est un processus permettant la genèse d'un nouveau virus suite à des combinaisons entre des séquences d'ADN de deux virus parents et la création de nouveaux types d'arrangement génomique. Elle présente l'avantage énorme pour un virus de permettre l'acquisition en une seule étape d'un grand nombre de mutations (Cramer et al., 1998). La multiplicité des descriptions d'évènements de recombinaison chez les *Begomovirus* ces dix dernières années suggère qu'ils sont soumis à des taux de recombinaison très élevés, conduisant à une diversité moléculaire importante (Lefeuvre et al., 2007 ; Padidam et al., 1999).

Ce mécanisme est maintenant connu pour être largement utilisé par tous les *Geminivirus* et est probablement le mécanisme moléculaire principal permettant aux *Geminivirus* d'exploiter de nouvelles niches écologiques. La pseudo-recombinaison a lieu chez les virus multipartites et implique l'échange de composants génomiques intacts entre virus, aboutissant à la formation de génomes présentant de nouvelles combinaisons de composants génomiques (Garrido-Ramirez et al., 2000 ; Pita et al., 2001 ; Ramos et al., 2003). Les CMG ne font pas exception à cette règle comme l'ont montré les travaux de Ndunguru et al en 2005 (Figure 14).

L'analyse de recombinaison et phylogénétique montre que les *EACMV-like*, qui regroupent à la fois plusieurs espèces et souches, portent les traces d'une multitude d'évènements de recombinaison. L'exemple le plus emblématique de CMG recombinant est sans nul doute le variant ougandais (EACMV-UG), issu d'une recombinaison interspécifique entre l'EACMV et l'ACMV dans l'ORF CP (Zhou et al., 1997) (Figure 14).

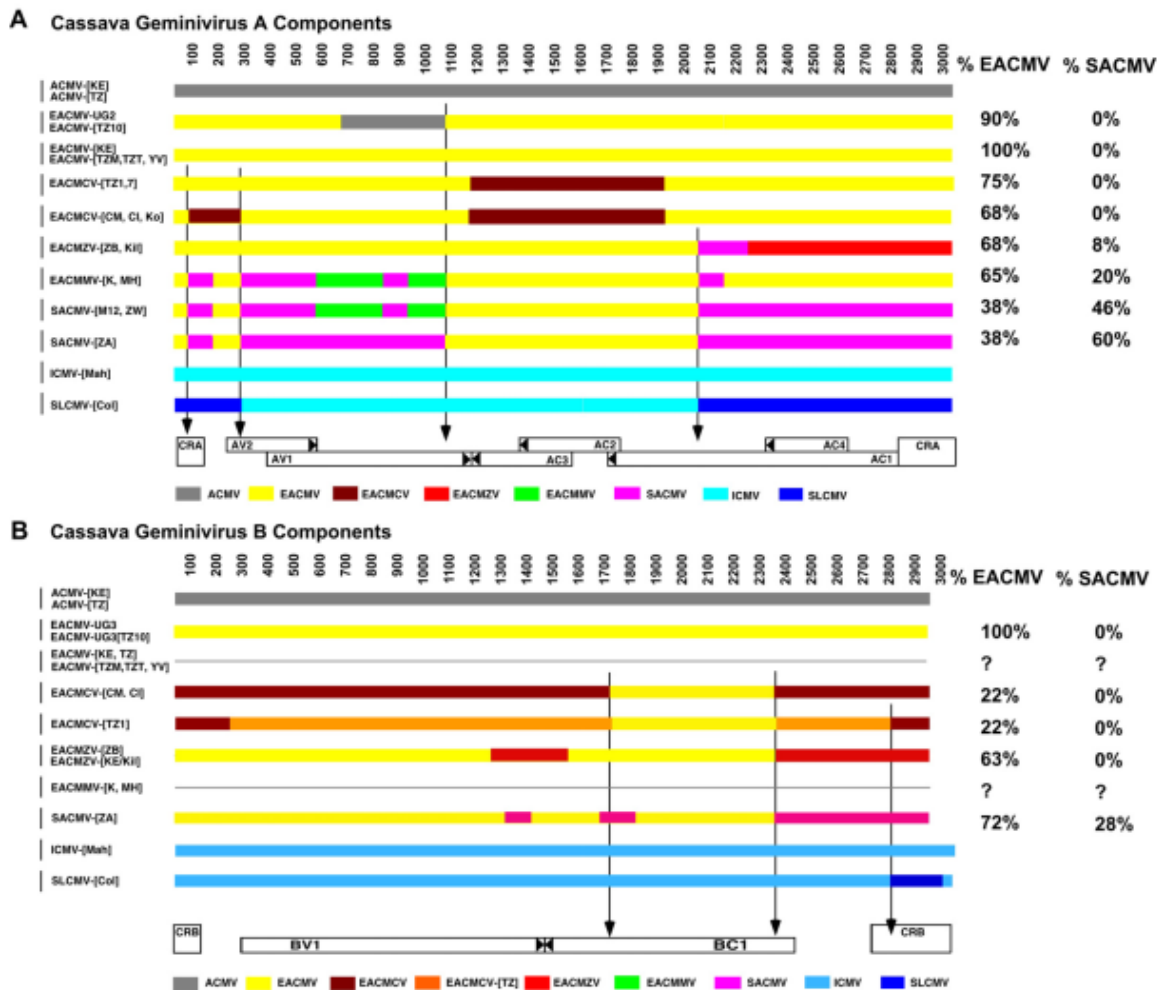


Figure 14 : Schématisation des différents évènements de recombinaison portés par l'ADN-A et l'ADN-B des géminivirus du manioc (Ndunguru et al., 2005).

En revanche, il est frappant de constater que l'ACMV semble être une exception à cette règle. En effet, les séquences disponibles de cette espèce ne présentent aucune trace de recombinaison malgré leur provenance de différentes régions d'Afrique. Cependant, une nouvelle espèce de CMG, provisoirement nommé ACMBFV, a récemment été décrite au Burkina Faso comme étant le fruit d'une recombinaison interspécifique entre un ancêtre des isolats de l'ACMV d'Afrique de l'Ouest (parent majoritaire), et un ancêtre des isolats du *Tomato leaf curl Cameroun virus* et du *Coton leaf curl Gezira virus* (parents minoritaires) (Tiendrébéogo et al., 2012).

1.2.2.2.1 L'insecte vecteur, *Bemisia tabaci*

Les *Begomovirus* sont transmis par une mouche blanche, *Bemisia tabaci* (Hemiptera : *Aleyrodidae*) qui est le seul insecte vecteur connu pour ces virus (Figure 15). Cette mouche polyphage se nourrit sur plusieurs espèces végétales (Osborne, 1988). Plusieurs biotypes ont été signalés à travers les différentes régions du monde. Parmi ces biotypes, le biotype B a beaucoup contribué à l'expression des *Geminivirus* sur de nouveaux hôtes car il est très fécond, plus répandu et est le plus redoutable ravageur des plantes (Perring et al., 1991 ; Delatte et al., 2007). La transmission des *Geminivirus* par *Bemisia tabaci* se fait selon le mode circulant et non propagatif (Duffus, 1997).



Figure 15 : A droite, photo de *Bemisia tabaci* (Delatte et al, 2009). A gauche *Bemisia tabaci* en alimentation sur une feuille de manioc (Auteur).

Les mouches blanches peuvent acquérir et transmettre les *Begomovirus* bipartites dans des délais courts, environ 10 minutes, mais l'efficacité de l'acquisition croît quand la période d'alimentation augmente, au-delà de 24h. Une période de latence de 4 à 21h entre l'acquisition du virus et la possibilité de transmission par la mouche a été observée (Duffus, 1995).

Des études de la transmission du TYLCV ont montré que des périodes d'alimentation de la mouche blanche de 4h ou plus étaient nécessaires pour réussir la transmission de TYLCV à des taux proches de 90% (Zeidan and Czosnek, 1991). Par ailleurs, le TYLCV multiplierait chez le vecteur, transmis à la descendance et aussi par voie sexuelle (Ghanim and Czosnek, 2000 ; Astier et al., 2001), cela augmente le nombre d'individus virulifères capables d'infecter les plantes. Ces propriétés particulières du TYLCV n'ont pas encore été démontrées chez d'autres *Geminiviridae*. C'est essentiellement au stade adulte que l'aleurode par ses piqûres propage la maladie des plantes malades aux plantes saines.

1.2.2.2 Méthodes de diagnostic des Begomovirus

Les symptômes provoqués par les *Begomovirus* sont très caractéristiques et constituent à ce titre un bon diagnostic en vue de suspecter ce groupe de virus. Cependant, plusieurs facteurs peuvent influencer la forme des feuilles et l'état général de la plante ; ce sont entre autre l'action des chenilles, des insectes suceurs et aussi le stress hydrique (Green, 1991). Face à cette difficulté de relier de façon formelle les symptômes et l'agent causal, plusieurs méthodes de laboratoire ont été développées (Matthews, 1991). Dans le cas des *Begomovirus*, des méthodes de diagnostic biologique, sérologique et moléculaire sont couramment utilisées.

1.2.2.2.1 Le diagnostic par voie biologique : les plantes tests

Les plantes tests sont utilisées pour confirmer une infection virale. Cela répond à l'un des principes généraux de la microbiologie à savoir la vérification du postulat de Koch (Boyd, 1988). L'utilisation de ces tests ne permet pas d'identifier précisément le virus responsable d'une pathologie mais est nécessaire pour l'établissement de l'étiologie d'une infection virale. Les plantes tests couramment utilisées sont : *Nicotiana benthamiana*, *Lycopersicon esculentum*, *Capsicum annum*, *Capsicum frutescens*, *Phaseolus vulgaris* (Brunt et al., 1990).

Dans la pratique, des extraits de plantes malades sont inoculés à des plantes saines pour reproduire exactement les mêmes symptômes. Il faut cependant noter que la plupart des *Begomovirus* sont restreints au phloème et ne sont donc pas transmissibles mécaniquement (Astier et al., 2001).

Pour ces virus, la construction d'un clone agroinfectieux est nécessaire (Delatte et al., 2005). Aussi, le vecteur (*Bemisia tabaci*) sain est mis en acquisition sur des plantes malades et transféré sur des plantes saines pour réaliser l'infection. Il est reproché à cette méthode de consommer trop de temps. Cependant, il faut noter qu'elle est très importante pour l'établissement de l'étiologie virale et la gamme d'hôtes d'un virus donné.

1.2.2.2.2 Les tests sérologiques

Les techniques de précipitation en immuno-diffusion (ID) et les tests immuno-enzymatiques (ELISA) sont utilisés pour la détection des *Begomovirus*. Les anticorps utilisant les tests ELISA ont permis la détection des *Begomovirus* dans différents extraits végétaux (Konaté et al., 1995 ; Harrison et Robinson, 1999). La variante TAS-ELISA utilisant les anticorps monoclonaux a été utilisée pour la détection et la classification de ce groupe de virus (Barro, 1994 ; Konaté et al., 1995 ; Tiendrébéogo et al., 2006). D'autres tests sérologiques utilisant des sérums polyclonaux sont utilisés avec succès. Ce sont : "Western blots", "Leaf imprint blots", "Tissue blots", "Transmission electron microscopy and immunolabeling" (Abouzid et al., 2002). Les *Begomovirus* présentent de fortes relations sérologiques entre eux, cela rend la distinction des espèces virales presque impossible par ces méthodes (Brown et al., 2001).

1.2.2.2.3 Les tests moléculaires

Les techniques moléculaires de détection et d'identification des virus ont été développées avec la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) (Duncan and Torrance, 1992). L'acide nucléique des virus est exploré et selon les amorces utilisées, l'identité du virus est révélée avec précision (Lewin, 1997). Des amorces ont été surtout développées pour la détection des *Begomovirus* à partir d'informations sur la séquence des régions conservées de l'ADN-A (Wyatt et Brown, 1996 ; Atzmon et al., 1998 ; Brown et al., 2001). Des tests complémentaires comme la RFLP (Polymorphisme de la longueur des fragments de restriction) sont parfois nécessaires pour distinguer les espèces begomovirales (Accotto et al., 2000).

De plus en plus, les comparaisons de séquences nucléotidiques et la phylogénie permettent de distinguer avec précision les espèces virales (Padidam et al., 1995 ; Brown, 1997 ; Fauquet et al., 2003). Ces comparaisons pourraient se baser sur la région intergénique (IR) et le gène de la protéine de capsid (CP) en l'absence de séquence complète de l'ADN-A (Brown, 1997 ; Brown et al., 2001). Mais pour une taxonomie définitive, la séquence complète de l'ADN-A est exigée et une identité de séquences nucléotidiques inférieure à 89% indique des espèces différentes (Fauquet et al., 2008).

1.2.2.3 Méthodes de lutte contre la mosaïque du manioc

1.2.2.3.1 Les méthodes prophylactiques et les pratiques culturales

La sélection et la préparation des boutures représentent des étapes cruciales dans la mise en place d'une culture de manioc. En effet, la qualité des boutures a une influence prépondérante sur la productivité de la récolte. Les boutures sont généralement prélevées sur des plants âgés de 12 à 15 mois. Le choix portera sur des plants exempts de symptômes de viroses et d'autres maladies ou infestations

parasitaires. Les boutures ne doivent être ni trop ligneuses ni trop tendres. En effet, les boutures trop ligneuses, trop épaisses ou trop minces reprennent mal, et celles trop vertes sont enclines aux maladies et aux infections parasitaires. En règle générale, le diamètre de la moelle ne doit pas dépasser 50% de celui de la tige en coupe transversale (CTA, 1987). Le nombre de nœuds présent sur la bouture est également important pour une bonne reprise. Ainsi, une bouture de 20 cm doit porter au moins 6 nœuds. Il faut éviter d'endommager l'écorce de la bouture, car toute blessure est une porte ouverte à des micro-organismes nuisibles.

Dans beaucoup de régions, le délai écoulé entre le prélèvement des boutures et leur mise en terre a un effet néfaste sur la pousse. Si un tel délai est inévitable, il est recommandé de conserver les boutures dans un endroit ombragé, frais et humide. La tige sélectionnée pour le bouturage doit être coupée à la bonne longueur à l'aide d'une lame bien tranchante. Une coupe à angle droit favorise la formation de racines plus régulières qu'une coupe en diagonale.

Les boutures seront plantées verticalement ou inclinées. Mieux vaut éviter la plantation à plat qui donne un nombre excessif de pousses et finalement un rendement médiocre (CTA, 1987). Cette pratique est recommandée dans la multiplication rapide ou micropragation (IITA, 1990). Les distances de plantation varient suivant les conditions et les pratiques locales de culture, mais une distance d'un mètre peut être considérée comme suffisante, ce qui représente un dispositif de 10 000 plants par hectare. Dans les régions sèches ou moins fertiles, il est préférable d'espacer davantage les plants. L'entretien majeur du champ consiste à faire 3 à 4 sarclages manuels pour lutter contre les adventices et les mouches blanches (IITA, 1990).

1.2.2.2.3.2 Les techniques d'assainissement

A. L'assainissement des plantes à multiplication végétative

La sélection sanitaire couvre deux volets, le bouturage sélectif à partir de plants sains et l'arrachage des plants infectés. Ces deux méthodes peuvent coexister et ont toutes les deux leur place dans les programmes de lutte (Mallowa et al., 2011). La sélection des plants consiste à prélever des boutures à partir des plants asymptomatiques pour créer des nouveaux champs (Fauquet and Fargette, 1990 ; Legg et al., 2006).

Dans le cas de la CMD, la sélection des boutures à partir des plants asymptomatiques a permis d'obtenir des rendements équivalents à ceux des variétés résistantes (Mallowa et al., 2011). L'impact de la CMD sur le rendement est de plus de 70% pour les plantes originaires des boutures infectées alors

qu'elle n'est que de 10% sur les plants initialement sains lorsque l'infection intervient 120 jours après la plantation (Fauquet and Fargette, 1990).

B. La thermothérapie

Les premiers travaux sur la thermothérapie couplée à la culture de tissus pour assainir les plants atteints de la CMD ont été réalisés dans les années 70 (Kantha and Gamborg, 1975 ; Kaiser et Teemba, 1979;). Au Nigéria, les travaux de Adejare et Coutts ont permis d'obtenir un assainissement total après culture de tissus issus de plants de manioc malades et expositions à des températures de 35 à 38°C pendant 30 jours (Adejare et Coutts, 1981). Au Ghana, Kwabena a obtenu les mêmes résultats avec des plants malades traités à 37°C pendant 30 jours (Kwabena, 2009). La thermothérapie réalisée directement sur les boutures issues de plants atteints par la CMD a été initiée au Kenya (Kaiser et Louie, 1982). Après une exposition à 37°C pendant 87 à 105 jours, 33 à 44% des boutures contaminées par la CMD ont été assainies. Au Congo des clones assainis de manioc ont été évalués pour leur rendement (Mabanza et al. 1994 et 1997, Mabanza et Mahouka 2001)

C. La culture de tissus

La culture de tissus *in vitro* est utilisée pour régénérer des plantes complètes à partir d'explants divers par prélèvement des organes (bourgeon, méristème, entre-nœud, feuille, anthère, ovule), ou de fragments de tissus sur des pieds-mères, ou encore à partir de cellules isolées ou protoplastes (Lepoivre, 2003). Chez le manioc se sont principalement les méristèmes apicaux qui sont utilisés (Mabanza & Jonard 1981 et 1984). Ces méristèmes sont prélevés sur les plantes mères généralement mises en croissance pendant 30 jours à 37°C (IITA, 1990 ; Kwabana, 2009).

Les bourgeons apicaux sont mis en culture en croissance contrôlée à une température d'environ 25°C et une photopériode de 12 heures. Les microplants sont obtenus 8 à 10 semaines plus tard (IITA, 1990). Cette technique combinée à la thermothérapie a été utilisée avec efficacité pour décontaminer certaines variétés de manioc des virus impliqués dans la CMD ou le CBSD (Adejare and Coutts, 1981 ; Kantha and Gamborg, 1975 ; Kwabana, 2009). La combinaison de l'assainissement, de la thermothérapie et de la culture des tissus est considérée comme un excellent moyen pour améliorer la production du manioc (Fauquet and Fargette, 1990).

❖ Les avantages de la culture in-vitro

Les avantages de cette technique sont multiples. En effet, la technique in-vitro permet :

1. La multiplication rapide des génotypes intéressants (élites) : régénération des nouvelles plantes génétiquement identiques à partir d'un explant du départ.

2. L'éradication des pathogènes : les plantes obtenues in-vitro sont exemptes d'infection virale.
3. La conservation ex-situ, à moyen terme des espèces menacées (en condition de croissance ralentie).
4. La culture in-vitro est également un moyen efficace dans la procédure d'échange des ressources génétiques.
5. Le raccourcissement des cycles de développement.
6. Le rajeunissement d'un végétal.
7. La facilité de stockage et conservation (au froid) de millions de plantes sur très petites surfaces à l'état sain et à l'abri des contaminations.

❖ **Milieus de culture in vitro**

Un milieu de culture est une solution qui contient des éléments minéraux et organiques et éventuellement des régulateurs de croissance (phytohormones). Chez certaines plantes ligneuses, les antioxydants tels que le charbon actif et l'acide ascorbique sont souvent ajoutés parce que ces espèces sécrètent des composés phénoliques qui non seulement brunissent le milieu mais entraînent souvent la mort de l'explant (Auge, 1989).

Les milieux ainsi constitués sont liquides. Il est nécessaire de les solidifier par l'ajout d'un gélifiant (agar ou phytigel/gelrite) pour éviter que les explants ne tombent au fond des récipients et s'asphyxient. Le métabolisme de l'explant peut être modifié selon qu'il se trouve sur l'un ou l'autre milieu (Boccon-Gibod, 1989). Le pH du milieu et la concentration du gélifiant dans le milieu peuvent influencer le développement de l'explant (Gaspar, 1988).

✓ **L'élément minéral**

Les éléments minéraux sont constitués de macroéléments et de micro-éléments. Les macroéléments interviennent en grande quantité ou à des concentrations élevées. Ce sont l'azote (N), le calcium (Ca), le potassium (K), soufre (S), phosphore (P) et le magnésium (Mg). Les micro-éléments appelés parfois oligo-éléments qui, bien qu'ils ne soient nécessaires à la plante qu'en faibles concentrations, leur rôle est essentiel. Les principaux d'entre eux sont le fer (Fe), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le molybdène (Mo), le bore (B), le chlore (Cl), le cobalt (Co), le nickel (Ni), etc.

Il existe plusieurs solutions minérales utilisées comme milieu de culture : White (1957) ; Knop et Sach (1960) ; Murashige et Skoog (1962) ; Gambord (1968). Actuellement, la solution minérale la plus utilisée est celle de Murashige et Skoog et son complexe vitaminique.

✓ **Eléments organiques**

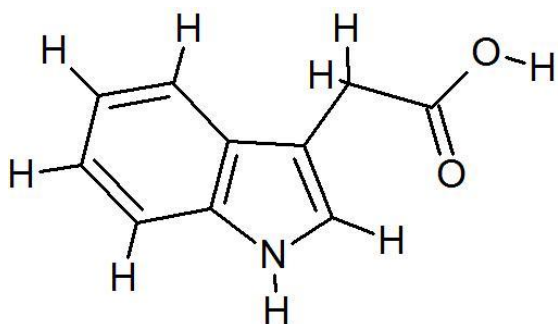
Sucres : Dans le cas de tissus végétaux placés en culture in vitro, l'assimilation chlorophyllienne est nulle ou insuffisante pour assurer la survie et le développement de l'explant. Dès lors, on ajoute des sucres, le plus souvent du saccharose aux milieux de culture pour fournir à l'explant une source de carbone. Dans la nature, les sucres sont fournis lors de la photosynthèse à partir du gaz carbonique atmosphérique et de l'eau du sol. Toutefois, certains sucres comme le glucose sont recommandés pour certaines espèces.

Vitamines : Ce sont des molécules organiques requises en très faibles quantités. L'emploi des vitamines favorise le développement des explants en culture in vitro. Les vitamines les plus couramment utilisées en Culture in vitro sont la riboflavine, la pyridoxine, la thiamine, l'acide nicotinique et le panthotenate de calcium. Les combinaisons vitaminiques de Morel and Wetmore (1951), de Murashige and Skoog (1962) ou de Nitsch and Nitsch (1965) sont les plus utilisées.

Les acides aminés : Il a parfois été observé que l'apport d'acides aminés favorise la prolifération des cals, des bourgeons et des embryons somatiques.

Les régulateurs de croissance : Les régulateurs de croissance sont des substances chimiques synthétisées naturellement par la plante ou de manière artificielle et qui en faibles concentrations, exercent un effet bénéfique sur certains processus physiologiques en régulant le développement et la croissance des explants (Hopkins, 2003). Aucun régulateur de croissance n'a donc une action spécifique. Les régulateurs de croissances agissent en synergie et leur fonctionnement dépend de leur concentration relative. On distingue cinq grands groupes de régulateurs de croissance : les auxines, les cytokinines, les gibbérellines, l'éthylène et l'acide abscissique.

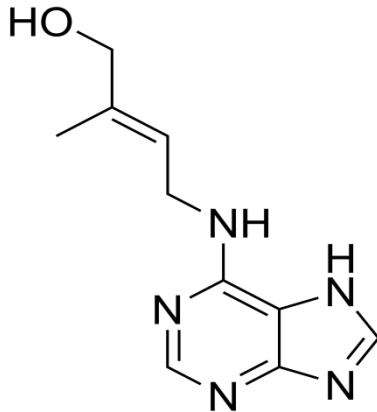
○ **Auxines :** Le terme auxine vient du grec auxein qui veut dire accroître. Il désigne toute substance chimique qui favorise la croissance des cellules. L'auxine naturelle que l'on extrait des végétaux est acide -3- indole acétique (AIA) ; elle est principalement synthétisée dans le méristème apical des pousses. Elle n'a d'effet que si sa concentration se situe entre 10^{-8} - 10^{-3} Mmol/l. Il existe actuellement des auxines synthétiques : l'acide 2,4 Dichlorophenoxyacétique (2,4-D), l'acide naphthalène acétique (ANA), l'acide indole butyrique (AIB) (Campbell, 2000).



Formule chimique de l'auxine

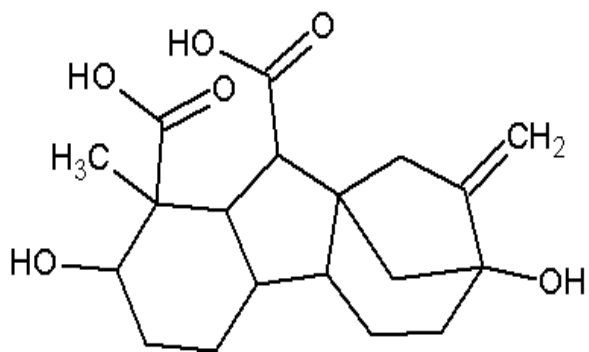
L'auxine intervient en général dans l'allongement cellulaire, dans la stimulation de la division cellulaire, ce qui conduit à la formation d'une cal (amas de cellules indifférenciées), dans la rhizogenèse.

○ **Cytokinines** : Les Cytokinines sont des adénines substituées. Elles sont produites dans les tissus en croissance active, en particulier dans les racines, les embryons et les fruits (Campbell, 2000). La plus répandue des Cytokinines végétales naturelles est la zéatine (découverte dans Zeamays). Il existe actuellement plusieurs Cytokinines synthétiques dont la Kinétine et la benzylaminopurique (BAP). Conjointement avec l'auxine, les Cytokinines stimulent la division cellulaire et influence sur la différenciation.



Formule chimique de cytokine

○ **Gibbérellines** : Les gibbérellines (GA3) sont des diterpènes (molécules à 20 carbones) formés à partir de l'isoprène. Elles sont produites en abondance dans les racines et les jeunes feuilles. Elles stimulent la croissance des entre-nœuds. La plus répandue est l'acide gibbérellique (Campbell, 2000).



Formule chimique de la gibbérelline

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Zone d'étude

La zone CEMAC regroupe six pays qui sont : le Cameroun, la Centrafrique, le Congo, le Gabon, la Guinée Equatoriale et le Tchad. Elle couvre au total un territoire de 302 millions d'hectares. Les terres arables et les cultures pérennes occupent 13,2 millions d'ha dont seulement 40 000 ha de terres irriguées. La région bénéficie cependant d'une grande disponibilité de réserve en eau (surtout dans les grandes plaines inondées du Congo, de la RCA et les importantes nappes souterraines du Tchad). Les écosystèmes sont largement dominés par la forêt, les terres arables et les pâturages (65 millions d'ha) (FAOSTAT 2008).

La population de la CEMAC est estimée en 2000 à environ 53 millions habitants, dont 65% vivent en milieu rural (FAOSTAT, 2017). Le taux moyen de croissance annuel est de 2,7%. La population est très inégalement répartie tant entre les pays qu'à l'intérieur des états. La densité varie de 5 habitants au km² en Centrafrique à 30 habitants au km² au Cameroun (FAO, 2002).

Les pays de la CEMAC se caractérisent par une grande diversité climatique (climats tropicaux humides et équatoriaux sur la plus grande partie, mais aussi climats soudano-sahélien, sahélien et saharien). Il en résulte ainsi une grande diversité agro-écologique du nord au sud :

- ✓ La zone forestière plus étendue, couvre plus de la moitié de la superficie de la région (157 millions d'ha) et comprend le Congo, le Gabon, la Guinée Equatoriale, le sud Cameroun, le sud-ouest et sud-est de la RCA. Cette zone est propice à la production des racines (manioc), des tubercules (igname, taro,) des fruits (banane, plantain) et des cultures d'exportation (café, cacao, palmier à huile, hévéa). Elle recèle également d'importantes ressources forestières (bois), halieutiques et fauniques.
- ✓ La zone guinéenne est une zone de transition entre la forêt et la zone soudano-sahélienne. Elle est favorable à la production des racines (manioc) des tubercules (ignames, taro,) de céréales (maïs, sorgho, riz). C'est également une zone de grands pâturages propices à l'élevage du gros bétail.
- ✓ La zone soudano-sahélienne couvre la partie septentrionale du Cameroun et de la RCA ainsi que le sud du Tchad. Cette zone est favorable à la production des céréales (mil, sorgho, maïs, riz), des cultures fruitières et maraîchères, à la culture du coton et des oléagineux (arachide). C'est également une zone de production animale grâce à l'étendue et à la richesse de ses pâturages naturels.
- ✓ La zone sahélienne couvre le nord du Tchad et l'est de la RCA. Elle convient surtout à la production des dates dans les oasis, et à l'élevage des chameaux, des ânes.
- ✓ La zone saharienne, une zone désertique représentée uniquement du Tchad où elle couvre 60,7% du territoire au nord, soit 780 000 km². Des points de végétation se rencontrent essentiellement dans les oasis où existent des palmiers, puis des parcours clairsemés, utilisés par des élevages caamelins et caprins nomades.

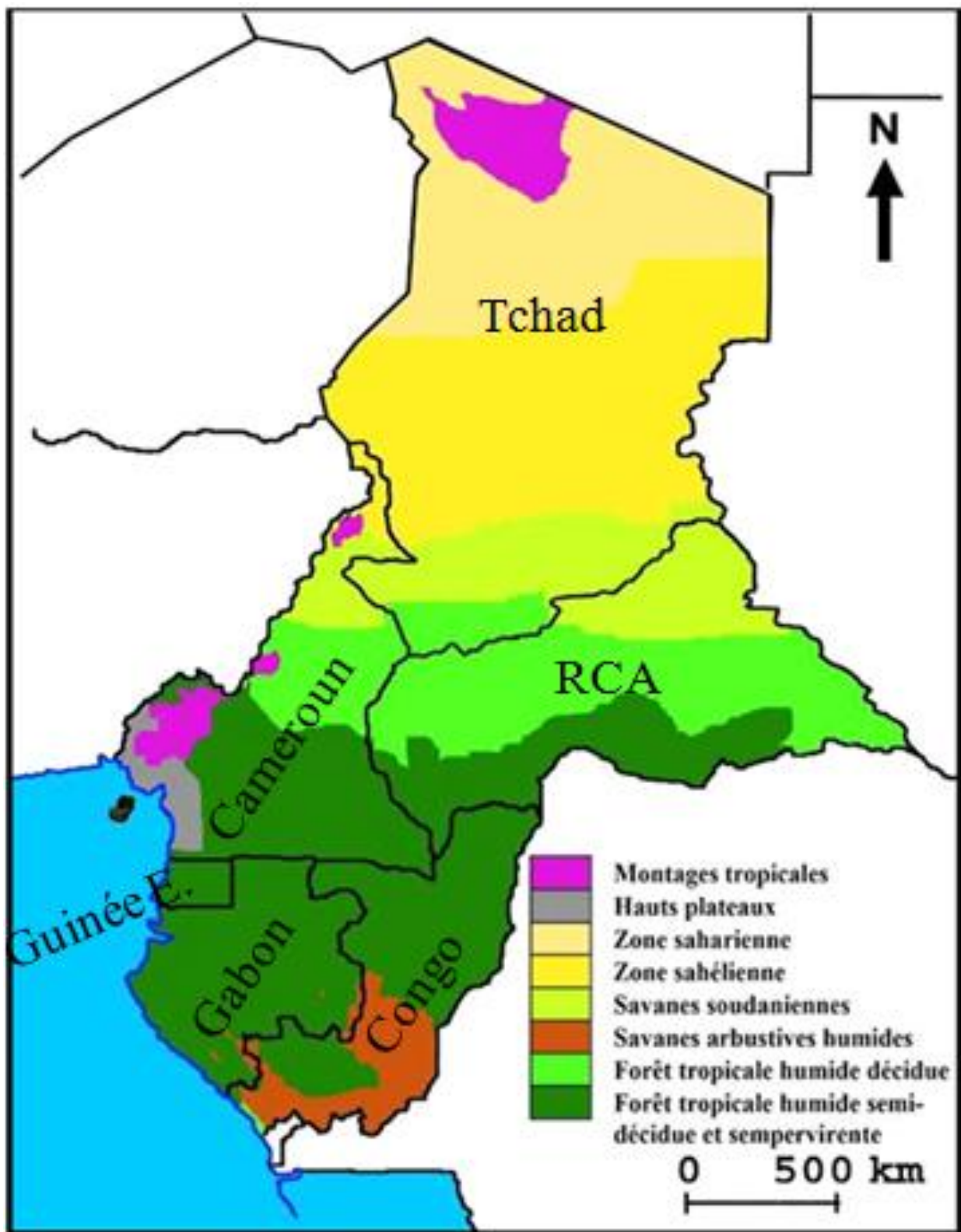


Figure 16 : Carte de la zone d'étude. Source : PRASAC

2.2. Site de collecte des échantillons

Les collectes des échantillons ont été réalisées dans les sites conjointement identifiés par les acteurs du module 4 du projet PRASAC (Annexe..), sur la base des critères agro écologiques et selon les problématiques communes à au-moins deux pays de la zone du projet. Cependant, pour des raisons d'ordre matériel et financier d'une part et de calendrier d'autre part, tous les sites retenus n'ont pas été couverts. Le choix des villages de chaque site a été déterminé en fonction de l'accessibilité, les ménages sur la base du volontariat et surtout de la disponibilité de l'agriculteur à conduire l'enquêteur dans son champ. Les zones agro écologiques choisis sont représentés dans le tableau 5 et les sites dans la figure 17. Pour des raisons évoquées ci-dessus, le nombre de sites est inégalement réparti selon les zones de culture dans chaque pays, il y a : 1 site au Cameroun (Matomb), 3 sites en Centrafrique (Pissa, Sibut et Yaloké), 2 site au Congo (Odziba et Ngo), 1 site au Gabon (Matobo), 2 site en Guinée Equatoriale (Bioko et Evaniyong) et 2 sites au Tchad (Kélo et Sarh). Chaque site regroupe plusieurs localités ou villages.

Tableau 4 : Caractéristiques agro écologiques de la zone de l'étude

Pays	Zone agro écologique	Sites
Cameroun	Forêt humide à pluviométrie monomodale	Matomb
RCA	Forêt humide décidue	Yaloké
	Forêt humide semi décidue	Pissa ; Sibut
Congo	Savane arbustives humides	Odziba et Ngo
Gabon	Forêt humide semi décidue sempervirente	Matobo (Franceville)
Tchad	Savane Soudano-Guinéenne	Sarh, Kelo

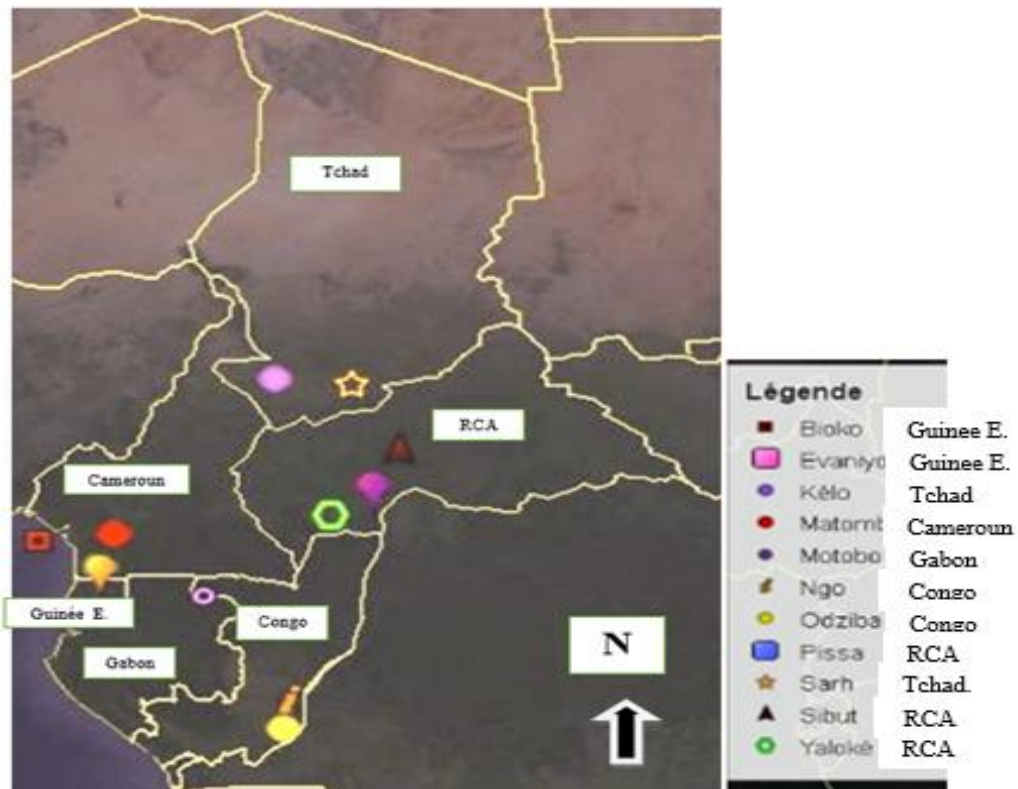


Figure 17 : Sites d'échantillonnage selon les pays

2.3 Site d'expérimentation

2.3.1 Site d'expérimentation champs école paysan

Site d'expérimentation champs école paysan se trouve à Pissa sur la route de M'baïki à 72 km de Bangui à 04°07.529'' de latitude Nord et 018°14.105'' de longitude Est et à 234 m d'altitude (Figure 25). Ce site dont la végétation naturelle est une forêt tropicale humide (Favrillon et al., 2008) est caractérisé par une végétation herbacée parsemée de quelques arbustes. Elle est dominée par *Brachiaria* sp. et *Chromolaena odorata* (L). C'est un site de longue jachère (10 ans) utilisé jadis pour la culture de riz pluvial. Le climat est de type guinéen-forestier caractérisé par une saison pluvieuse longue de 8 mois (de mars à octobre) et une saison sèche qui dure 4 mois (de novembre à février). Pendant la saison sèche se produisent quelques pluies appelées la « pluie des mangues ». Ces petites pluies favorisent la floraison du manguier. La pluviométrie moyenne annuelle varie entre 1500 et 1600 mm (Aubreville, 1950). L'humidité relative de l'air est de 70%. La température moyenne mensuelle varie entre 24°C et 27°C. Le sol du site d'étude présente une texture argilo-sableuse, rouge, caractéristique d'un sol ferralitique. Ce type de sol est le plus souvent riche en éléments nutritifs mais ils sont acides et fragiles (Boulevert, 1986).

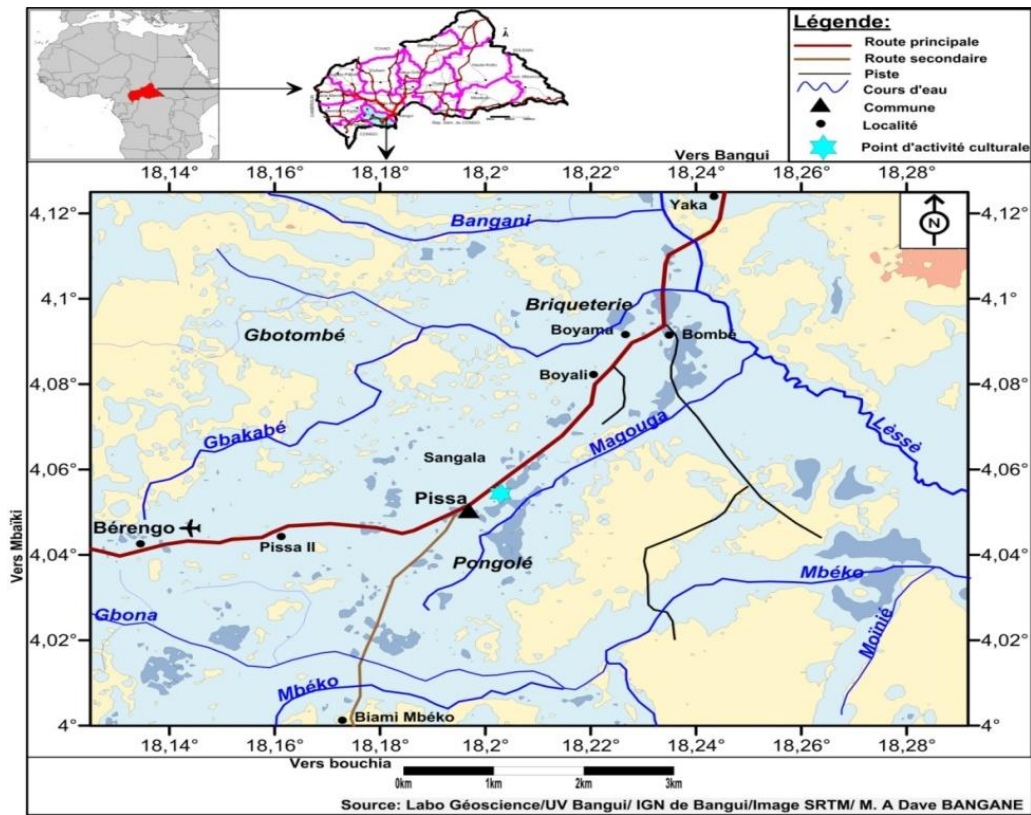


Figure 18 : Site d'expérimentation du champ école paysan (Kosh et al, 2017)

2.3.2 Lieu de l'expérimentation *in vitro*

La culture *in vitro* a été réalisée au Laboratoire des Sciences Biologiques et Agronomiques pour le développement (*LASBAD*). Ce laboratoire situé dans l'enceinte de l'Université de Bangui, au 1^{er} Arrondissement de la ville de Bangui dépend de la Faculté des Sciences de l'Université de Bangui. Ses axes de recherches sont orientés vers le développement, et particulièrement vers la microbiologie, la biotechnologie végétale, la phytopathologie et les Sciences de la Nutrition.

2.4 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles déshydratées de manioc de tous les pays de la CEMAC (Figure 17) et de boutures de quelques variétés de manioc les plus cultivées par producteurs de manioc en RCA (Figure 18 et 19).



Figure 19 : Echantillons de feuilles de manioc déshydratées.



Figure 20 : Les trois cultivars de manioc. A : Togo blanc ; B : Gabon ; C : Rendre



Figure 21 : Le cultivar six-mois présentant les symptômes de la mosaïque

2.4.1 Matériel de terrain

Le matériel de terrain comprend en générale des pinces, des ciseaux, des enveloppes, des gants, des blocs notes, des stylos, des fiches de prélèvement, de décimètre, de machettes, de cordes, de houes, de dadas, des balances mécaniques, de mettre ruban, de classeurs, des fiches de collecte, de GPS...

2.4.2 Matériel de laboratoire

Le matériel de laboratoire est constitué de : un thermocycleur, un bain marie, un vortex, un ensemble de dispositif pour l'électrophorèse (cuve de migration, une lampe UV, un générateur), des micropipettes (10ul, 20ul, 100ul, 200ul, 1000ul), des plaques PCR de 48 et 96 puits, des broyeurs électrique et mécanique, une micro-onde...

2.5 Méthodes

2.5.1 Caractérisation moléculaire des begomovirus impliqués dans la MAM dans tous les pays de la CEMAC

2.5.1.1 Echantillonnage

La figure 20 présente les localités d'échantillonnage de feuilles de manioc. 535 échantillons feuilles de manioc ont été collectés dans les localités des sites agro climatiques. Soit 92 au Cameroun, 81 au Congo, 36 au Gabon, 30 Guinée Equatoriale, 152 en RCA et 142 au Tchad.

2.5.1.2 Prélèvement des échantillons

Les échantillons ont été prélevés sur les plants de manioc présentant des symptômes de mosaïque et mis dans des enveloppes sur lesquelles certaines informations ont été énumérées : la localité, le nom de la variété, les coordonnées géographiques, niveau de sévérité, date de prélèvement. Le prélèvement des échantillons a été effectué selon la méthode de 5 carrés appliquée par Zinga et ses collaborateurs en 2008. Au total 535 échantillons provenant des six pays de la CEMAC, ont été collectés, déshydratés et envoyés au LASBAD pour la détection des virus puis une partie a été acheminée au CIRAD 3P pour l'obtention des génomes entiers.

La purification d'ADN et le clonage ont été effectués au CIRAD, le séquençage a été fait au Pays Bas au Macrogen. Ceci uniquement sur les échantillons du Congo, du Gabon et de la Guinée Équatoriale car les séquences complètes des génomes viraux du Cameroun, de la Centrafrique et du Tchad ont été obtenus récemment, respectivement par Akindade et *al* en 2010 et Zinga et *al* en 2012. La détection des espèces virales du Congo et du Gabon a été faite par Ntawuruhunga et Legg en 2007 ; Legg and Fauquet

en 2004 respectivement. Concernant les begomovirus de la Guinée Équatoriale ni le diagnostic moléculaire ni le séquençage des espèces virales n'ont été réalisés.

2.5.1.3. Extraction d'ADN total

Les molécules d'ADN ont été extraites par l'utilisation soit du Cétyle Triméthyle Ammonium Bromide (CTAB) selon le protocole de Doyle and Doyle (1987) soit du kit DNAeasy® de Qiagen (France).

2.5.1.3.1 Extraction par le CTAB

L'extraction de l'ADN total des échantillons de jeunes feuilles présentant les symptômes de la mosaïque a été faite selon le protocole de Doyle et Doyle (1987). Un poids de 0,3 g de feuilles a été broyé dans le tampon d'extraction CTAB (2% hexadecyltriméthylammonium bromide, 1,4 M NaCl, 0,2 % mercaptoéthanol, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl, pH 8,0) et chauffé à 65°C pendant 5 mn sous agitation. Après centrifugation à 6000 g, un égal volume de mélange de chloroforme et d'alcool isoamylique (24 :1) a été ajouté. Cet ajout permet de débarrasser le mélange des débris en suspension dans la phase aqueuse. La phase aqueuse a été ensuite transférée dans un nouveau tube et 2/3 d'isopropanol a été ajouté pour permettre la précipitation des acides nucléiques. Les acides nucléiques après un rinçage avec 500 µl d'éthanol (70%) pendant au moins 20 mn ont été recueillis dans un volume de 50 µl de tampon TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7,4) selon la masse de culot obtenu.

2.5.1.3.2. Extraction à l'aide du Kit DNeasy® de Qiagen

L'ADN total a été extrait des feuilles des plantes malades à l'aide du kit DNAeasy® (Qiagen, France). 20 mg de feuilles de manioc déshydratées ont été pesées, broyées et extraites tout en respectant le protocole préconisé par Qiagen France. Après l'éluion nous avons obtenu un volume total de 50 µl pour chaque échantillon et l'éluât est stocké à - 20°C.

2.5.1.4 Amplification PCR des begomovirus du manioc

2.5.1.4.1 Amorces utilisées

Les amorces consignées dans le Tableau 5 ont été utilisées pour la détection des *Begomovirus* dans les échantillons.

2.5.1.4.2 Composition des mix et programmes PCR

Les réactions PCR ont été conduites selon respectivement les protocoles de Navot *et al.* (1991), Wyatt et Brown (1996), Briddon *et al.* (2002), Bull *et al.* (2003) et Delatte *et al.* (2005). Les mix et les

programmes PCR ont été conformes aux indications des auteurs ci-dessus. Pour les deux couples d'amorces, le volume final de la réaction était de 25 μ l.

➤ **Mix PCR au LASBAD pour un échantillon**

Produits	Quantité (μl)
Eau (HPLC)	13,5
Buffer	2,5
25mMMgCl ₂	1,5
Taq Pol.	1
DNTPs	2,5
Primer 1	1
Primer 2	1
ADN	2
Total	25

➤ **Mix PCR au CIRAD pour un échantillon**

Produits	Quantité (μl)
Eau (HPLC)	11,8
Buffer	5
25mMMgCl ₂	1,5
Taq Pol.	0,2
DNTPs	2,5
Primer 1	1
Primer 2	1
ADN	2
Total	25

➤ **Programme d'amplification pour les amorces universelles**

5 min →	94°C	
1 min →	94°C	} x 30 cycles
30 s →	55°C	
1 min →	72°C	
5 min →	72°C	

Programme d'amplification pour les amorces spécifiques

5 min →	94°C	
1 min →	94°C	} x 30 cycles
30 s →	57°C	
1 min →	72°C	
5 min →	72°C	

Tableau 5 : couples d'amorces utilisés pour l'amplification d'ADN des virus

Amorces utilisées au LASBAD

Espèces virales	Couple d'amorces	Séquences des amorces (5'-3')	Taille attendue des amplicons (pb)
CMGs (Zinga et al, 2012)	VD1863	TCRTCAATGACGTTGTACCA	
	C12D2391	TTTCCAYCCVAACATTCARGG	520
ACMV (Zinga et al, 2012)	VD590	CCTTGGTATCTGTAAGGTGA	
	C1410	CAACAACGACCATTCCTGCT	820
EACMV-UG (Zinga et al, 2012)	V590ACMV	CCTTGGTATCTGTAAGGTGA	
	R2271EACMV	CCAGCATTTAGCTCAGGT	900
EACMCV (Fondong et al, 2000)	VNF031	GGATACAGATAGGGTTCCCAC	
	VNF032	GACGAGGACAAGAATTCCAAT	600
EACMV (Fondong et al, 2020)	VNF033	CCGTAACCTGGAGAGTGTTTA	
	VNF034	GGATGAGGAAAAGAATCAGTC	1000

Amorces utilisées au CIRAD (Harimalala et al., 2014)

Espèces virales	Couple d'amorces	Séquences des amorces (5'-3')	Taille attendue des amplicons (pb)
CMGs	VD1863	TCRTCAATGACGTTGTACCA	528
	C6D2391	TTTCCAYCCVAACATTCA	
ACMV	VD590	CCTTGGTATCTGTAAGGTR	820
	C1410	CAACAACGACCATTCCTGCT	
EACMV	F316	GGTTCTACGGTGTAAGAG	2173
	R2489	TGCCTCATCTCCATGTTC	
EACMCV	F1197	ACATGATGCACTGCATCT	522
	R1719	GAGGACAAGAATTCCCAATC	

CMG : cassava mosaic geminivirus ; ACMV : African cassava mosaic virus ; EACMV : African cassava mosaic virus ; EACMCV: East African cassava mosaic Cameroun virus

2.5.1.5 Electrophorèse sur gel d'agarose

Le gel d'agarose (Sigma grade biologie moléculaire RNase free) à 1 % (p/v) a été préparé dans du tampon TAE (100 mM Trizma base, 100 mM acide acétique, 2 mM EDTA) puis coulé sur le support de gel pour l'électrophorèse. La cuve d'électrophorèse a été remplie avec le tampon TAE (1%) jusqu'à immersion totale du gel. Une quantité de 10 µl d'amplicon PCR a été déposée dans les puits du gel d'agarose à 1%. La migration électrophorétique a été faite à 110 volts pendant 1 h pour la grande cuve d'électrophorèse et à 120 volts pendant 30 min pour la petite cuve au LASBAD. La visualisation du gel a été réalisée sous UV après immersion successive de 10 min dans des bains de bromure d'éthidium (BET) et de rinçage.

2.5.1.6. Séquençage partiel des produits PCR

En vue de séquencer les produits PCR après les tests de diagnostic, des réactions ont été conduites dans un volume final de 50 µl. Les 10 µl ont été déposés sur le gel d'agarose (1%) afin de vérifier la taille des amplicons et les 40 µl restant ont été purifiés à l'aide du kit de purification commercial *GFX™ PCR DNA et Gel Band Purification kit* (GE Healthcare). La concentration finale des produits PCR a été dosée à l'aide d'un Nanodrop. Ces produits purifiés et ramenés à une concentration finale de 20 ng/µl ont été envoyés à la compagnie Macrogen, Europe (Pays Bas), pour le séquençage.

2.5.1.7. Clonage des génomes complets (ADN génomiques)

a) Amplification en cercle roulant ou *Rolling Circle Amplification (RCA)*

L'ADN total extrait par DNAeasy® a été soumis à une réaction d'amplification en cercle roulant (RCA) utilisant le kit TempliPhi (GE Healthcare). L'ADN polymérase du bactériophage Phi29 amplifie l'ADN circulaire des *Geminivirus* en utilisant des hexamers comme amorces (Figure 21), (Inoue-Nagata *et al.*, 2004). Les extraits d'ADN totaux contenaient potentiellement des génomes viraux circulaires pouvant servir de matrice à la polymérase Phi29. Pour l'amplification de chaque échantillon qui a lieu selon le protocole fourni par le kit, 2,5 µl d'extrait d'ADN ont été ajoutés à 3 µl de tampon d'échantillon, et le mélange est chauffé 3 min à 95 °C. Après refroidissement à 12 °C, 5 µl de tampon de réaction (Reaction Buffer) et 0,2 µl de mélange enzymatique (fournis par le kit) sont ajoutés avant une période d'incubation de 20 h à une température constante de 30 °C au thermocycleur (type GeneAmp PCR System 9700).

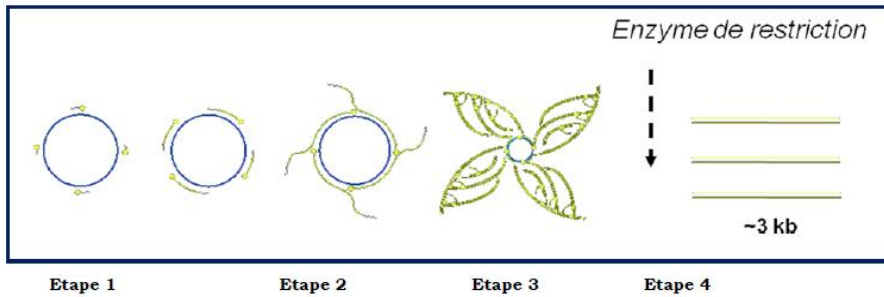


Figure 22 : Schéma du principe d'amplification par Phi 29 (Rolling circle Amplification ; source : Inoue-Nagata *et al.*, 2004). **Étape 1** : Les amorces s'accrochent à l'ADN cible ainsi que la polymérase du phage Phi 29 ; **Étape 2** : Extension et synthèse d'un nouveau brin ; **Étape 3** : Le processus d'amplification se répète sur les nouveaux brins d'ADN formés ; **Étape 4** : Digestion avec une enzyme de restriction appropriée.

Les enzymes de restrictions

Les enzymes de restrictions coupent les doubles brins d'ADN en un point précis (Figure 22). Ceux utilisés dans ce travail sont le *BamHI* et *EcoRI*.

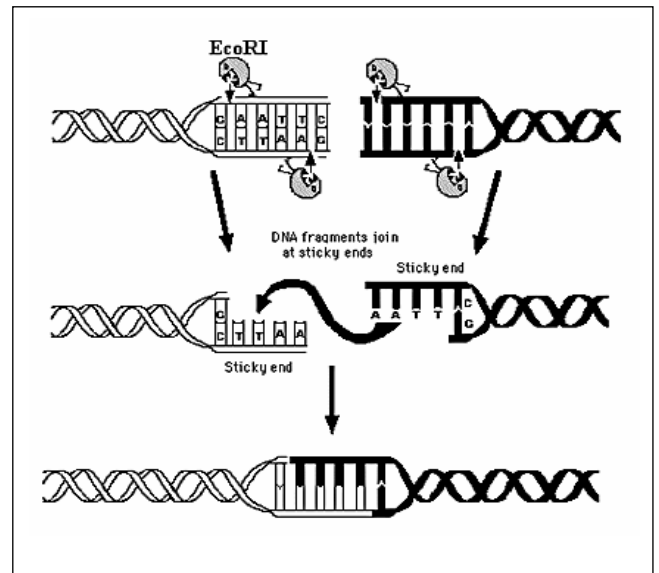
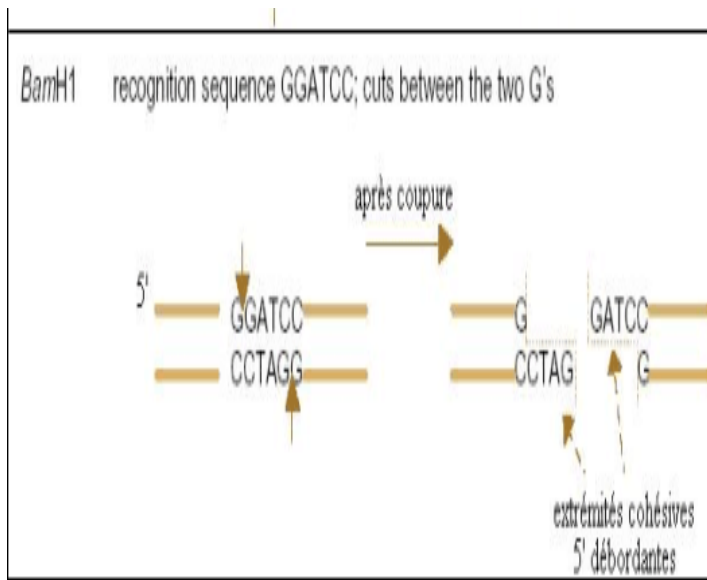


Figure 23 : Action des enzymes de restrictions *BamHI* et *EcoRI* génèrent des extrémités simples brins susceptibles de s'apparier avec d'autres simples brins en suivant la règle de complémentarité des bases, ce sont des extrémités cohésives (« bouts collants »). **A gauche** : *BamHI* coupe le brin d'ADN entre les deux nucléotides G G ; **A droite** : *EcoRI* coupe quant à lui entre G et A.

b) Préparation des inserts

Les ADN viraux amplifiés par la polymérase *Phi 29* ont été digérés par une endonucléase (*Bam*HI ou *Eco*RI) afin d'obtenir des monomères linéarisés. Pour ce faire, le mélange réactionnel composé de 12 µl du produit amplifié, de 1 µl d'enzyme de restriction (*Bam*HI ou *Eco*RI), de 2 µl de solution tampon (100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 10 mM de MgCl₂, 1 mM de Dithiothreitol) et 5 µl d'eau a été incubé à 37 °C pendant 3 h. Les produits issus de cette dernière réaction ont été déposés sur un gel d'agarose (1% p/v). Après 2 h de migration sous une tension de 110 V, le gel a été placé dans une solution révélatrice (SyberSafe) durant 20 minutes. Les bandes d'intérêt situées à environ 0,6 kb, 1,3 kb et 3 kb ont été révélées à l'aide d'une lumière bleue, afin d'éviter les dégradations de l'ADN par les UV, et ont été découpées. Ces bandes d'intérêt ont été purifiées à l'aide du kit de nettoyage de l'ADN *GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification kit* (GE Healthcare).

c) Préparation du vecteur de clonage pGEM®-3Zf (+)

La souche bactérienne *Escherichia coli* JM109 portant le vecteur de clonage pGEM®-3Zf (+), conservé à -80 °C, a été mis en culture à 37 °C pendant une nuit dans 5 ml de milieu nutritif liquide Lauria Bertani (LB) contenant 5 µl d'ampicilline (1%). Le vecteur pGEM®-3Zf (+) a été extrait de la culture bactérienne à l'aide du kit d'extraction plasmidique QIAprep® Spin Miniprep kit (QIAGEN). Le plasmide pGEM®-3Zf (+) (Figure 23) a ensuite été digéré avec la même enzyme de restriction (*Bam*HI ou *Eco*RI) que celle utilisée pour la préparation des inserts d'ADN viraux et satellites amplifiés par la polymérase Phi29, afin d'obtenir des extrémités compatibles avec celles de l'insert. Pour l'ouverture du vecteur, le mélange réactionnel était composé de : 4 µl de tampon 10X, 2 µl d'enzyme de restriction, 4 µl d'eau et 30 µl d'extraction d'ADN plasmidique. L'ADN plasmidique digéré a été dosé au Nanodrop et ajusté à 50 ng/µl.

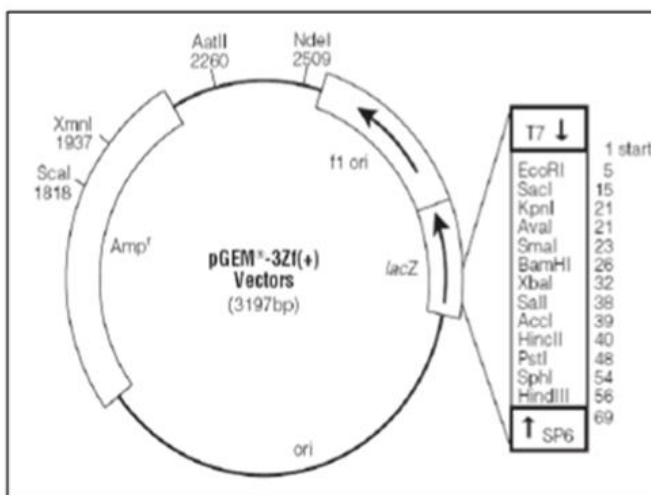


Figure 24 : Représentation du vecteur pGEMg-3Zf(+)
(source : Promega)

d) Criblage des colonies et extraction plasmidique

La sélection des colonies ayant intégré le plasmide recombinant s'est fait en deux phases. La première sélection était basée sur la résistance des bactéries portant le plasmide recombinant à l'ampicilline intégrée dans le milieu de culture. La deuxième sélection (criblage blanc-bleu) portait sur l'expression du gène *LacZ* induite par l'isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) qui a abouti à la synthèse de β -galactosidase permettant de métaboliser le X-Gal en produisant une coloration bleue (Figure 24). Par conséquent, les colonies bactériennes qui avaient incorporé un plasmide recombinant n'avaient pas de gène *LacZ* fonctionnel et avaient une coloration blanche.

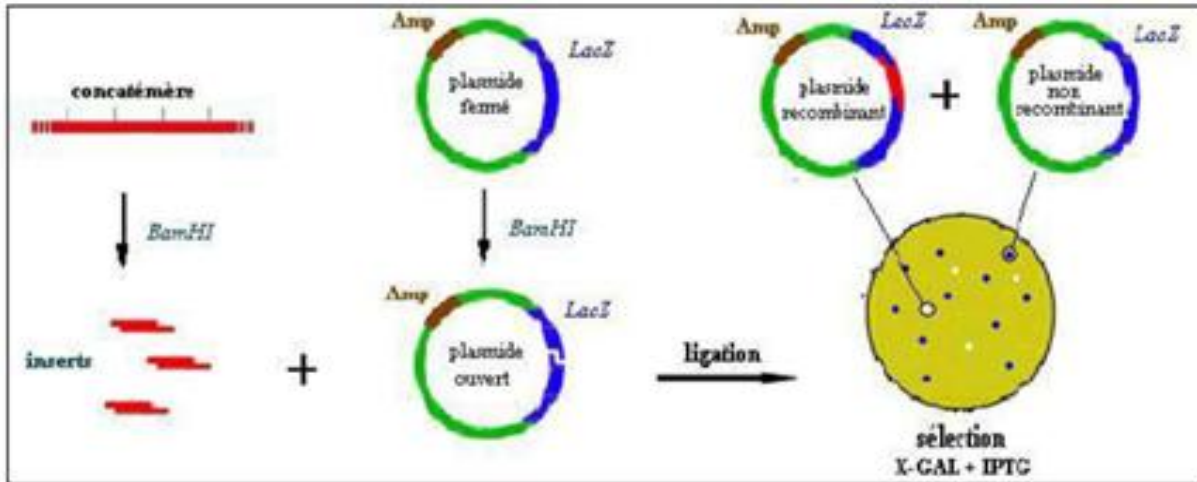


Figure 25 : Représentation des étapes de ligation, de transformation et de criblage des colonies transformées

Cette seconde sélection a permis de distinguer les bactéries ayant incorporé un plasmide recombinant (colonies blanches, gène *LacZ* inactivé) de celles ayant intégré un plasmide non recombinant (colonies bleues, gène *LacZ* fonctionnel). Afin de contrôler la présence et la taille des inserts, les colonies blanches ont été testées par PCR avec les amorces M13 Forward (M13 F) et Reverse (M13 R). Les amorces utilisées se sont fixées sur le plasmide, en marge de l'insert, aboutissant à l'amplification de l'insert ainsi qu'un fragment du plasmide (cassette) de part et d'autre de l'insert. La taille du produit attendue était d'environ 3 kb pour un génome viral.

e) Séquençage des clones viraux

Une fois identifiées, les colonies contenant l'insert ont été préparées pour le séquençage. Les cellules bactériennes ont donc été mises en culture pendant une nuit à 37°C. Les plasmides ont été extraits à l'aide du kit QIAprep Spin Miniprep (QIAGEN) dans un volume final de 50 μ l et les concentrations ajustées à 100 ng/ μ l. Le séquençage a été réalisé par la méthode Sanger par MacroGen Inc., Europe.

2.5.1.8 Traitement des données

Les taux d'incidence moléculaire des gémiviruses détectés par PCR dans chaque pays a été défini selon les formules suivantes : pour les CMGs, $IM = \frac{\Sigma \text{échantillons détectés par les amorces universelles}}{\Sigma \text{échantillons}}$; pour la recherche des espèces spécifiques, $IM = \frac{\Sigma \text{échantillons détectés par les amorces spécifiques}}{\Sigma \text{échantillons détectés par CMGs}}$.

Pour mieux comprendre les informations génétiques générées, des outils de la bioinformatique ont été utilisés. Les fragments de séquençage appelés "contigs" ont été assemblés à l'aide du logiciel DNAMAN (version 5.2.2, Lynnon Biosoft, Quebec, Canada). Une fois, les séquences consensus obtenues, l'algorithme BLASTn (NCBI) a été utilisé pour la recherche de l'identité des virus. Toutes les séquences obtenues ont été alignées par MUSCLE (Edgar RC, 2004) implémenté sous MEGA6 (Tamura et al., 2007). La reconstruction phylogénétique a été réalisée en utilisant PHYML (Castresana J, 2000) comme le meilleur modèle d'évolution de séquence. L'arbre a été construit par Treedyn (Chevenet F, 2006).

2.5.2 Evaluation de l'impact de la MAM sur les variétés de manioc par une approche champ école paysan

2.5.2.1 Echantillonnage

L'échantillonnage des boutures a été effectué de deux manières différentes. D'une part, des boutures du manioc des trois variétés (Rendre, Togo blanc et Gabon) ont été prélevées sur le parc à bois du LASBAD qui se trouvait à Kapou à 50 km de Bangui et ont été amenées sur le site d'expérimentation. D'autre part les paysans ont échantillonné les boutures de ces mêmes variétés et ont amené sur le même site d'expérimentation. Un champ école paysan avec un groupement constitué de 22 producteurs du manioc dont 12 femmes et 10 hommes, a été mis en place pour montrer de bonnes pratiques culturelles aux paysans producteurs du manioc. Les boutures utilisées sont issues de trois cultivars de manioc les plus cultivées par la population centrafricaine, ce sont : les cultivars Togo blanc et Gabon sont des cultivars introduits et le cultivar Rendre qui est un cultivar local. Les caractéristiques de ces cultivars sont décrites dans le tableau 4.

Tableau 6 : Caractéristiques des variétés utilisées.

Variété	Rendre	Togo blanc	Gabon
Type de manioc	Amer	Doux	Doux
Couleur de tiges	Violette	Blanche	Brune
Couleur de feuilles	Violette	verte	verte
Couleur des racines épluchées	blanche	blanche	blanche
Période de récolte	12-24 mois	12-18 mois	16-20 mois
Présence de la mosaïque	+++	0	+
Rendement	Bon	Bon	Moyen
Caractères organoleptiques	Bon	Bon	Bon

+++ : Forte présence de la mosaïque ; 0 : absence de la mosaïque ; + : faible présence de la mosaïque

2.5.2.4 Conduite expérimentale

Le plan parcellaire est constitué de deux sous parcelles de 38 m x 26 m (988 m²) : une parcelle pour les techniques culturales des paysans (TCP) ou Farmers Farming Techniques (FFT) et une autre pour les techniques culturales conventionnelles (TCC) ou Conventional Farming Techniques (CFT).

La parcelle des paysans était randomisée avec une distribution aléatoire ; la distance entre les pieds de manioc variant de 50 à 80 cm, la longueur des micro-boutures n'était pas constante, elle est de 20 à 35 cm. Au total 816 boutures de manioc ont été plantées dans la parcelle des producteurs (Figure 26).

La parcelle expérimentale est constituée de 6 sous-parcelles de 10 m² de surface. L'espacement entre les parcelles élémentaires était de 2 m, la distance entre les pieds de manioc était de 1mx1m, et la longueur de micro-boutures était de 25 m. Le nombre total de plants de manioc était de 600 (Figure 26).

La parcelle conventionnelle a été sarclée tous les 3 mois soit 4 fois avant la récolte contrairement à la parcelle des paysans.

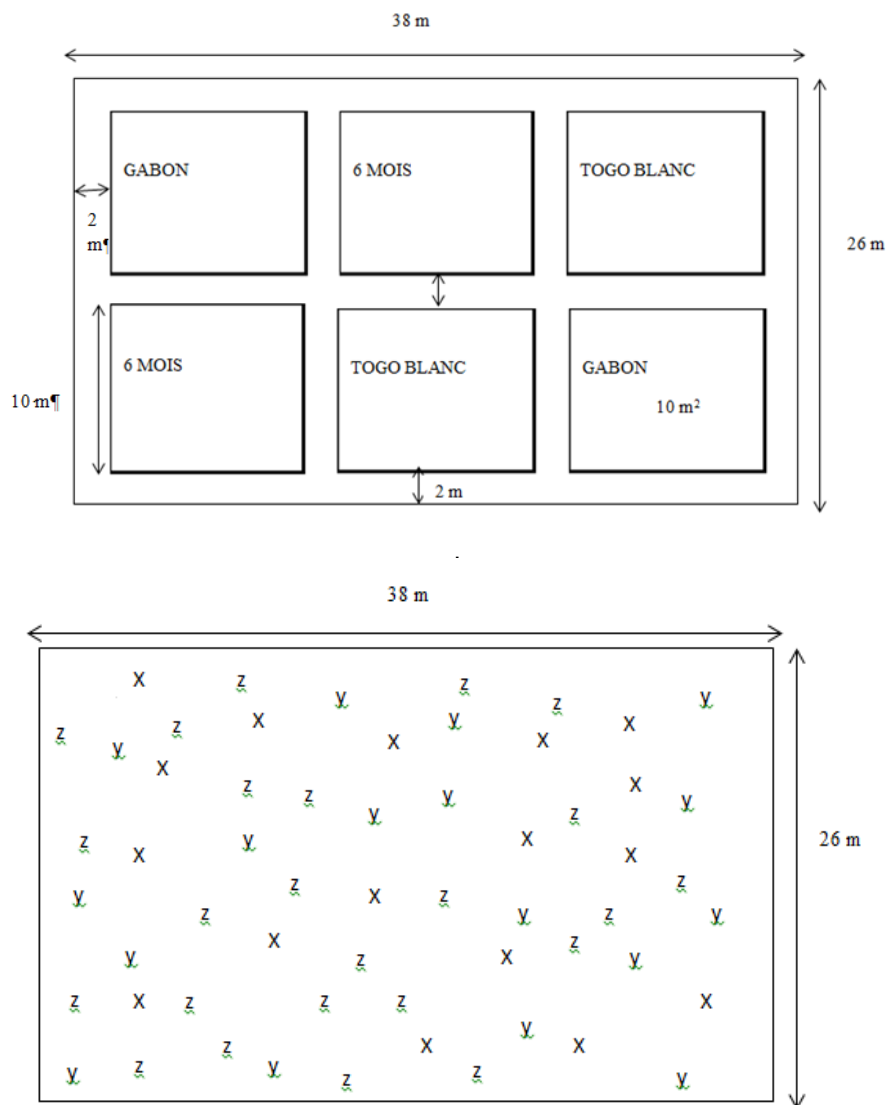


Figure 26 : Dispositif parcellaire, En haut : dispositif pour la technique conventionnelle, En bas : dispositif pour la technique traditionnelle, Surface des parcelles : 38 m X 26m= 988 m²
 X = Rendre, y =Gabon, z = Togo blanc

2.5.2.5 Collecte des feuilles pour la détection des Begomovirus du manioc

Pour les 2 parcelles, 10 échantillons de feuilles de manioc du cultivar Togo blanc asymptotique ont été prélevés et amenés au LASBAD pour la détection des virus afin de vérifier son état phytosanitaire. 200 mg des échantillons de feuilles de manioc déshydratées ont été pesés, broyés et extraits à l'aide d'un kit CATB (Cetyl trimethyl ammonium bromide) (cf. 2.1.2.2.1). La détection des Begomovirus sur des échantillons de feuilles a été réalisée par la méthode PCR (cf. 2.1.2.3) en utilisant des amorces universelles qui reconnaissent toutes les espèces. Ce sont la paire d'amorces VD1863 / TCRTCAATGACGTTGTACCA and C12D2391 / TTTCCAYCCVAACATTCARGG.

2.5.2.6 Analyse et traitement des données

A la récolte des paramètres phytosanitaires et agronomiques suivants ont été analysés pour la comparaison entre les pratiques culturales paysannes et celles améliorées et également entre les variétés. Ces paramètres sont les suivants : l'incidence et la sévérité de la mosaïque, la densité des mouches blanches, la hauteur et la circonférence des tiges, le nombre de tubercules et le poids des racines. Ils ont été mesurés par pieds par cultivars et par pratiques culturales.

Les données ont été saisies et codées sur la feuille de calcul Excel version 2010 et toutes les données ont été soumises au test ANOVA (modèle Anova.9) sur le logiciel XLSTAT et les histogrammes ont été construits à l'aide du tableau croisé dynamique.

2.5.3 Lutte contre la MAM par l'utilisation des boutures de manioc infectées assainies

2.5.3.1 Echantillonnage

Des boutures d'un cultivar de manioc « six-mois » très sensible à la mosaïque mais beaucoup préférée par les producteurs de manioc en Centrafrique est utilisé comme matériel. Les boutures ont été prélevées sur des tiges de manioc âgées de 12 mois dont les feuilles présentaient des symptômes de la mosaïque avec une sévérité moyenne de 3,5 selon l'échelle de l'IITA. Ces boutures ont été collectées à Pissa à 74 km de Bangui et transférées au Laboratoire des Sciences Biologiques et Agronomiques pour le Développement (LASBAD) pour être assainies.

2.5.3.2 Traitement par la thermothérapie

Des tiges du cultivar six mois ont été découpées en bouture de 25 cm donnant au total 100 micro boutures. Ces boutures ont été trempées dans la solution d'eau de javel à 10%, puis rincées à l'eau de robinet, ensuite repiquées dans des sachets polyéthylènes noirs contenant du sol stérile. Les boutures repiquées ont été acheminées dans la salle de thermothérapie pour être placées dans des bacs à culture, elles ont été arrosées tous les 48 h. La température dans cette enceinte était maintenue à 40°C. La photo périodicité est de 16 h /8. Ces plantes ont été donc maintenues sous ces conditions pendant deux semaines avant de faire l'objet des essais expérimentaux.

2.5.3.3 Préparation des milieux de culture

Les milieux de culture in vitro ont été apprêtés pour l'ensemencement des explants. C'est une étape essentielle qui nécessite beaucoup d'attention et de précaution car les erreurs dans la préparation des milieux de culture seront les causes principales d'échecs coûteux (Street, 1971).

Le milieu de base adopté pour la culture des explants est le milieu de Murashige and Skoog (4,4g) pour un litre de solution auquel nous avons ajouté 100mg de myoinositol, 30g de Sucrose, 1mg de thiamine, 1,5mg de Pyridoxine et des phytohormones telles 0,02mg d'ANA ; 0,05mg de BAP ; 0,02mg de GA₃ (**Annexe 1**).

Le pH du milieu a été ajusté à 5,7 (pH-mètre METROHM) à l'aide d'une solution de HCl 0,1N ou NaOH 0,1N. Ensuite nous avons ajusté le niveau de la solution à un litre. Une partie de la solution a été prélevée pour y ajouter 3,5 g de Phytigel et stérilisée. La solution sortie de la micro-onde a été mélangée avec la solution qui est restée dans l'erlenmeyer sur l'agitateur magnétique. La solution issue du mélange a été coulée dans des tubes à essai et stérilisée à l'autoclave (autoclave SULZER) à 121 °C pendant 30 minutes. Après la stérilisation, les milieux ont été refroidis et stockés dans un réfrigérateur pour être utilisés lors de l'ensemencement.

2.5.3.4. Culture des méristèmes et des fragments de tiges

Le lendemain de la préparation des milieux de culture, les explants prélevés des apex des tiges de manioc, ont été lavés avec de l'eau de robinet pendant 5 mn puis ils ont été transférés sous la hotte à flux laminaire. De l'eau de javel (10 %) a été ajoutée sur les explants introduits dans des bocaux, le tout a été agité pendant 5 mn. Les explants ont ensuite été placés dans l'alcool à 70 % pendant 5 mn tout en remuant lentement. Enfin ils ont été rincés avec de l'eau stérile 3 fois pendant 5 mn tout en agitant vigoureusement les bocaux pour se débarrasser totalement des produits utilisés.

Dans cette étude, nous avons utilisé deux méthodes de culture : l'ensemencement à partir des méristèmes et celui à partir des fragments de tige. Ces explants ont été prélevés à l'aide d'une lame de scalpel sous une hotte à flux laminaire horizontale ((MECAPLEX) et déposés dans le milieu de culture ou milieu d'initiation.

Le prélèvement des méristèmes a été faite en utilisant un microscope stéréoscopique pour débarrasser l'enveloppe foliaire des ébauches. Par contre les fragments de tiges ont été prélevés de telle manière que chaque fragment comprend un nœud.

Les tissus ensemencés ont été transférés dans la salle d'acclimations sous une température de 18°C et un éclairage de lumière de 3000 Lux avec une photo périodicité de 16 H/8.

2.5.3.5 Multiplication in vitro

Après la régénération, des vitroplants ont été extraits des tubes sous la hotte et découpés en microboutures uninodales qui ont été repiquées sur un milieu de prolifération. Cette opération a été répétée

pendant plusieurs fois en éliminant systématiquement le bourgeon apical, ainsi que les nœuds de base présentant les feuilles jaunies.

2.5.3.6 Sevrage des vitro plants

Après quelques mois de multiplication des vitro plants ont été sevrés, selon le protocole de Otabo et Mabanza, 1996. Des vitro plants ayant au moins 3 feuilles, 3 racines et une taille de 5 cm ont été choisis pour réaliser cette opération. Le substrat a été soumis à une stérilisation humide à l'autoclave pendant 30 min à 120°C.

Les microplants extraits des tubes ont été rincés avec de l'eau pour éliminer la gélose puis ils ont été introduits directement dans le substrat. L'ensemble a été placé immédiatement dans le bac de sevrage et a été mis en régénération sous un endroit humide protégé contre les insectes vecteurs de la mosaïque.

2.5.3.8 Durcissement

C'est le passage des microplants en pépinières. Les microplants ont été prélevés et repiqués immédiatement dans le nouveau substrat stérilisé. L'ensemble a été mis en régénération sous le même endroit humide protégé contre les insectes vecteurs de la mosaïque.

2.5.3.9 Détection des virus de la mosaïque sur les plants de manioc sevrés

Pour vérifier l'état phytosanitaire de ces microplants, quelques feuilles ont été prélevées pour être analysées par la PCR. Au total onze (11) échantillons ont été collectés : 6 (six) échantillons de feuilles des microplants issus des fragments de tiges, trois (3) échantillons de feuilles des microplants issus des méristèmes et deux (2) échantillons témoins de feuilles de manioc non traités.

L'extraction d'ADN total a été faite grâce au Kit Qiagen (cf. 2.1.2.2.1). Dans cette étude les amorces universelles (VD1863 / TCRTCAATGACGTTGTACCA and C12D2391 / TTTCCAYCCVAACATTCARGG) ont été utilisées pour détecter les *begomovirus*. Les réactions PCR ont été conduites dans un volume final de 25 µl (cf. 2.1.2.3) en utilisant les amorces universelles.

2.5.3.10 Paramètres étudiés et analyses des données

Les paramètres étudiés sont l'effet de la thérapie sur la survie des germes pathogènes sur les plantes développées, le taux de réussite des vitro plants à l'acclimatation, l'expression des symptômes de la mosaïque sur les plants acclimatés.

Des données collectées ont été saisies sur le tableur excel version 2010 et analysées par le test t de Student grâce aux logiciels XLSTAT et R.

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Résultats

3.1.1 Caractérisation moléculaire des begomovirus impliqués dans la MAM dans tous les pays de la CEMAC

3.1.1.1 Diagnostic des espèces virales par la PCR

Les espèces virales détectées et les incidences moléculaires sont représentées dans le tableau 7. Les virus détectés par les amorces universelles étaient au nombre de 362 sur 535 échantillons avec une incidence moléculaire moyenne de 68%. L'amplification PCR a donné au Cameroun 63 échantillons positifs, 98 en RCA, 60 au Congo, 28 au Gabon, 17 en Guinée Équatoriale et 96 au Tchad avec des incidences moléculaires respectives de 68% ; 64% ; 72,24% ; 77,77% ; 57% et 68%.

La détection des espèces virales en utilisant les amorces spécifiques a donné comme résultats : au Cameroun, 68% d'ACMV, 49% d'EACMV, 27% d'EACMV-UG et 35% d'EACMCV ; en RCA, 75% d'ACMV et 32% d'EACMV-UG ; au Congo, 63% d'ACMV, 18% d'EACMV, 25% d'EACMV-UG ; au Gabon, 65% d'ACMV, 24% d'EACMV, 53% d'EACMV-UG et en Guinée Equatoriale 65% d'ACMV, 24% d'EACMV, 53% d'EACMV-UG et 35% d'EACMCV.

La figure 27 montre la photo de gel obtenue après PCR. E : c'est le gel montrant les bandes d'ADN positives avec le couple d'amorces reconnaissant l'espèce EACMV de la Guinée Equatoriale et F est le gel montrant les bandes d'ADN positives avec le couple d'amorces reconnaissant tous les begomovirus du Gabon.

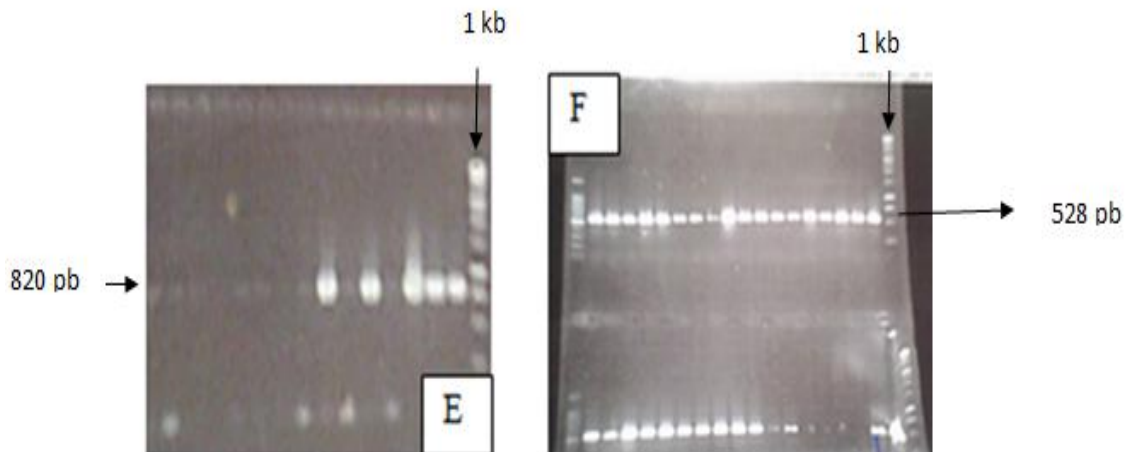


Figure 27: photos de gel, E: Guinée Equatoriale, F: Gabon

Tableau 7 : Incidence moléculaire des begomovirus dans les 6 pays de la CEMAC

Pays		CMGs	ACMV	EACMV	EACMV-UG	EACMCV
Cameroun	Nbre d'échantillons total	92				
	Nbre des échantillons positifs	63	43	31	17	22
	Incidence moléculaire (%)	68	68	49	27	35
RCA	Nbre d'échantillons total	152				
	Nbre des échantillons positifs	98	74	0	32	0
	Incidence moléculaire (%)	64	75	0	32	0
Congo	Nbre d'échantillons total	83				
	Nbre des échantillons positifs	60	38	11	15	0
	Incidence moléculaire (%)	72,24	63	18	25	0
Gabon	Nbre d'échantillons total	36				
	Nbre des échantillons positifs	28	22	16	19	0
	Incidence moléculaire (%)	77,77	78	57	68	0
Guinée Equat.	Nbre d'échantillons total	30				
	Nbre des échantillons positifs	17	11	4	9	6
	Incidence moléculaire (%)	57	65	24	53	35
Tchad	Nbre d'échantillons total	142				
	Nbre des échantillons positifs	96	76	0	29	0
	Incidence moléculaire (%)	68	79	0	53	0

Diag : diagnostic ; **ACMV** : African cassava mosaic virus ; **EACMV** : East African cassava mosaic virus ; **EACMCV** : East African cassava mosaic Cameroon virus, **EACMV-UG** : East African cassava mosaic virus souche Ougandaise.

La figure 28 présente la diversité des begomovirus détectés par la PCR. Elle décrit : quatre espèces de begomovirus au Cameroun en Guinée Equatoriale (ACMV, EACMV-UG, EACMV et EACMCV) ; trois espèces au Congo et au Gabon (ACMV, EACMV-UG, EACMV) ; deux espèces en RCA et au Tchad (ACMV, EACMV-UG).

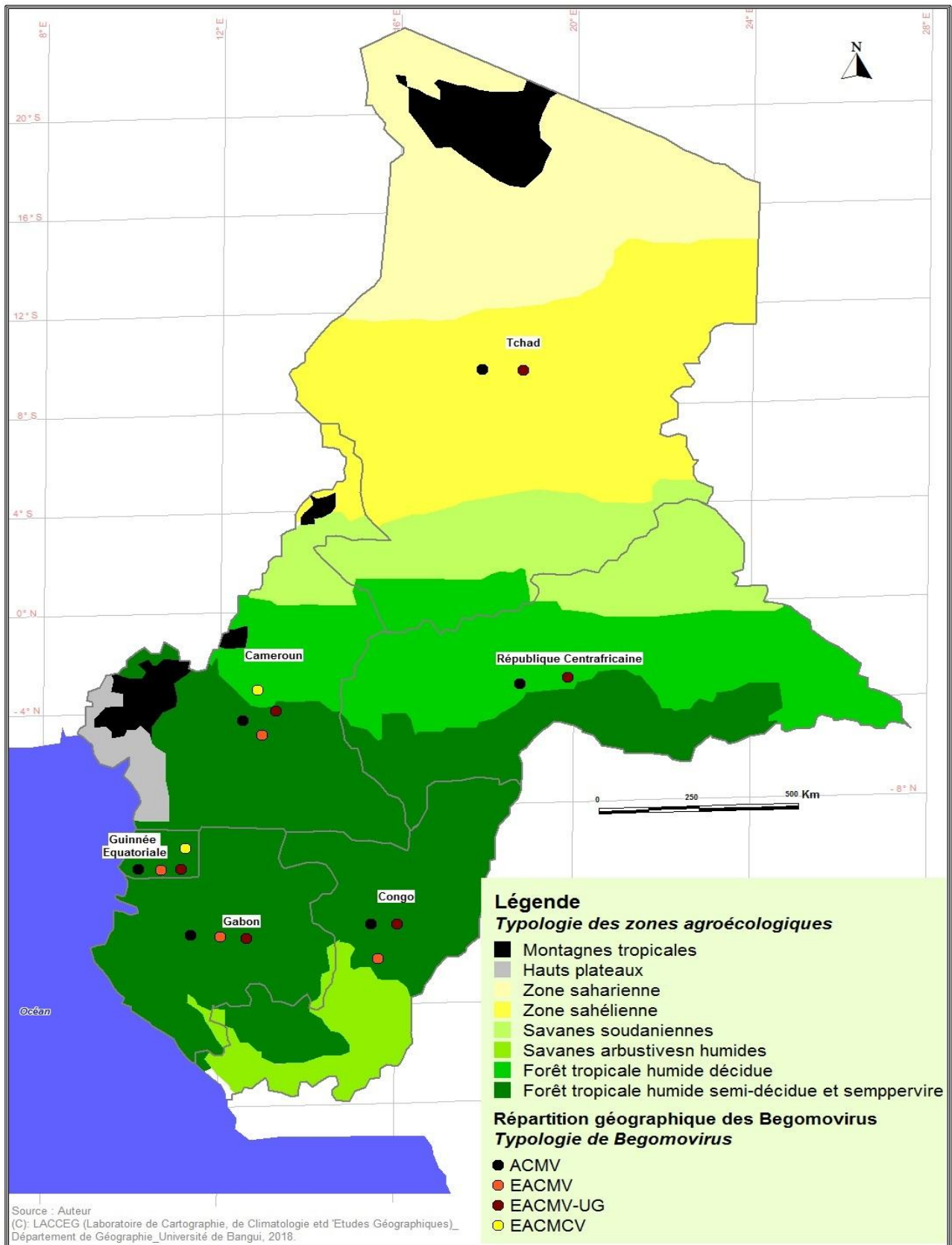


Figure 28 : Diversité génétique des begomovirus observée dans la zone CEMAC

3.1.1.2. Le séquençage des produits PCR

Le séquençage partiel a confirmé la présence d'ACMV, d'EACMV-UG, d'EACMV au Congo, au Gabon et en Guinée Equatoriale et d'EACMCV uniquement en Guinée Equatoriale (Tableau 8). Des infections mixtes à l'ACMV et EACMV-UG sont notées sur les échantillons du Gabon et de la Guinée Equatoriale, EACMV-UG et EACMCV sont également notées en Guinée Equatoriale. Seuls les échantillons de ces trois pays ont été séquencés. Nous signalons toujours que le séquençage des espèces virales du Cameroun, de la Centrafrique et du Tchad a été réalisé dans des travaux antérieurs confirmant la présence de toutes les quatre souches au Cameroun (Fondong et al., Akindade et al., 2010) et de ACMV et EACMV-UG en Centrafrique et au Tchad (Zinga et al., 2012).

Tableau 8 : Répartition des espèces virales de la mosaïque africaine du manioc après le séquençage partiel

	ACMV	EACMV	EACMV-UG	EACMCV
Congo	1	1	1	0
Gabon	1	1	1	0
Guinée E.	1	1	1	1

ACMV : African cassava mosaic virus ; *EACMV* : East African cassava mosaic virus ; *EACMCV-UG* : East African cassava mosaic Cameroon virus, **1**= présence de la souche virale,

0 = absence de la souche virale

3.1.1.3. Séquençage des génomes complets

Les ADN totaux bruts des isolats soumis à la stratégie d'amplification par le templi Phi®, le clonage et le séquençage des génomes entiers ont permis d'obtenir 10 séquences d'ADN-A et 10 séquences d'ADN-B (Tableau 8). Il y a 4 génomes entiers au Congo, 10 au Gabon et 6 en Guinée Equatoriale. Parmi ces séquences complètes, il n'y a pas de séquences d'ACMV, d'EACMV et d'EACMCV de la Guinée Équatoriale ainsi que l'EACMV-UG du Congo et EACMV du Gabon, alors que ces espèces ont été détectées par l'amplification PCR et confirmées par le séquençage partiel.

Les séquences de l'ACMV-ADN-A du Congo sont apparentées aux virus de la Côte d'Ivoire à 98% alors que celle de l'ACMV-ADN-B sont proches des virus de la RCA à 95% en moyenne.

L'espèce ACMV-ADN-A du Gabon est 98% proche de celle de l'Ouganda et ACMV-ADN-B sont proches des virus de la RCA à 94% et du Madagascar à 93,64%. Les séquences des espèces EACMV-UG-ADN-A sont apparentées aux virus de la Centrafrique de l'Ouganda et du Tchad avec des pourcentages d'identité nucléotidique respectivement de 99%, 99%, et 96%. Les espèces EACMV-UG-

ADN-B du Gabon, présentent des séquences proches des virus de la RCA (98%) et de l'Ouganda (98,7%).

En Guinée Equatoriale les séquences de l'EACM-UG sont toutes apparentées aux virus du Tchad à 99,99%. Tandis que celles de l'EACMV-UG-ADN-B sont proches des virus de la RCA (98%) et les séquences de l'espèce EACMV-ADN-A sont apparentées aux virus de l'Ouganda (95%).

Tableau 9 : Récapitulatif des séquences complètes

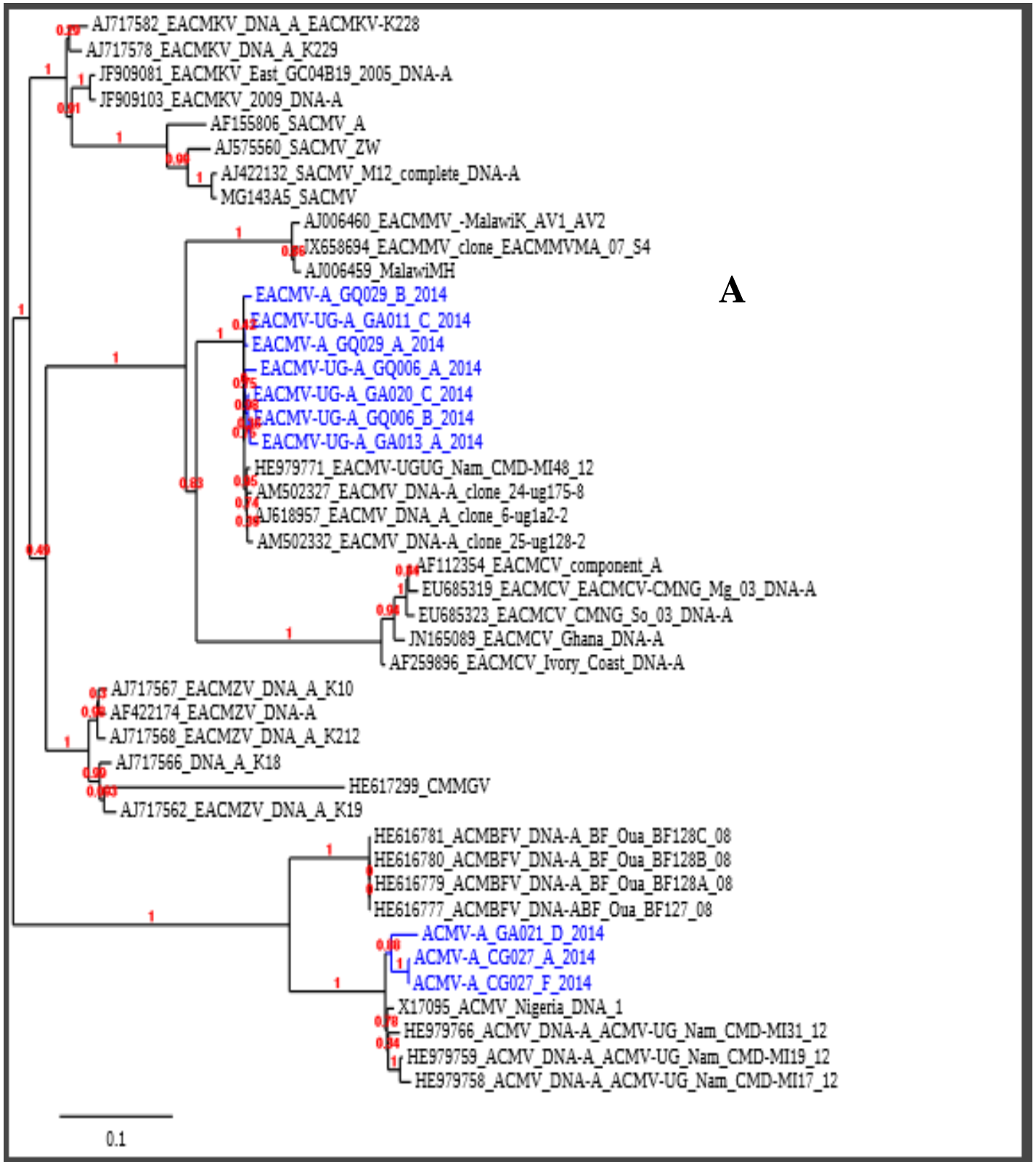
Pays	clones viraux	Séquence complète	Taille (nt)	Virus apparentés	Identité (%)	
Congo	CG027-EcoRI-A-ACMV-A	ACMV-A [CG027:A:2014]	2710	ACMV [Ivory coast] DNA-A	98	
	CG027-EcoRI-F-ACMV-A	ACMV-A [CG027:F:2014]	2710	ACMV [Ivory coast] DNA-A	98	
	CG039-EcoRI-C-ACMV-B	ACMV-B [CG039:C:2014]	2743	ACMV-CF:CF92BE:07-DNA-B	94	
	CG039-EcoRI-F-ACMV-B	ACMV-B [CG039:F:2014]	2743	ACMV-CF:CF92BE:07-DNA-B	96	
Gabon	GA021-EcoRI-D-ACMV-A	ACMV-A [GA021:D:2014]	2799	ACMV-[UG; Nam:CMD-M129:12] DNA-A	98	
	GA011-BamHI-C-EACMV-UG-A	EACMV-UG-A [GA011:C:2014]	2682	EACMV-UG DNA-A [CF36-2007]	99	
	GA013-BamHI-A-EACMV-UG-A	EACMV-UG-A [GA013:A:2014]	2560	EACMV-UG DNA-A [UG:K72]	99	
	GA020-BamHI-C-EACMV-UG-A	EACMV-UG-A [GA020:C:2014]	2798	EACMV-UG DNA-A [TD1-2008]	96	
	GA021-EcoRI-B-ACMV-B	ACMV-B [GA021:B:2014]	2799	ACMV-CF:CF140BE:07	94	
	GA031-EcoRI-B-ACMV-B	ACMV-B [GA031:B:2014]	2720	ACMV MG:MG343B6:6	93,64	
	GA021-BamHI-B-EACMV-UG-B	EACMV-UG-B [GA021:B:2014]	2419	EACMV-UG-CF:CF140BE:07	98,19	
	GA023-EcoRI-D-EACMV-UG-B	EACMV-UG-B [GA023:D:2014]	2775	EACMV-UG DNA-A [UG:K282]	98	
	GA031-EcoRI-A-EACMV-UG-B	EACMV-UG-B [GA03:A:2014]	2775	EACMV-UG -CF:CF140BE:07	98,7	
	GA038-EcoRI-A-EACMV-UG-B	EACMV-UG-B [GA038:A:2014]	2775	EACMV-UG-CF:CF44BE:07	98,41	
	Guinée E.	GQ006-BamHI-A-EACMV-UG-A	EACMV-UG-A [GN006:A:2014]	2549	EACMV-UG DNA-A [TD1-2008]	99
		GQ006-BamHI-B-EACMV-UG-A	EACMV-UG-A [GN006:B:2014]	2548	EACMV-UG DNA-A [TD1-2008]	99
GQ029-BamHI-A-EACMV-A		EACMV-A [GN029:A:2014]	2798	EACMV- DNA-A [6-ug1a22]	95	
GQ029-BamHI-B-EACMV-A		EACMV-A [GN029:B:2014]	2798	EACMV- DNA-A [6-ug1a22]	95	
GQ006-BamHI-E-EACMV-UG-B		EACMV-UG-B [GN006:E:2014]	2402	EACMV-DNA-B	98	
GQ027-EcoRI-C-EACMV-UG-B		EACMV-UG-B [GA027:C:2014]	2775	EACMV-UG DNA-B [Uganda 1]	98	

ACMV-A : African cassava mosaic virus à ADN A ; *ACMV-B* : African cassava mosaic virus à ADN B ; *EACMV-UG-A* : East African cassava mosaic virus, souche Ougandaise à ADN-A ; *EACMV-UG-B* : East African cassava mosaic virus, souche Ougandaise à ADN-B ; **GQ** : Guinée Equatoriale ; **CG** : Congo. **GA** : Gabon.

3.1.1.4 Phylogénie

La figure 29 décrit l'arbre de probabilité maximale basé sur les séquences d'ADN-A et B complètes des isolats du Congo, du Gabon et de la Guinée Equatoriale du virus de la mosaïque africaine du manioc (ACMV), du virus de la mosaïque du manioc d'Afrique de l'Est – Ouganda (EACMV-UG) et du virus de la mosaïque du manioc d'Afrique de l'Est (EACMV) rapportés ici en couleur bleue, ainsi que des séquences supplémentaires de manioc géminivirus mosaïque d'Afrique. Les séquences du composant A sont classées dans la lignée des virus de l'Ouganda et du Nigéria. Tandis que celles du composant B sont

classées dans la lignée des virus de la Centrafrique, du Tchad, de l'Ouganda et du Nigéria. Ainsi, l'arbre phylogénétique montre bel et bien la proximité des virus identifiés dans ce travail avec ceux existants dans GenBank.



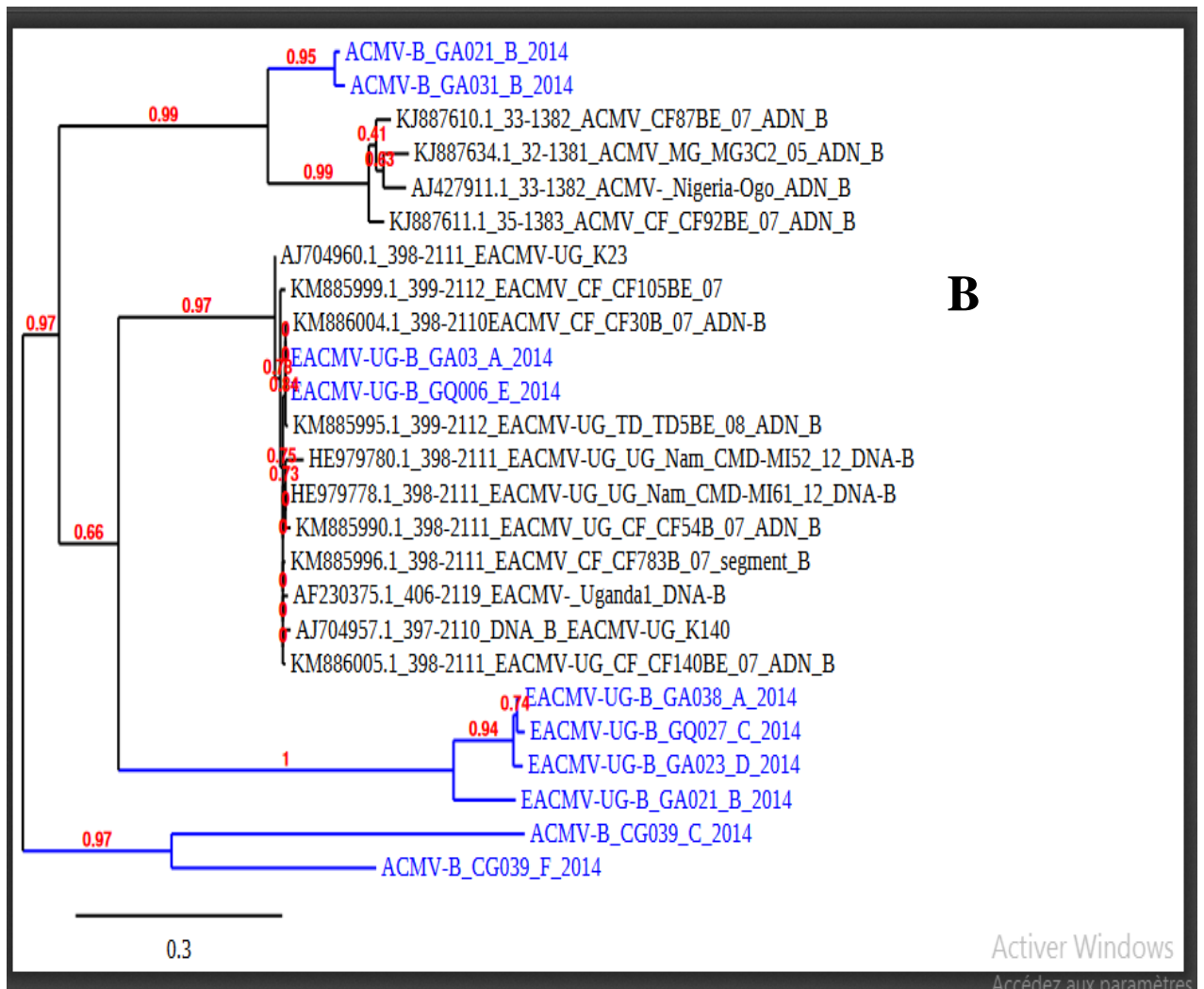


Figure 29 : Arbre phylogénétique

A : Un total de 40 séquences d'ADN-A dont 10 séquences en couleur bleu sont nos séquences. Les autres sont leurs homologues de Genbank.

B : Un total de 25 séquences d'ADN-B dont 10 séquences en couleur bleu sont nos séquences. Les autres sont leurs homologues de Genbank

3.1.1.5 Répartition géographique des espèces virales

Tableau 10 : origine géographique des geminivirus identifiés dans les feuilles de manioc collectées au Congo, au Gabon et en Guinée Equatoriale

Isolat	Localité	Pays	Coordonnées GPS			Espèces identifiées
			Longitude	Latitude	Elévation	
CG027	Ngo	Congo	02°29.130'S	015°45.554'E	635 m	ACMV-A
CG039	Odziba	Congo	04°46.282'S	014°37.171'E	586 m	ACMV-B
GA011	Konda	Gabon	01°34.761'N	013°09.948' E	419 m	EACMV-UG-A
GA013	Ndzakana	Gabon	01°39.211' N	013°33.260'E	385 m	EACMV-UG-A
GA020	Moupia	Gabon	01°50.329' N	013°36.112' E	458 m	ACMV-A
GA021	Motobo	Gabon	01°20.474' N	013°31.830' E	320 m	EACMV-UG-A
GA023	Bitomo	Gabon	01°44.307' N	013°37.845' E	412 m	ACMV-B
GA031	Biniomi	Gabon	01°41.657' N	013°40.642' E	434 m	EACMV-UG-B
GA038	Lebombi	Gabon	01°36.095' N	013°09.607' E	485 m	EACMV-UG-B
GQ006	Bioko	Guinée E.	03°27.657' N	08°865.00' E	100 m	EACMV-UG-A ; EACMV-UG-B
GQ027	Evinayong	Guinée E.	01°50.212' N	10°52.079' E	531 m	EACMV-UG-A
GQ029	Evinayong	Guinée E.	01°50.333' N	10°14.386' E	606 m	EACMV-B

ACMV-A : *African cassava mosaic virus* à ADN A ; **ACMV-B** : *African cassava mosaic virus* à ADN B ; **EACMV-UG-A** : *East African cassava mosaic virus*, souche Ougandaise à ADN-A ; **EACMV-UG-B** : *East African cassava mosaic virus*, souche Ougandaise à ADN-B ; **GQ** : Guinée Equatoriale ; **CG** : Congo. **GA** : Gabon.

Le tableau ci-dessus présente des espèces de begomovirus du manioc caractérisées dans 147 échantillons de feuilles de manioc infectées du virus de la MAM au Congo, au Gabon et en Guinée Equatoriale. Au Congo, le virus de la mosaïque africaine du manioc ADN A a été retrouvé à Ngo et ADN B à Odziba. Au Gabon les composants A et B des espèces ACMV et EACMV-UG sont rencontrés dans le département de Franceville dans les villages de Konda, Ndzakana, Moupia, Motobo, Bitomo, Biniomi, Lebombi. Enfin, en Guinée Equatoriale, l'EACMV-UG ADN A et B a été identifié à Bioko et EACMV ADN B a été également isolés dans les échantillons de feuilles de manioc collectés à Evaniyong (Guinée Equatoriale).

3.1.2 Evaluation de l'impact de la MAM sur les variétés de manioc par une approche champ école paysan

3.1.2.1 Incidence de la maladie

Les incidences moyennes de la mosaïque sont de 0%, 82% et 8% respectivement sur les cultivars Togo blanc, Rendre et Gabon avec une différence significative entre les trois cultivars ($p < 2e-16$). Il n'y a pas de différence significative entre les pratiques culturales (Figure 29).

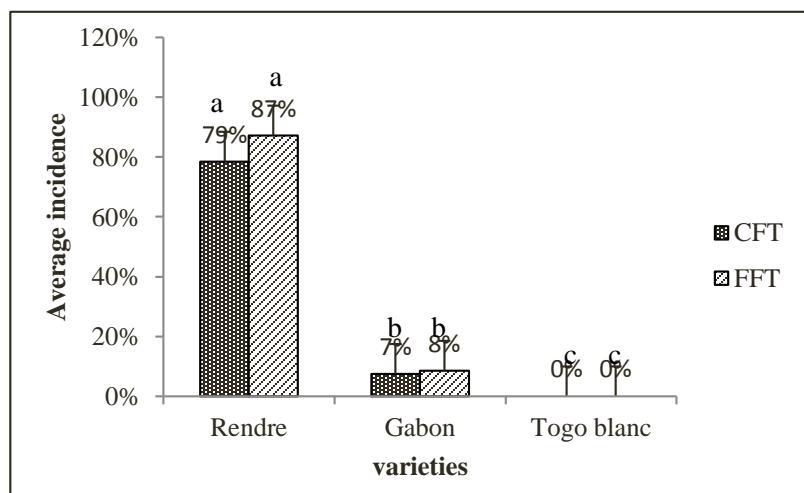


Figure 30 : Incidence de la mosaïque sur les deux parcelles ; CFT : Conventional Farmer Technique ; FFT : Field Farmer Technique. Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes.

3.1.2.2 Sévérité de la mosaïque

La sévérité de la maladie sur le cultivar Rendre est de 3,31 sur la parcelle conventionnelle et de 3,6 sur la parcelle des producteurs. Sur la variété Gabon elle est de 1,25 sur la parcelle conventionnelle et de 1,23 sur la parcelle des producteurs (Figure 30). La sévérité est nulle sur les deux parcelles en ce qui concerne le cultivar Togo Blanc. La sévérité du cultivar sensible est très importante que celle des autres cultivars avec une différence hautement significative ($p < 2e-16$). Par contre aucune différence n'est observée entre les pratiques culturales.

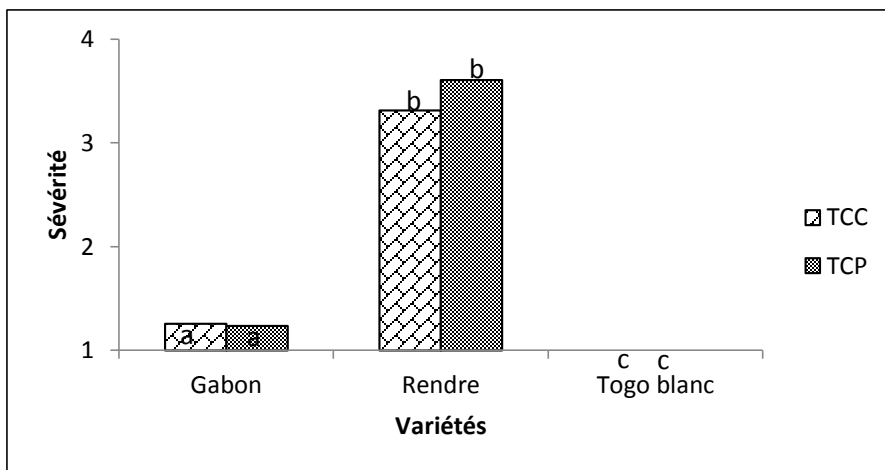


Figure 31 : sévérité de la mosaïque dans les deux parcelles ; TCC : Technique Culturelle Conventiennelle ; TCP : Technique Culturelle Paysanne. Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes.

3.1.2.3 Densité des mouches blanches

Le nombre total de mouches blanches enregistré lors de la récolte est de 80, 140, 120 respectivement sur les variétés Gabon, Rendre et Togo blanc des pratiques conventionnelles, 85, 190 et 192 respectivement sur les variétés Gabon, Rendre et Togo blanc des pratiques paysannes (Figure 31). Il n'existe aucune différence significative.

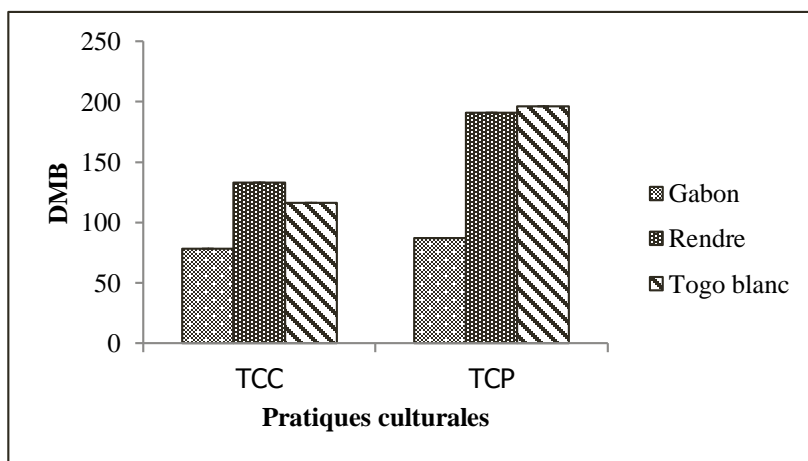


Figure 32 : Densité des mouches blanches en fonction des cultivars et pratiques culturelles

TCC : Technique Culturelle Conventiennelle ; TCP : Technique Culturelle Paysanne, DMB : Densité des mouches blanches

3.1.2.4 La taille des tiges de manioc

La hauteur moyenne des tiges de manioc est respectivement de 1,94 m et 1,75 m sur la parcelle conventionnelle et témoin. Sur les deux parcelles confondues, la hauteur est en moyenne de 2,09 m ;

1,53 m ; 1,91 m respectivement sur les cultivars Rendre, Gabon et Togo blanc (Figure 32). La différence des hauteurs est non significative entre les pratiques culturales et les cultivars ($p=49\%$).

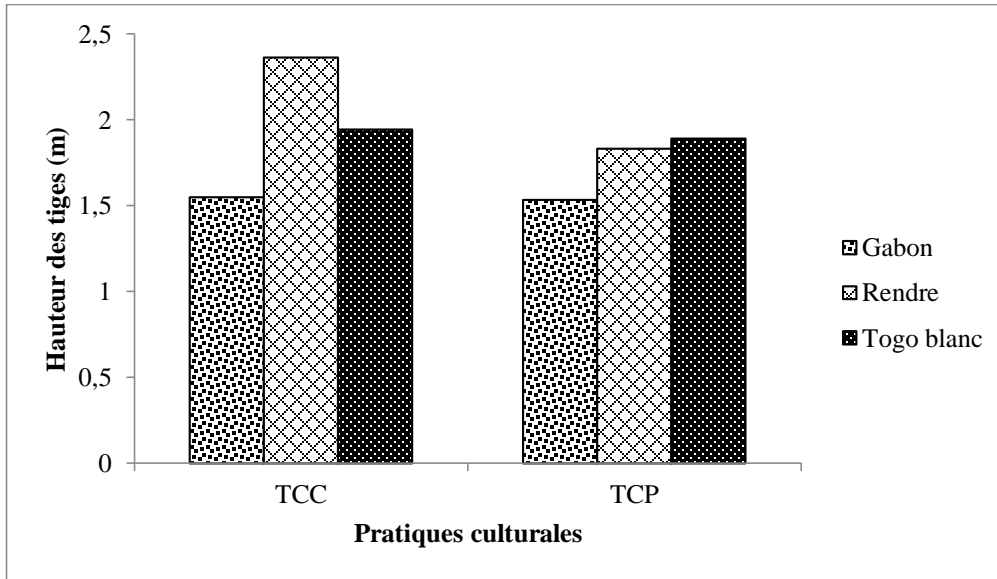


Figure 33 : hauteur de tiges de manioc en fonction des pratiques culturales et de variétés

TCC : Technique Culturelle Conventiennelle, TCP : Technique Culturelle Paysanne.

3.1.2.5 La circonférence des tiges de manioc

La figure 33 montre les moyennes des circonférences qui sont de : 6,97 ; 9,94 et 8, 19 cm sur la parcelle conventionnelle, ensuite 7,79 ; 9,26 et 8,84 cm sur la parcelle paysanne respectivement pour les variétés Gabon, Rendre et Togo blanc avec des différences non significatives ($p=40\%$).

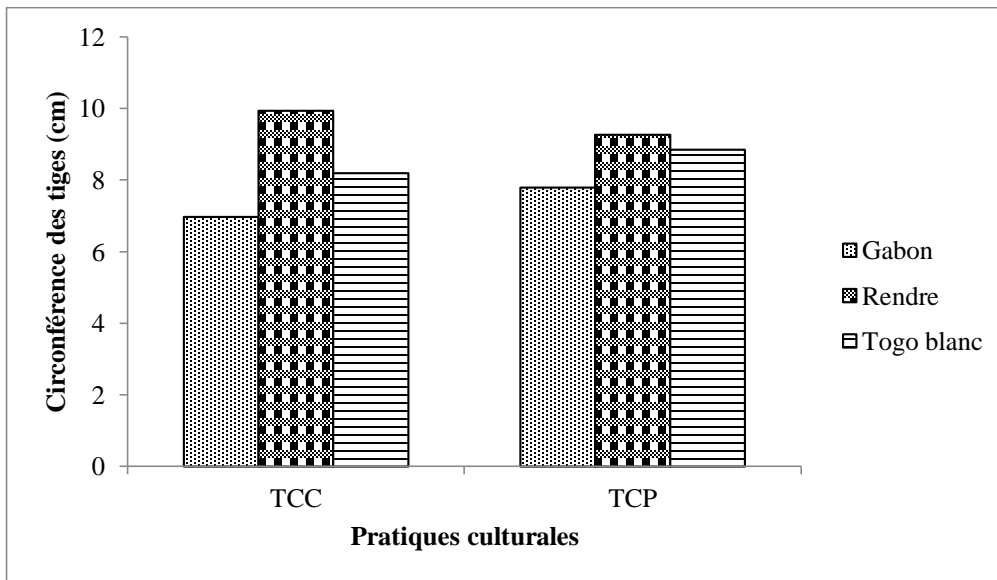


Figure 34 : Circonférence des tiges de manioc en fonction des pratiques culturales et de cultivar

TCC : Technique Culturelle Conventiennelle, TCP : Technique Culturelle Paysanne.

3.1.2.6 Nombre de tubercules

Les résultats de l'étude révèlent que le nombre moyen des racines est de : 6 tubercules pour le cultivar Rendre, 5 tubercules pour Togo blanc et 5 tubercules pour Gabon dans la pratique conventionnelle et il de : 5 tubercules pour le cultivar Rendre, 4 tubercules pour Togo blanc et 4 tubercules pour Gabon dans la pratique paysanne (Figure 34). Aucune différence significative n'est observée.

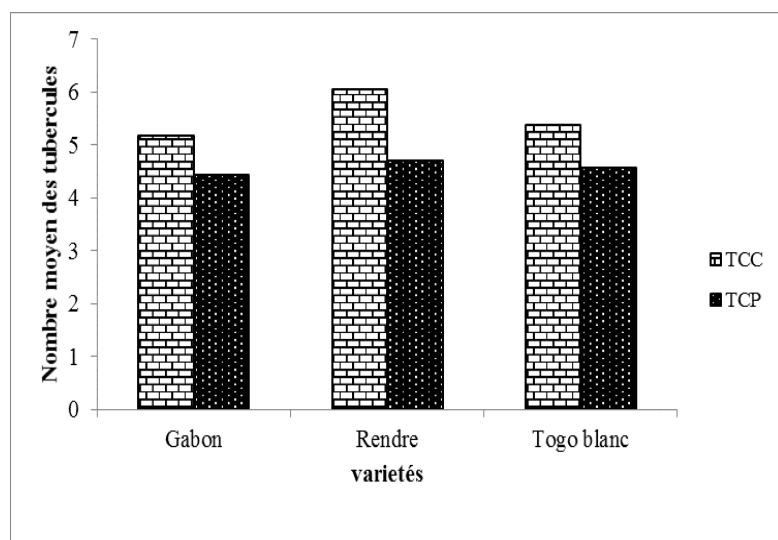


Figure 35 : Rendement en nombre de tubercules de manioc ; TCC : Technique Culturelle Conventiennelle ; TCP : Technique Culturelle Paysanne.

3.1.2.7 Rendement

Le rendement moyen est de 23,15t/ha dans la technique culturelle paysanne chez les producteurs et de 46,9 t/ha dans la parcelle conventionnelle avec une différence très significative ($p=2e-16$). Le poids moyen des racines des trois cultivars sur les deux parcelles est respectivement de Rendre (Producteurs : 2,4kg/pied, conventionnel : 5,14kg/pied), Gabon (Producteurs : 1,8kg/pied, conventionnel : 2,8kg/pied), Togo blanc (Producteurs : 2,5kg/pied, conventionnel : 5,16kg/pied), (Figure 35) avec une différence très significative. ($p < 2e-16$)

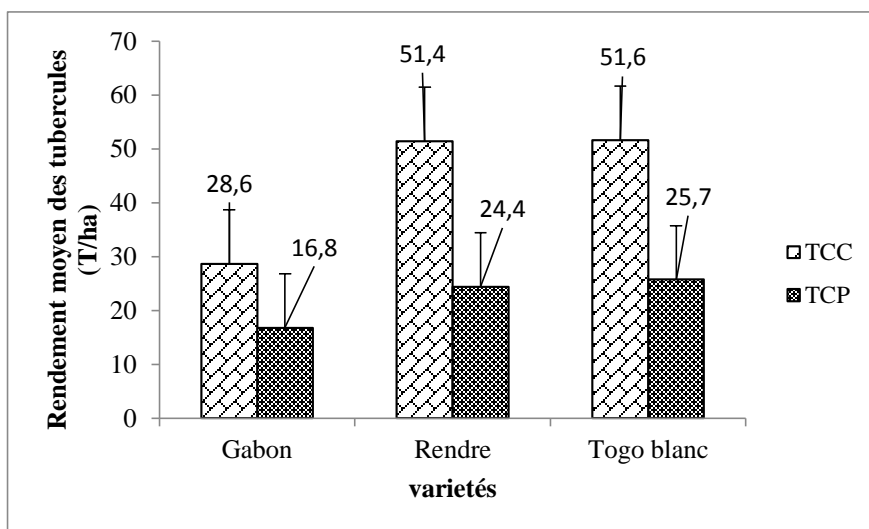


Figure 36 : Rendement ; TCC : Technique Culturelle Conventionnelle ; TCP : Technique Culturelle Paysanne.

3.1.2.8 Détection des virus

Sur les 10 échantillons de feuilles de Togo blanc, aucun virus n'a été détecté par la PCR, par contre des souches virales ont été trouvées sur les échantillons témoins (Tableau 9).

Tableau 11 : Détection des virus de la mosaïque dans les échantillons de Togo blanc collectés dans les deux parcelles du champ école paysan.

Echantillons	PCR avec les amorces universelles
TB1	-
TB2	-
TB3	-
TB4	-
TB5	-
TBP1	-
TBP2	-
TBP3	-
TBP4	-
TBP5	-
GB ou témoin +	+
RD ou témoin +	+

TB : variété Togo blanc collecté dans la parcelle conventionnelle ; TBP : variété Togo blanc collecté dans la parcelle paysanne ; GB : variété Gabon ; RD : variété Rendre

3.1.3 Lutte contre la MAM par l'utilisation des boutures de manioc infectées assainies

3.1.3.1 Effet de la thermothérapie sur l'incidence et la sévérité de la mosaïque

Les boutures prélevées pour être assainies étaient toutes malades (100%) avec une sévérité moyenne de 3,5. Après le traitement par la thermothérapie de ces boutures plus de la moitié n'ont pas présenté des symptômes de la mosaïque et la sévérité a baissé à 1,5 (Figure 36). La thermothérapie a réduit l'incidence et la sévérité de la mosaïque de manière hautement significative ($p < 0,01\%$).

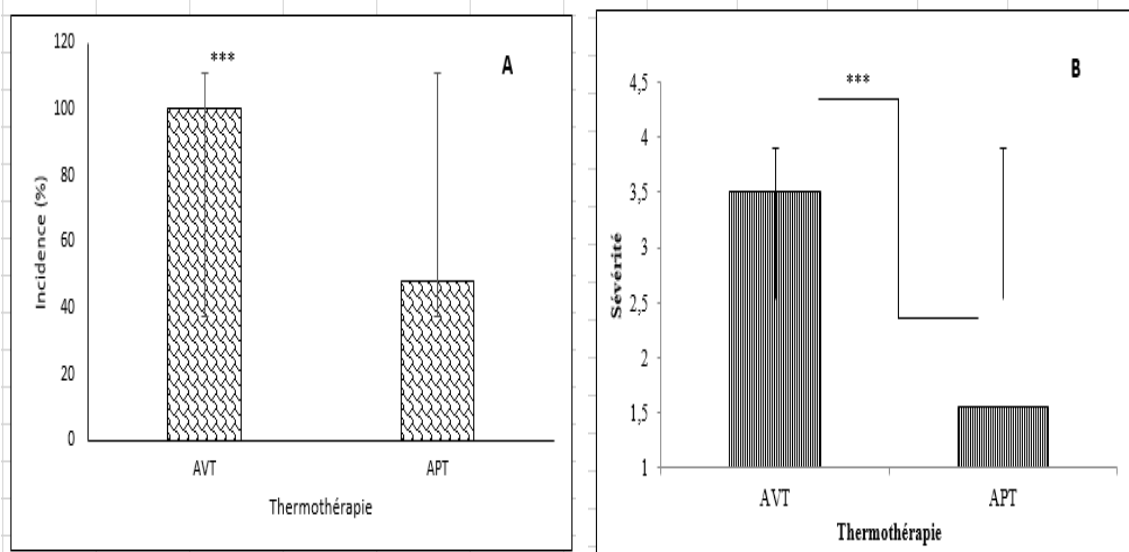


Figure 37 : Effet de la thermothérapie sur l'incidence et la sévérité de la mosaïque. (A) : Incidence ;
 (B) : Sévérité, *** : différence hautement significative ; AVT: avant la thermothérapie
 APT : après la thermothérapie

3.1.3.2 Culture des méristèmes et des fragments de tiges

Au total 250 explants ont étéensemencés ou inoculés sur les milieux de culture d'initiation, soit 75 méristèmes et 175 fragments de tiges (Figure 37). Le nombre des explantsensemencés à partir des organes de tige est très élevé que celui à partir des tissus méristématiques de manière hautement significative $p < 0,1\%$.

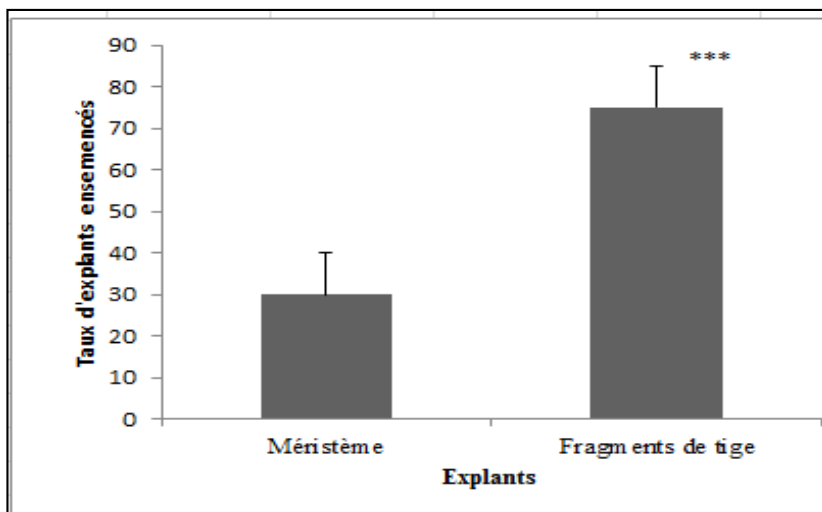


Figure 38 : Taux d'ensemencement en fonction des explants

*** : différence hautement significative

3.1.3.3 Taux de réussite d'acclimatation des vitroplants

Pour cette étude, le taux de reprise des microplants après sevrage était de 67%. La réussite des vitroplants au sevrage a été significative avec $p < 0,05$.

3.1.3.4 Nombre des feuilles développées sur les vitroplants sevrés

La figure 38 a montré le développement des feuilles après trois semaines de sevrage. Le nombre moyen de feuilles avant le sevrage était en moyenne de 3 feuilles par vitroplants chez tous les explants, mais il était en moyenne de 5 feuilles par plants après le sevrage. Il y a donc une différence très significative entre le nombre de feuilles d'avant et d'après sevrage ($p < 0,1\%$), mais cette différence n'existe pas entre les explants.

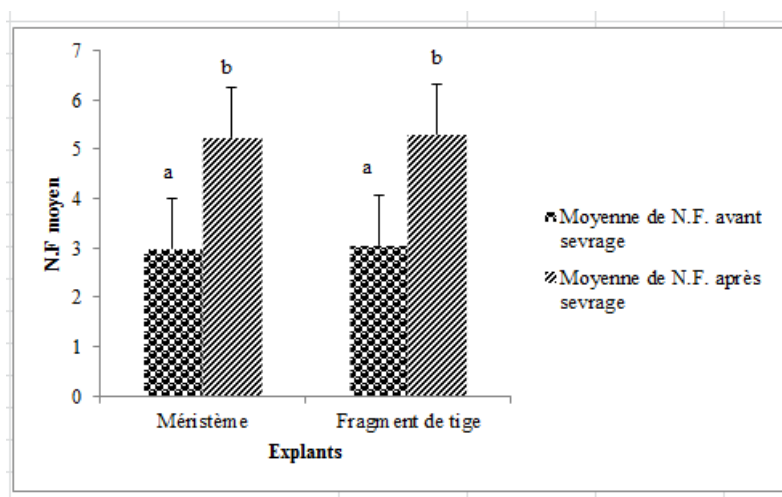


Figure 39 : Nombre de feuilles moyen après trois semaines d'acclimatation en fonction des explants

N.F. : nombre de feuilles. Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes

3.1.3.5 Détection des begomovirus sur les plantes sevrées

La recherche des souches virales dans les échantillons de feuilles des vitroplants acclimatés a montré des bandes positives avec les amorces universelles sur tous les échantillons issus des fragments de tiges (échantillons 1, 2, 3, 5, 8, 9) et des témoins, tandis qu'aucune bande d'ADN viral n'a été observée sur des échantillons issus des méristèmes (échantillons 4, 6, 7) (Figure 39).

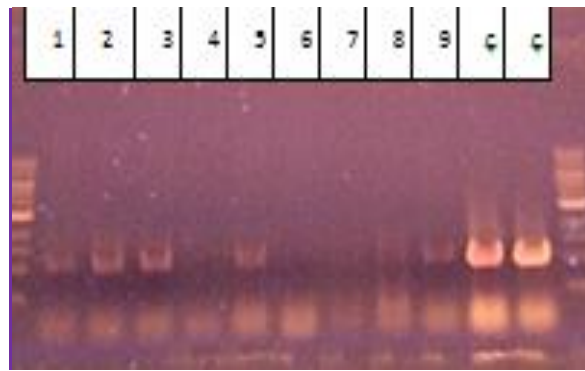


Figure 40 : détection des Begomovirus dans les feuilles de vitroplants ; Echantillons 1, 2, 3, 5, 8, 9 sont issus des bourgeons axillaires ; Echantillons 4, 6, 7 sont des échantillons de méristèmes ; C : contrôle

3.2 Discussion

3.2.1 Caractérisation moléculaire des begomovirus impliquées dans la MAM dans tous les pays de la CEMAC

Dans nos travaux de diagnostic moléculaire par la PCR l'implication des begomovirus dans l'épidémie de la mosaïque africaine du manioc dans les pays de la CEMAC a été confirmée. 68% des échantillons de toute la zone CEMAC ont été révélés positifs avec les amorces universelles qui reconnaissent tous les begomovirus du manioc. Parmi ces échantillons qui ont réagi avec les amorces universelles, 71% étaient infectées par les espèces ACMV, 62% par EACMV, 43% par EACMV-UG et 11% par EACMCV. Au total quatre espèces virales ont été identifiées dans tous les pays de la CEMAC en infection simple ou mixte déterminant une diversité génétique de ces espèces dans la sous-région, il s'agit de : ACMV, EACMV, EACMV-UG et EACMCV. Les espèces ACMV et EACMV-UG ont été détectées dans les échantillons de feuilles de manioc de tous les pays de la CEMAC avec des incidences moléculaires moyennes respectivement de 71% et 34%. L'espèce EACMV a été détectée au Cameroun, au Congo, au Gabon et en Guinée Équatoriale à l'exception de la Centrafrique et du Tchad (incidence moléculaire moyenne pour tous ces pays est de 62%). Tandis que l'EACMCV a été trouvé au Cameroun et en Guinée Équatoriale avec une incidence moléculaire moyenne de 11%. La présence des mêmes espèces virales qui affectent le manioc dans tous les pays montre ce perpétuel échange des boutures de manioc entre ces pays qui ont pour aliment de base le manioc. D'une manière générale, les résultats du diagnostic ont montré qu'il existe quatre espèces de begomovirus dans les échantillons des feuilles de manioc collectés et que le Cameroun et la Guinée Équatoriale présentent une grande diversité génétique de begomovirus. Des travaux de recherche sur la détection des virus du manioc ont été réalisés au Cameroun, en Centrafrique, au Congo, au Gabon et au Tchad et ont montré les 4 espèces au Cameroun, 3 espèces au Congo et Gabon (ACMV, EACMV et EACMV-UG), 2 espèces en RCA et au Tchad (ACMV, EACMV-UG) (Legg, 1999 ; Ntawuruhunga et Legg, 2002 ; Legg and Fauquet, 2004 ; Fondong et *al.*,

2000 et 2011 ; Akindade et *al.*, 2010 ; Patil et *al.*, 2011 ; Zinga et *al.*, 2012). L'espèce EACMV est originaire de l'Afrique de l'Ouest, la proximité du Cameroun et de la Guinée Equatoriale pourrait expliquer la présence de EACMCV dans ces deux pays (Ndougourou et *al.*, 2005). La détection des quatre espèces virales en Guinée Equatoriale est le premier diagnostic réalisé dans ce pays par cette étude.

Selon certains auteurs (Otim-Nape et *al.*, 1997, Patil et *al.*, 2001, Legg and Fauquet, 2004) l'épidémie sévère déclenchée en Ouganda dans les années 90 était due à l'émergence d'une espèce de begomovirus très virulente appelée souche ougandaise. Cette épidémie avait réduit la production du manioc de 82% en Ouganda (Otim-Nape et *al.*, 1997). Ainsi la présence de cette espèce dans la zone CEMAC est une menace réelle pour la production du manioc. En outre le phénomène des infections mixtes détectées dans tous les pays de la zone présente une situation inquiétante. Car il a été démontré que la co-infection augmente la sévérité de la mosaïque par le phénomène de synergie virale (Fondong et *al.*, 2000 ; Patil et *al.*, 2001 ; Zinga et *al.*, 2013 ; Halarimala et *al.*, 2014). Les résultats obtenus montrent que les échantillons analysés présentent 30% des infections doubles, 12% des infections triples et 1% des infections quadruples. Les infections doubles sont essentiellement dues à l'ACMV et EACMV-UG et les infections triples le sont avec l'ACMV, EACMV-UG et EACMV dans tous les pays. Les infections quadruples ont été identifiées uniquement au Cameroun, et, cette infection a été détectée à Madagascar pays à grande diversité génétique des begomovirus du manioc comme le soulignent Halarimala et *al.*, 2014. La souche ougandaise très agressive serait le produit d'une recombinaison entre l'ACMV et EACMV selon Deng et *al.*, 1997 ; Zhou et *al.*, 1997 ; Legg and Ogwal, 1998 ; Otim-Nape et *al.*, 1997 ; Otim-Nape et *al.*, 2000;). D'après Fondong et *al.*, 2000, Pita et *al.*, 2001, les infections mixtes de plusieurs types détectées dans la zone CEMAC présenteraient un grand risque de recombinaison génétique pouvant conduire à l'émergence des nouvelles souches de begomovirus. Par contre il a été très difficile d'établir une corrélation directe entre la sévérité des échantillons analysés par pays et les types d'infections mixtes. On s'attendait, en effet, à une sévérité très importante au Cameroun, vu que 60% des échantillons sont à infection mixte. Cela pourrait s'expliquer par le fait d'une introduction récente de la souche ougandaise dans ce pays (Akinbade et *al.*, 2010). Ainsi, la situation épidémique ne dépendrait pas seulement du virus et des infections mixtes mais aussi d'autres paramètres environnementaux. Il se peut que la situation générale soit en pleine évolution, évolution qui nécessite une attention particulière.

Le séquençage partiel des produits PCR du Congo, du Gabon et de la Guinée Équatoriale, nous a permis d'identifier quatre espèces de begomovirus du manioc en circulation dans ces pays. La caractérisation moléculaire de leur génome bipartite (ADN-A et ADN-B) et l'obtention de certaines séquences nucléotidiques complètes ont permis de confirmer leur statut taxonomique (Zinga et *al.*, 2012 b). Le clonage des génomes a permis également d'avoir : deux clones viraux EACMV-UG et ACMV au

Gabon qui sont apparentés aux espèces virales de la Centrafrique, du Tchad, de l'Ouganda, du Nigéria et du Ghana (Afrique de l'Ouest) ; un clone viral ACMV au Congo apparenté à ceux obtenus en Côte d'Ivoire (Afrique de l'Ouest) et en Ouganda (Afrique de l'Est) ; le clone de l'EACMV-UG de la Guinée Équatoriale est proche des espèces du Tchad et de l'Ouganda (Valam et al., 2015) et EACMV proche des virus de l'Ouganda. Les études effectuées par Akindade et ses collaborateurs en 2010, et par Zinga et ses collaborateurs en 2012, ont montré que : les génomes entiers des espèces ACMV, EACMV, EACMV-UG et EACMCV ont été obtenus au Cameroun ; les séquences complètes des espèces ACMV et EACMV-UG ont été obtenues en Centrafrique et au Tchad. L'ensemble de nos résultats et les pertes de rendement observées par les agriculteurs de la sous-région depuis une dizaine d'années, corroborent l'hypothèse d'une vague épidémique sévère de mosaïque du manioc qui aurait traversée rapidement l'Afrique d'Est en Ouest en passant par l'Afrique Centrale (Legg et al., 2006).

L'analyse phylogénétique a permis de montrer que les séquences d'ADN-A et d'ADN-B d'EACMV-UG forment des clades très peu diversifiés, suggérant une introduction récente et unique de l'EACMV-UG en zone CEMAC. Au contraire, l'analyse phylogénétique concernant les séquences d'ADN-A et d'ADN-B de l'ACMV montrent l'existence de trois groupes phylogénétiques d'isolats d'ACMV, suggérant plusieurs événements d'introduction et une histoire évolutive plus ancienne et plus complexe pour cette espèce. Le groupe phylogénétique d'isolats d'ACMV du Congo et du Gabon est apparenté aux isolats de la RCA, du Nigeria (Afrique de l'Ouest) et de l'Ouganda (Afrique de l'Est). Le groupe phylogénétique de l'EACMV-UG est apparenté aux isolats de la RCA, de l'Ouganda. Et enfin celui d'isolats de l'EACMV de la Guinée Equatoriale est apparenté aux isolats de l'Ouganda. Les travaux réalisés par Akindade en 2010, Zinga en 2012 et leurs collaborateurs ont montré que les espèces virales retrouvées en RCA, au Tchad et au Cameroun appartenant à la même région que le Congo, le Gabon et la Guinée Equatoriale, provenaient de l'Afrique de l'Est et de l'Ouest.

3.2.2 Evaluation de l'impact de la MAM sur des variétés de manioc par une approche champ école paysan

La principale méthode de lutte pratiquée à nos jours est l'utilisation des variétés résistantes. D'une manière générale, dans les pays de la CEMAC le système des pratiques culturales est resté traditionnelle et les normes conventionnelles ne sont pas respectées telles que la dimension des boutures, l'utilisation des boutures saines, la densité de plantation, etc. Ces paramètres mal contrôlés ont un impact important sur la production du manioc des paysans, ce qui aboutit à de faibles rendements.

Dans le contexte d'évaluation variétale par une approche CEP, nos résultats ont montré que la variété Rendre est très sensible à la mosaïque du manioc et présente une incidence moyenne de 83% avec

une sévérité moyenne de 3,5 dans les deux pratiques culturales utilisées. Ce cultivar local est très cultivé et les paysans apprécient également ses feuilles. N'zue et al., en 2004, dans une étude similaire ont montré que ce sont en majorité les « variétés traditionnelles » qui sont généralement très sensibles. Le cultivar Gabon a présenté une incidence moyenne de 8% de moyenne et une sévérité de 1,5. La sensibilité de ce cultivar conformément aux observations de Theberge, (1985) pourrait s'expliquer par le fait que la variété aurait bénéficié d'un effort de sélection contre la mosaïque. Le cultivar Togo blanc avait 0% d'incidence vis-à-vis de la mosaïque pour les deux pratiques culturales. Cela corrobore avec les études faites par Zinga et ses collaborateurs en 2016 qui ont montré que le cultivar rendre était très sensible à la mosaïque et le cultivar Gabon avait présenté une sensibilité au tour de 10%. La variété Togo blanc a présenté une résistance vis-à-vis du virus de la mosaïque. La densité des mouches blanches est restée homogène sur les deux parcelles et les trois cultivars. Une nette corrélation entre l'incidence et des symptômes de la maladie a été observée, de la même façon que dans d'autres situations épidémiques en Afrique (Hahn et al., 1980 ; Fauquet and Fargette, 1990, Ngeve et al., 2003 ; Adriko et al., 2012).

Zinga et ses collaborateurs en 2016 ont montré le comportement du cultivar Rendre vis-à-vis de la mosaïque et de son rendement qui est important, ils ont déduit que celui-ci tolère la mosaïque malgré sa sensibilité à cette maladie. L'utilisation de cultivars locaux attaqués par la MAM mais tolérants, avec des potentiels de rendement élevés et adaptés aux exigences des populations locales, a par ailleurs été décrit en Afrique par Mallowa et al en 2011. Ceci peut révéler de sa disposition génétique. Ceci montre que le germoplasme local possède également des variétés tolérantes et productives qui peuvent avantageusement être exploitées par l'assainissement des boutures infectées.

Cette étude a révélé que l'incidence et la sévérité de la maladie, de même que la densité des mouches blanches, la hauteur, la circonférence et le nombre de tubercules dans les deux systèmes sont presque homogènes avec une différence non significative. Par contre la parcelle des techniques conventionnelles de tous les cultivars confondus a produit en moyenne 46,9 t/ha de tubercules frais contre 23,15t/ha pour les techniques culturales traditionnelles avec une différence très significative. Les techniques culturales conventionnelles ont amélioré la productivité du manioc, comme le signale le Programme Nationale de Développement des Racines et Tubercules (PNDRT) qui, dans un travail similaire réalisé au Cameroun trouve que le rendement du manioc en pratique culturelle conventionnelle est 4 fois supérieur à celui de la pratique paysanne (PNDRT, 2006). Par ailleurs lorsque la parcelle conventionnelle a été traitée contre les ravageurs et les insectes, le rendement en tubercules frais de certaines variétés est allé jusqu'à 70 t/ha. Des travaux suivis par la FAO au Brésil sur la culture du manioc ont montré également que la production du manioc dans les cultures du manioc améliorées peut aller jusqu'à plus de 50t/ha (FAO, 2013).

L'écartement entre les pieds du manioc était de 1m x 1m appliquée avec un bouturage en ligne sur la parcelle conventionnelle alors qu'il variait de 0,5 m X 0,5 m à 0,8 m x 0,8 m avec un bouturage non linéaire sur la parcelle de producteurs. Nous pouvons déduire que la mauvaise production enregistrée dans la parcelle des producteurs pourrait être due à la réduction des travaux d'entretien, à la densité intense de peuplement des plants qui a largement dépassé la norme conventionnelle qui est de 10 000 pieds /ha et a certainement généré un phénomène de compétition nutritionnelle entre les pieds avec un effet sur le rendement en racines. Le PNDRT dans sa recherche a souligné également le phénomène nutritionnel au niveau des racines tubéreuses dû à la densité des plants de manioc dans la parcelle des paysans (Fidafrique, 2006).

3.2.3 Lutte contre la MAM par l'utilisation des boutures de manioc infectées assainies

La sélection et la préparation des boutures représentent des étapes cruciales dans la mise en place d'une culture de manioc. La qualité des boutures a en effet une influence prépondérante sur la productivité (Legg et al., 2006 ; Mallowa et al., 2011). L'impact de la MAM sur le rendement est de plus de 70% pour les plantes issues de boutures infectées alors qu'elle n'est que de 10% sur les plants initialement sains lorsque l'infection intervient 120 jours après la plantation (Fauquet et Fargette, 1990). L'utilisation de boutures de mauvaise qualité sanitaire par les paysans s'expliquerait par l'indisponibilité de matériel sain. Nos résultats ont montré l'utilisation par les paysans de cultivars locaux attaqués par la MAM mais tolérants, avec des potentiels de rendement élevés et adaptés aux exigences des populations locales. L'assainissement de ce type de matériel végétal et la mise à disposition du paysan du matériel sain de plantation devrait permettre une meilleure production.

Le traitement de nos boutures toutes infectées par la culture du méristème associée à la thermothérapie a montré une réduction significative de l'incidence de 48% (Zango et al, 2021). Des études similaires faites par Mabanza et al., en 1981, 1989, 1994 et 2001 a montré l'effet de l'assainissement des variétés locales par la culture des méristèmes associé à la thermothérapie. Les travaux menés par Yandia et ses collaborateurs en 2015, sur l'élimination des virus par la culture des méristèmes ont montré qu'aucun symptôme de mosaïque n'a été observé sur les plants traités et Zinga et al en 2014 avait expérimenté l'efficacité de la thermothérapie contre la mosaïque du manioc dans le milieu paysan et a prouvé que l'incidence était réduite à 59% à 49°C. Nous avons constaté qu'après le traitement à la chaleur, la plupart des plants de manioc n'ont pas présenté des symptômes de la mosaïque. Ceci pourrait expliquer que la thermothérapie a joué un rôle très important dans l'élimination de la mosaïque africaine du manioc. Si les mécanismes mis en jeu par la thermothérapie ne sont pas connus avec précision à ce jour, l'implication du *RNA silencing* dans l'activation de la résistance par la chaleur a déjà été mise en évidence (Chellapan et al, 2005). Ces résultats corroborent avec les études antérieures sur

la thérapie qui ont montré qu'elle a cette capacité d'inhiber la multiplication du virus lors de son application dans de nombreuses plantes (Cooper et walky, 1978, Mink., 1998).

La régénération des explants évaluée après une semaine de culture dans la salle d'acclimatation a montré que 48% de méristèmes et 50% de fragments de tiges ont repris. Des infections dues aux microorganismes ont été également notées avec des pertes de 52% et 50% respectivement pour les méristèmes et les fragments de tiges. Dans cette étude il a été constaté que le taux d'infection est élevé, cela pourrait être dû à l'utilisation des matériels contaminés. Il est donc nécessaire d'utiliser des matériels stériles. Certains chercheurs tels Ummey et al., 2002 ; De Silva et al., 2011 ; Badou et al, 2017 ; Badou et al, 2018 ont montré que la désinfection de surface habituellement faite lors de la culture in vitro ne permet pas d'éliminer efficacement les infections surtout celles bactériennes qui, sont endogènes et apparaissent progressivement au cours de la culture. Selon Phillips et al., 1981 ; Talukder et al., 2007 ; Reddy et al., 2012 l'ajout des agents antimicrobiens (bactéricides et/ou fongicides) au milieu de culture est nécessaire afin d'éliminer les germes ou d'empêcher leur expression.

Au cours de cette étude, le sevrage a pris en compte plusieurs paramètres la taille des vitroplants, le nombre de feuilles, le nombre de racines, le nombre de jours après multiplication in vitro et l'aspect physique du vitroplant pour éviter les pertes. Ce qui a conduit à une réduction importante de nombre de vitroplants prêts pour le sevrage. Ce travail a donné un taux de réussite des vitroplants au sevrage de 66% plus élevé que la perte avec une différence significative. Le nombre de feuilles de chaque vitroplant sevré a augmenté après deux semaines. Cela concorde avec les travaux faits par Otabo et Mabanza en 1996 sur le sevrage et transfert des vitroplants en plein champ qui ont montré un taux de 89% de réussite des vitro plants au sevrage.

L'étude a montré que tous les échantillons à partir du méristème ont été révélés négatifs tandis que les échantillons à partir des tiges sont positifs avec des faibles bandes par rapport aux témoins. L'impact de la thérapie a été rapporté par Cooper et Walkey, 1978 ; Mabanza et al. 1989, 1994, 2001 et 2008 et Yandia et al en 2015. La thérapie inhibe les réplifications alors que la dégradation du virus continue, ce qui entraîne une élimination subséquente du virus à partir des méristèmes (Cooper et Walkey, 1978) ; Yandia et al en 2015). Ainsi la culture des méristèmes associée à la thérapie est un moyen qui permet d'assainir des boutures infectées par la mosaïque africaine du manioc et d'utiliser les variétés sensibles et adaptées aux exigences des populations locales avec un fort potentiel de rendement.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

Les résultats obtenus à l'issu de ces travaux montrent l'existence d'une diversité génétique virale importante sur le manioc dans la zone CEMAC. Quatre espèces virales (ACMV, EACMV, EACMV-UG, EACMCV) sont en circulation dans ces pays. En définitive le séquençage des produits PCR a confirmé la présence de quatre espèces de begomovirus en circulation dans la zone CEMAC, soit : quatre espèces au Cameroun et en Guinée équatoriale (ACMV, EACMV, EACMV-UG, EACMCV), trois espèces au Congo et au Gabon (ACMV, EACMV et EACMV-UG), deux espèces en RCA et au Tchad (ACMV, et EACMV-UG). Cela veut dire que l'espèce EACMCV est retrouvée uniquement au Cameroun et en Guinée Equatoriale qui sont des pays frontaliers. L'ACMV et l'EACMV-UG sont détectées dans toute la zone CEMAC. L'EACMV n'a pas été identifié en Centrafrique et au Tchad. Notre approche moléculaire a permis la confirmation de la présence d'ACMV ADN-A et B au Gabon et au Congo, d'EACMV-UG ADN-A et B au Gabon et en Guinée et que ces espèces virales pourraient provenir de l'Afrique de l'Est et de l'Ouest. Ainsi, les résultats obtenus dans ces études montrent l'existence d'une diversité virale importante sur le manioc dans la zone CEMAC. Face à cette situation de grande diversité génétique des begomovirus responsables de la MAM, il est important d'entreprendre une évaluation de l'impact de la MAM sur des variétés de manioc développées par le paysan.

Les paramètres hauteur des tiges, circonférence des tiges, densité des mouches blanches ont présenté une différence non significative entre les deux techniques culturales. Par contre le rendement dans la parcelle conventionnelle est le double du rendement dans la parcelle paysanne. Le cultivar Rendre a été très sensible à la mosaïque, mais a cependant donné un très bon rendement. Il existe dans le germoplasme local des cultivars productifs mais sensibles à la MAM. Ces cultivars déjà bien insérés dans le système de production paysan pourraient offrir une meilleure production. Ainsi dans les stratégies d'utilisation des variétés sensibles et productives disponibles chez le paysan, l'utilisation des boutures infectées assainies devrait jouer un rôle important dans la lutte contre la MAM.

L'assainissement du matériel végétal par la culture du méristème associée à la thérapie a produit des vitroplants apparemment sains dont aucun germe n'a été détecté et aucun symptôme de maladie n'a été observé après le sevrage. La recherche des virus dans les échantillons de feuilles par la PCR a confirmé l'absence totale de virus sur les échantillons issus des méristèmes contrairement à ceux issus de fragments de tige. Il est donc important de vérifier l'état sanitaire des vitroplants par les techniques moléculaires avant de vulgariser les boutures issues des vitroplants aux producteurs. Ainsi, la culture *in vitro* des méristèmes associés à la thérapie en permettant d'assainir les boutures infectées de la mosaïque africaine du manioc contribue à la mise en place des parcs à bois de boutures saines pour les besoins des producteurs.

Perspectives

Le travail réalisé dans le cadre de cette thèse est loin d'être exhaustif et sera poursuivi, il s'agit de :

- Mener des études sur la synergie entre les virus, les relations moléculaires virus-plante et les interactions physiologiques et génétiques intervenant au cours des différentes phases de cycle infectueux
- Réaliser une évaluation de la sensibilité à la mosaïque de l'essentiel, des cultivars largement multipliés par les paysans et de leurs capacités de production comparées aux variétés améliorées introduites
- Evaluer le comportement des cultivars de manioc productifs dans toutes les zones agroclimatiques de chaque pays de la CEMAC.
- Mettre en place une collection régionale de germoplasme local caractérisé et évalué.

RÉFÉRENCES

1. Achidi A.U., Ajayi O.A., Bokanga M., Maziya-Dixon B. (2005). The use of cassava leaves as food in Africa. *Ecology of food and nutrition* 44 : 423-435.
2. Adriko J., Sserubombwe W., Adipala E., Bua A., Edema R. (2012). Response of Local Cassava Varieties in Uganda to Cassava Mosaic Virus Disease. *American Journal of Experimental Agriculture* 2 : 111-132.
3. Akinbade S.A., Hanna R., Nguenkam A., Njukwe E., Fotso A., Doumtsop A., Ngeve J., Tenku S.T.N. and Lava Kumar P. (2010). First report Uganda (EACMV-UG) infecting cassava (*Manihot esculenta*) in Cameroon. 21, 22. [doi:10.5197/j.2044-0588.2010.021.022].
4. Almozan A. (1990). Le manioc en Afrique tropicale. Un manuel de référence. IITA, Ibadan, Nigeria. 190 p.
5. Anisimova M., Gascuel O. Approximate likelihood ratio test for branches: A fast, accurate and powerful alternative. *Syst Biol.* 2006, Aug;55(4):539-52. ([PubMed](#))
6. Ano O., Eke-Okoro N., Egesi N. (2013). Heavy metals (Cd, Ni and Pb) pollution effects on cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Int J Biodivers Conserv* 5:640–646.
7. Antignus E.Y., Cohen S. (1994). Complete nucleotide sequence of an infectious clone of a mild isolate of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV). *Phytopathology* 84 : 707-712.
8. Ariyo O., Koerbler M., Dixon A., Atiri G., Winter S. (2005). Molecular variability and distribution of cassava mosaic begomoviruses in Nigeria. *Journal of Phytopathology* 153 : 226-231.
9. Astier S., Albouy J., Maury Y., Lecoq H. (2001). Principes de virologie végétale : génome, pouvoir pathogène, écologie des virus. Inra.
10. Aubreville A. (1950). Etude sur les forêts de l’Afrique Equatoriale Française et du Cameroun. Section Technique d’Agriculture Tropicale. *Bulleti. Scientifique* 2 Nogent-sur Marne, 132 p.
11. Azzam O., Frazer J., De-La-Rosa D., Beaver J.S., Ahlquist P., Maxwell D.P. (1994). Whitefly transmission and efficient ssDNA accumulation of bean golden mosaic geminivirus require functional coat protein. *Virology* 204 : 289-296.
12. Badou B. T., Pita J., Houedjissin S.S, Corneille Ahannhanzo. (2018). Contrôle des germes endogènes par usage d’agents antimicrobiens et réponse de différents explants durant la phase d’initiation in vitro de l’ananas (*Ananas comosus* (L.), Mill var. *comosus*). *Journal of Applied Biosciences* 121: 12129-12143.
13. Badou B.T., Agbidinokoun A., Nondichao L., Dossoukpèvi R., Cacaï GTH., Houédjissin S.S., Ahanhanzo C., (2017). Effects of two disinfectants and two growth regulators on in vitro propagation of Smooth Cayenne and Sugarloaf cultivars of Pineapple (*Ananas comosus* (L) Mill var. *comosus*). *Journal of Biotechnology Research* 3(10) : 94-105

14. Barro N. (1994). Caractérisation sérologique, biologique et aspects écologiques de quelques virus infectant les plantes maraîchères au Burkina Faso. *Thèse de doctorat de l'université de Ouagadougou*, Burkina Faso, 171 p.
15. Boulevart Y., (1983). Notice explicative no 100. Carte pédologique de la République Centrafricaine 2 1/1.000.000e. ORSTOM, Paris, 126 p.
16. Boulevart Y., (1986). Notes phytogéographiques régionales en Centrafrique. Paris, ORSTOM, 138p.
17. Boyd R.F. (1988). General Microbiology. Second Edition. *Times Mirror/Mosby College Publishing*. 863 p
18. Briddon R.W., Bedford I.D., Tsai J.H., Markham P.G. (1996). Analysis of the nucleotide sequence of the treehopper-transmitted geminivirus, tomato pseudo-curly top virus, suggests a recombinant origin. *Virology* 219 : 387-394.
19. Briddon R.W., Stanley J. (2006). Subviral agents associated with Plant single stranded DNA viruses. *Virology* 344 : 198-210.
20. Brunt A.A., Crabtree K., Gibbs A. (1990). Viruses of tropical plants. C.A.B. International, Oxon UK, 707p.
21. Busogoro J., Masquellier L., Kummert J., Dutrecq O., Lepoivre P., Jijakli M. (2008). Application of a simplified molecular protocol to reveal mixed infections with Begomoviruses in Cassava. *Journal of Phytopathology* 156 : 452-457.
22. Byabakama B. (2000). The current pandemic of *cassava mosaic virus disease* in East Africa and its control. 100p. ISBN 0-85954-513-X.
23. Campbell B. (2000). Atlas de Biologie. Québec, Canada 1110 p.
24. Carabali A., Bellotti A., Montoya-Lerma J., Cuellar M. (2005). Adaptation of *Bemisia tabaci* biotype B (Gennadius) to cassava, *Manihot esculenta* (Crantz). *Crop Protection* 24 : 643-649.
25. Castresana J. *Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis*. *Mol Biol Evol.* 2000, Apr;17(4):540-52. ([PubMed](#))
26. Charrier A., Jacquot, M., Hamon, S. et Dominique N. (1997). L'amélioration des plantes tropicales. CIRAD et OSROM, pp 429- 455.
27. Chevenet F., Brun C., Banuls AL., Jacq B., Chisten R. *TreeDyn: towards dynamic graphics and annotations for analyses of trees*. *BMC Bioinformatics.* 2006, Oct 10;7:439. ([PubMed](#)).
28. Cooper, V.C., Walkey D.J.A.. (1978). Terminal inactivation of cherry leaf roll virus in tissue cultures of *Nicotiana rustica* raised from seeds and meristem tips. *Ann. Appl. Biol.*, 88 : 273-278.
29. Cours, G. (1951). Le manioc à Madagascar. Mémoire de L'Institut Scientifique de Madagascar, Série Biologie Végétale, 3 : 203-2 16.

30. CTA. (1990). La mosaïque Africaine du manioc - De la connaissance de la maladie à son contrôle - Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, 4-8 Mai 1987 - Rapport de séminaire. 50 p.
31. CTA. (2016). Etude bibliographique de la chaîne de valeur manioc en Afrique Centrale. Rapport final, 39 p.
32. De Silva TCY, Fernando K.M.E.P, Senerath W.T.P.S.K. (2011). Effect of incorporation of fungicides into tissue culture medium on fungal contaminants of in vitro grown *Kaempferia galanga*. University of Sri Jayewardenepura, Gangodawila, Nugegoda, Sri- Lanka.
33. Delatte H., Martin D.P., Naze F., Goldbach R., Reynaud B., Peterschmitt M., Lett J.M. (2005). South West Indian Ocean islands tomato begomovirus populations represent a new major monopartite begomovirus group. *Journal of General Virology* 86 : 1533-1542.
34. Deng D., Otim-Nape W., Sangare A., Ogwal S., Beachy R., Fauquet C., Thro A., Akoroda M. (1997). Presence of a new virus closely related to East African cassava mosaic geminivirus, associated with cassava mosaic outbreak in Uganda, International Society for Tropical Root Crops-Africa Branch (ISTRAC-AB). pp. 23-28.
35. Dereeper A.*, Guignon V.*, Blanc G., Audic S., Buffet S., Chevenet F., Dufayard J.F., Guindon S., Lefort V., Lescot M., Claverie J.M., Gascuel O. Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist. *Nucleic Acids Res.* 2008 Jul 1 ; 36 (Web Server issue) :W465-9. Epub 2008 Apr 19. ([PubMed](#)).
36. Doyle J.J., Doyle J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin* 19 : 11-15.
37. Drake J.W., Charlesworth B., Charlesworth D., Crow J.F. (1998). Rates of spontaneous mutation. *Genetics* 148 : 1667-1686.
38. Dry I.B., Krake L.R., Rigden J.E., Rezaian M.A. (1997). A novel subviral agent associated with a geminivirus: the first report of a DNA satellite. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94 : 7088-7093.
39. Duffus J.E. (1995). Whitefly-borne viruses in *Bemisia*: In: Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management, D. Gerling, R.T.Mayer (Eds), Intercept Ltd., UK, pp. 257-258.
40. Duffus J.E. (1997). Whitefly transmission in plant viruses. In: current Topics in vector of squash leaf curl virus (SqLCV). Research, Vol.4 K.F.Harris (Ed.), Springer Verlag, New York, pp.73-91.
41. Duffy S., Holmes E.C. (2008). Phylogenetic evidence for rapid rates of molecular evolution in the single-stranded DNA begomovirus tomato yellow leaf curl virus. *Journal of Virology* 82, 957-965.
42. Dutuit P., Gorenflot R. (2008). Glossaire pour le développement durable : des mots pour les maux de la planète, Ed des archives contemporaines, 182 p.
43. Edgar R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.* 2004, Mar 19;32 (5) :1792-7. ([PubMed](#)).

44. El-Sharkawy M A (2004). Cassava biology and physiology. *Plant Molecular Biology*. 56 : 481–501.
45. El-Sharkawy M.A. (1993). Drought-tolerant cassava for Africa, Asia and Latin America: Breeding projects work to stabilize productivity without increasing pressures on limited natural resources. *Bioscience*, 43 : 441-451.
46. Emmanuel T. L. (2013). Amélioration de la commercialisation et de transformation du manioc au Cameroun : contraintes et perspectives de la chaîne de valeur. Dans: *Reconstruire le potentiel alimentaire de l’Afrique de l’Ouest*. FAO/FIDA. A. Elbehri 3 (ed.).
47. Engelmann F. (1991). *In vitro* conservation of tropical plant germoplasm: a review. *Euphytica*, 57 : 227-243.
48. FAO. (2009). Perspectives de l'alimentation. Analyse des marchés mondiaux. Point de mire. Division du commerce international et des marchés (EST), FAO-Rome, 113p.
49. FAOSTAT. (2010). FAO Statistical databases. Italie Rome, «<http://www.fao.org>».
50. FAOSTAT. (2012). Fiche produits manioc. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 6 p.
51. FAOSTAT. (2013). FAO database. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome Italy.
52. FAOSTAT. (2014). FAO database. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome Italy.
53. Fargette D., Fauquet C. (1988). A preliminary study on the influence of intercropping maize and cassava mosaic virus by whiteflies. *Annals of Applied Biology* 17 : 195-202.
54. Fauquet C., Bisaro D., Briddon R., Brown J., Harrison B., Rybicki E., Stenger D., Stanley J. (2003). Virology division news: Revision of taxonomic criteria for species demarcation in the family Geminiviridae, and an updated list of begomovirus species. *Archives of Virology* 148 : 405-421.
55. Fauquet C., Briddon R., Brown J., Moriones E., Stanley J., Zerbini M., Zhou X. (2008). Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Archives of Virology* 153 : 783-821.
56. Fauquet C., Fargette D. (1990). African cassava mosaic virus: etiology, epidemiology and control. *Plant Disease* 74 : 404-411.
57. Fauquet C.M., Stanley J. (2005). Geminivirus classification and nomenclature: progress and problems. *Annals of Applied Biology* 142 : 165-189.
58. Favrichon V., Gourlet-Fleury S., Avner B.H., Dessard H. (1998). Parcelles permanentes de recherche en forêt dense tropicale humide: Eléments pour une méthodologie d’analyse des données. CIRAD-FORET/ Montpellier France, 73 p.

59. Feréol L. (1978). Multiplication végétative et élimination de la mosaïque du manioc par thermothérapie sur des plantes cultivées in vitro. In Diseases of tropical food crops. Proceedings of an International Symposium V.C.L. Louvain-La-Neuve. Belgium, 285-295.
60. Fondong V., Thresh J., Fauquet C. (2000). Field experiments in Cameroon on cassava mosaic virus disease and the reversion phenomenon in susceptible and resistant cassava cultivars. *International Journal of Pest Management* 46 : 211-217.
61. Garrido-Ramirez E.R., Sudarshana M.R., Gilbertson R.L. (2000). Bean golden yellow mosaic virus from Chiapas, Mexico: Characterization, pseudo recombination with other bean infecting geminiviruses and germplasm screening. *Phytopathology* 90 : 1224–1232.
62. Ge L., Zhang J., Zhou X., Li H. (2007). Genetic structure and population variability of Tomato Yellow Leaf Curl China Virus. *Journal of Virology* 81 : 2902-2907
63. Gibson R.W., Legg J.P., Otim-Nape G.W. (1996). Unusually severe symptoms are a characteristic of the current epidemic of mosaic virus disease of cassava in Uganda. *Annals of Applied Biology* 128, 479-490.
64. Green S.K. (1971). Guidelines for Diagnostic Work in Plant Virology. Asian Vegetable research and Development Center.
65. Guindon S., Gascuel O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol.* 2003, Oct;52(5) :696-704. ([PubMed](#))
66. Hahn H.T., S.K. (1989). An Overview of African Traditional Cassava Processing and Utilisation. *Outlook on Agriculture* 18 (3) : 110 - 118.
67. Hahn H.T., Tsai S.W. (1980). Breeding cassava for resistance to cassava mosaic disease. *Euphytica*, 29 : 673-683.
68. Hanley-bowdoin L., Elmer J. S., Rogers S. G. (1989). Functional Expression of the Leftward Open Reading Frames of the A Component of Tomato Golden Mosaic Virus in Transgenic Tobacco Plants. *The Plant Cell* 1 : 1057 - 1067.
69. Hanley-Bowdoin L., Settlege S.B., Orozco B.M., Nagar S., Robertson D. (2000). Geminiviruses: Models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 35 : 105-140.
70. Harimalala M., Chiroleu F., Giraud-Carrier C., Hoareau M., Zinga I., Randriamampramina J.A., Velombola S., Villemot J., Ranomenjanahary S., Andrianjaka A., Reynaud B., Lefeuvre P., Lett J.M. (2014). Molecular epidemiology of cassava mosaic disease in Madagascar. *Plants Pathology*. Vol 64, 3.
71. Harimalala M., Lefeuvre P., De Bruyn A., Tiendrébéogo F., Hoareau M., Villemot J., Ranomenjanahary S., Andrianjaka A., Reynaud B., Lett J.M. (2012). A novel cassava- infecting begomovirus from Madagascar: cassava mosaic Madagascar virus. *Archives of Virology*.

72. Harrison B., Zhou X., Otim-Nape G., Liu Y., Robinson D. (1997). Role of a novel type of double infection in the geminivirus-induced epidemic of severe cassava mosaic in Uganda. *Annals of Applied Biology* 131 : 437-448.
73. Harrison B.D. (1987). Properties and geographical variation of geminivirus isolates from mosaic-affected cassava. In *Proceedings of the International Seminar: African cassava mosaic Disease and its Control*. Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, 4-8 May 1987. CTA-ORSTOM. 270 pp.
74. Harrison B.D., Robinson D.J. (1999). Natural genomic and antigenic variation in whitefly transmitted geminiviruses (begomoviruses). *Annual Review of Phytopathology* 37 : 369-398.
75. Herrera Campo B.V., Hyman G., Bellotti A. (2011). Threats to cassava production: known and potential geographic distribution of four key biotic constraints. *Food Security* 3 : 329- 345.
76. Hillocks R., Thresh J. (1998). Cassava mosaic and cassava brown streak virus diseases in Africa: a comparative guide to symptoms and a etiologies. Natural Resources Institute, UK : 10. Final technical report 27 p.
77. Hillocks R., Thresh J., Tomas J., Botao M., Macia R., Zavier R. (2002). Cassava brown streak disease in northern Mozambique. *International Journal of Pest Management* 48 : 178-181.
78. IFAD. (2008). Etude sur les potentialités de commercialisation des produits dérivés du manioc sur les marchés CEMAC. IRPCM, 272p.
79. IITA .(1990). Le manioc en Afrique, un manuel de référence. Amarin Printing Group Co ISBN 978 131 0456.
80. IITA. (2000). Lutte contre les ravageurs du manioc International Institute of Tropical. Agriculture, 21p ISBN 978-131-184-3.
81. Inoue-Nagata A.K., Albuquerque LC, Rocha WB, Nagata T. (2004). A simple method for cloning the complete begomovirus genome using the bacteriophage ϕ 29 DNA polymerase. *Journal of Virological Methods* 116 : 209–211.
82. Janssens. (2001). Le manioc in agriculture en Afrique tropicale. DGCI, Bruxelles, pp. 198-218.

83. Jenkins G.M., Rambaut A., Pybus O.G., Holmes E.C. (2002). Rates of molecular evolution in RNA viruses: A quantitative phylogenetic analysis. *Journal of Molecular Evolution* 54 : 156-165.
84. Jeske H., Lutgemeier M., Preiss W. (2001). Distinct DNA forms indicate rolling circle and recombination-dependent replication of Abutilon mosaic geminivirus. *EMBO J.* 20 : 6158–6167.
85. Karta K.K., Gamborg O.C. j. (1975). Elimination of Cassava Mosaic Disease by meristem culture. *Phytopathology*, 65 (7) : 826-828.
86. Konaté G., Barro N., Fargette D., Swanson M.M., Harrison B.D. (1995). Occurrence of whitefly-transmitted geminiviruses in crops in Burkina Faso, and their serological detection and differentiation. *Annals of Applied Biology* 126 : 121-129.
87. Kong L.J., Orozco B.M., Roe J.L., Nagar S., Ou S., Feiler H.S., Durfee T., Miller A.B., Grissem W., Robertson D. (2000). A geminivirus replication protein interacts with the retinoblastoma protein through a novel domain to determine symptoms and tissue specificity of infection in plants. *The EMBO Journal* 19 : 3485-3495.
88. Kosh-Komba E., Gbogbo K.A., Akpavi S., Noyer J-L., Duval M-F., Zinga I., Yandia P., Dourma M., Kandam K., Silla S., Batawila K., Akpagana K. (2013). Diversité génétique du manioc (*Manihot esculenta* Crants, euphorbiaceae) à l'échelle du village Boukoko en centrafricaine. *African Journals Online*.
89. Lancaster P., Ingram J., Lim M., Coursey D. (1982). Traditional cassava-based foods: survey of processing techniques. *Economic Botany* 36:12-45.
90. Laufs J., Schumcher S., Geisler N., Jupin I., Gronenborn B. (1995). Identification of the nicking tyrosine of geminivirus Rep protein. *FEBS letter* 18 : 258-262.
91. Laure B. (1981). Développement et Santé, n°35 octobre, 5p.
92. Lazarowitz S.G., Shepherd D.R.J. (1992). Geminiviruses: genome structure and gene function. *Critical Reviews in Plant Sciences* 11 : 327-349.
93. Lefeuvre P., Martin D.P., Hoareau M., Naze F., Delatte H., Thierry M., Varsani A., Becker N., Reynaud B., Lett J.-M. (2007). Begomovirus melting pot' in the south-west Indian Ocean islands: molecular diversity and evolution through recombination. *Journal of General Virology* 88 : 3458-3468.
94. Legg J. P. (1999). Emergence, spread and strategies for controlling the pandemic of cassava mosaic virus disease in East and Central Africa. *Crop Protection* 18 : 627-637.
95. Legg J. P., Ndjelassili F., Okao-Okuja G. (2004). First report of cassava mosaic disease and cassava mosaic geminiviruses in Gabon. *Plant Pathology* 53, 232.

96. Legg J., Fauquet C. (2004). Cassava mosaic geminiviruses in Africa. *Plant Molecular Biology* 56 : 585-599.
97. Legg J., Jeremiah S., Obiero H., Maruthi M., Ndyetabula I., Okao-Okuja G., Bouwmeester H., Bigirimana S., Tata-Hangy W., Gashaka G. (2011). Comparing the regional epidemiology of the cassava mosaic and cassava brown streak virus pandemics in Africa. *Virus Research* 159 : 161-170.
98. Legg J., Ogwal S. (1998). Changes in the incidence of African cassava mosaic virus disease and the abundance of its whitefly vector along south–north transects in Uganda. *Journal of Applied Entomology* 122 : 169-178.
99. Legg J., Owor B., Sseruwagi P., Ndunguru J. (2006). Cassava mosaic virus disease in East and Central Africa: epidemiology and management of a regional pandemic. *Advances in Virus Research* 67 : 355-418.
100. Legg J.P., Thresh. (2003). Cassava virus diseases in Africa. In: *Proceedings of the First International Conference on Plant Virology in Sub-Saharan Africa (4–8 June 2001, Ibadan, Nigeria)*, IITA, Ibadan, Nigeria, pp. 517-522.
101. Mabanza J., Jonard R. (1984). La régénération des plantes de manioc (*M. esculenta* Crantz) par néoformation de bourgeons à partir de cotylédons extraits de semences mûres et immatures. *Bull. Soc. Bot. Fr. lettre bot*, 1984 (2) : 91-95.
102. Mabanza J., Mahouka J. (2001b). Production des cultivars assainis de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) en compétition avec l'enherbement. *Cahier des Agricultures* 2001 (10) : 41-43
103. Mabanza J. et Jonard R. (1981). La multiplication des clones du manioc (*M. esculenta* Crantz) à partir d'apex isolés in vitro. *C.R.A cad. Sci. Paris* 1981 T. 292 Série III pp. 839-842
104. Mabanza J., Otabo F. R., Moussouami J. C. (2001a). Conservation in vitro du germoplasme des cultivars africains de manioc (*Manihot esculenta* Crantz). *Bulletin de ressources phylogénétiques*. 125 : 29-32.
105. Mabanza J., Rodriguez A.V., Mahouka J., Boumba B. (1994). Evaluation of "cleaned" cassava varieties in Congo. In *The Cassava Biotechnology Network; Proceedings of the Second International Scientific Meeting*, vol I : 194-201
106. Mabanza J., Rodriguez A.V., Mahouka J., Boumba B. (1994). Evaluation of "cleaned" cassava varieties in Congo. In *The Cassava Biotechnology Network. Proceedings of the Second International Scientific Meeting*. 1 : 194-201.
107. Mabanza J., Tonnang A.G., Mahouka J. (1997). Développement des cultivars assainis de manioc. *African Journal of Root and Tuber crops*. (2) : 52-54.
108. Mabanza J. (1992). La sélection et l'amélioration du manioc au Congo : acquis et perspectives. *CERAG/DGRST* 1992. 127 p.

109. Mallouhi, N., Kafara J.M. (2002). La culture du manioc en Centrafrique. CTP/ICRA 16 p.
110. Mallowa S. O., Isutsa D.K., Kamau A.W., Legg J. P. (2011). Effectiveness of phytosanitation in cassava mosaic disease management in a postepidemic area of western Kenya. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science* Vol. 6, N°. 7
111. Mansoor S., Briddon R.W., Zafar Y., Stanley J. (2003b). Geminivirus disease complexes an emerging threat. *TRENDS in Plant science* 8 : 128-134.
112. Mansoor S., Khan S.H., Bashir A., Saeed M., Zafar Y., Malik K., Briddon R., Stanley J., Markham P.G. (2003b). Cotton leaf curl disease is associated with multiple monopartite begomoviruses supported by a single DNA-B. *Arch. Virol.*, 148 : 1969-1986.
113. Mansoor S., Zafar Y., Briddon R.W. (2003a) Geminivirus disease complexes: the threat is spreading. *Trends in Plant Sci.* 8, 128–134.
114. Maruthi M., Hillocks R., Mtunda K., Raya M., Muhanna M., Kiozia H., Rekha A., Colvin J., Thresh J.M. (2005). Transmission of Cassava brown streak virus by *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Journal of Phytopathology* 153 : 307-312.
115. Mbanzibwa D., Tian Y., Tugume A., Mukasa S., Tairo F., Kyamanywa S., Kullaya A., Valkonen J.P.T. (2009). Genetically distinct strains of Cassava brown streak virus in the Lake Victoria basin and the Indian Ocean coastal area of East Africa. *Archives of virology* 154 : 353-359.
116. Mesfin T., Bosque-Perez N., Buddenhagen I., Thottappilly G., Olojede S. (1992) Studies on maize streak virus isolates from grass and cereal hosts in Nigeria. *Plant Disease* 76 : 789-795.
117. Mink, G.I., Wample R., Howell W.E. (1998). Heat treatment of perennial plants to eliminate phytoplasmas, viruses, and viroids while maintaining plant survival. In : *plant Virus Disease Control* (Hadid, A., Khetarpal, R.K. and Koganezawa, H., eds), pp : 332-345. St. Paul, MN: APS Press. The American Phytopathological Society.
118. Mohammed I., Abarshi M., Muli B., Hillocks R., Maruthi M. (2012). The symptom and genetic diversity of cassava brown streak viruses infecting cassava in East Africa. *Advances in Virology*. Volume 2012, Article ID 795697, 10 p.
119. Mombo, S., Dumat, C., Shahid, M., Schreck, E., (2016). A socio-scientific analysis of the environmental and health benefits as well as potential risks of cassava production and consumption. *Environmental Science and Pollution Research* 1–15. doi:10.1007/s11356-016-8190-
120. Monjane A.L., Harkins G.W., Martin D.P., Lemey P., Lefevre P., Shepherd D.N., Oluwafemi S., Simuyandi M., Zinga I., Kosh-Komba E.. (2011). Reconstructing the history of Maize streak virus strain a dispersal to reveal diversification hot spots and its origin in southern Africa. *Journal of Virology* 85 : 9623-9636.

121. Mosig G. (1998). Recombination and recombination-dependent DNA replication in bacteriophage T4. *Annual Review of Genetic* 32 : 379-413.
122. Mosig G., Gewin J., Luder A., Colowick N. (2001). Two recombination dependent DNA replication pathways of bacteriophage T4, and their roles in mutagenesis and horizontal gene transfer. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 98 : 8306-8311.
123. Murashige T, Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15 : 473-497.
124. N'zue B., Zohouri P.G., Sangare A., (2004). Performances agronomiques de quelques variétés de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) dans trois zones agro climatiques de la côte d'Ivoire. *Association ivoirienne des sciences agronomiques*, 16, (2) : 1-7.
125. Navot N., Pihersky E., Zeidan M., Amir D., Czosneck. H. (1991). Tomato yellow leaf curl virus; a whitefly-transmitted geminivirus with a single genomic component. *Virology* 185 : 151-161.
126. Ndunguru J., Legg J., Aveling T., Thompson G., Fauquet C. (2005). Molecular biodiversity of cassava begomoviruses in Tanzania: evolution of cassava geminiviruses in Africa and evidence for East Africa being a center of diversity of cassava geminiviruses. *Virology Journal* 2 : 21.
127. Ndunguru J., Legg, J. P., Fofana, I. B. F., Aveling, T.A.S., Thompson G., Fauquet C.M., Calvert L. (2006). Identification of a defective molecule derived from DNA-A of the bipartite begomovirus of East African cassava mosaic virus. *Plant Pathology* 55 : 2-10.
128. Ngeve J., Nukenine E., Dixon A. (2003). Reaction of cassava genotypes to the cassava mosaic disease in three distinct agroecologies in Nigeria. *Journal of Phytopathology* 151 : 101- 107.
129. Ntawuruhunga P., Legg J. (2007). New spread of cassava brown streak virus disease and its implications for the movement of cassava germplasm in the East and Central African region. *USAID, Report Crop Crisis Control Project C3P*, 6 p.
130. Ogbe F., Atiri G., Dixon A., Thottappilly G. (2003) Symptom severity of cassava mosaic disease in relation to concentration of African cassava mosaic virus in different cassava genotypes. *Plant Pathology* 52 : 84-91.
131. Ogwok E., Patil B.L., Alicai T., Fauquet C.M. (2010). Transmission studies with Cassava brown streak Uganda virus (Potyviridae : Ipomovirus) and its interaction with abiotic and biotic factors in *Nicotiana benthamiana*. *Journal of Virological Methods* 169 : 296- 304.
132. Ooi K., Oshita S., Izumi I., Yahara T. (1997). Molecular phylogeny of geminivirus infecting wild plants in Japan. *Journal of Plant Research* 110 : 247–257.
133. Otabo F.R., Mabanza J. (1996). Sevrage et transfert en plein champ des vitro plants de manioc. *Protocole de sevrage. Centre de recherches sur l'Amélioration Génétique des plantes tropicales (CERAG) en Institut de recherche en Agronomie (IRA)*. 10 p.

- 134.Otim-Nape G., Bua A., Thresh J.M., Baguma Y., Ogwal S., Semakula G., Acola G., Byabakama B., Martin A. (1997). Cassava mosaic virus disease in Uganda: the current pandemic and approaches to control. Chatham, UK: Natural Resources Institute.
- 135.Otim-Nape G.W., Bua A., Thresh J.M., Baguma Y., Ogwal S., Ssemakula G.N., Acola G., Byabakama B. (2000). The pandemic of cassava mosaic virus disease in East Africa: Control strategies and regional partnerships. *The Epidemiology of Plant Diseases*. pp 423-4.
- 136.Owor B., Legg J., Okao- Okuja G., Obonyo R., Kyamanywa S., Ogenga Latigo M. (2004b). Field studies of cross protection with cassava mosaic geminiviruses in Uganda. *Journal of Phytopathology* 152 : 243-249.
- 137.Owor B., Legg J., Okao- Okuja G., Obonyo R., Ogenga- Latigo M. (2004a). The effect of cassava mosaic geminiviruses on symptom severity, growth and root yield of a cassava mosaic virus disease- susceptible cultivar in Uganda. *Annals of Applied Biology* 145 : 331-337.
- 138.Padidam M., Sawyer S., Fauquet C.M. (1999). Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination. *Virology* 265 : 218-225.
- 139.Patil B.L., Fauquet C.M. (2009). Cassava mosaic geminiviruses : actual knowledge and perspectives. *Molecular Plant Pathology* 10:685-701.
- 140.Patil B.L., Ogwok E., Wagaba H., Mohammed I.U., Yadav J.S., Bagewadi B., Taylor N.J., Kreuze J.F., Maruthi M., Alicai T. (2011). RNAi- mediated resistance to diverse isolates belonging to two virus species involved in Cassava brown streak disease. *Molecular Plant Pathology* 12 : 31-
- 141.Perring T. (2001). The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Protection* 20 : 725-737.
- 142.Phillips R, Arnott S.M, Kaplan S.E. (1981). Antibiotics in plant tissue culture : Rifampicin effectively controls bacterial contaminants without affecting the growth of short-term explant cultures of *Helianthus tuberosus*. *Plant Sci. Lett.* 21(3) : 235-240.
- 143.Pita J., Fondong V., Sangare A., Otim-Nape G., Ogwal S., Fauquet C. (2001). Recombination, pseudo recombination and synergism of geminiviruses are determinant keys to the epidemic of severe cassava mosaic disease in Uganda. *Journal of General Virology* 82 : 655-665.
- 144.PNDRT. (2006). Amélioration de la sécurité alimentaire et des conditions d'existence des populations rurales par le transfert des techniques de production et de protection intégrée à travers le champ école de producteurs de manioc. Cas de Cameroun. Article Fidafrrique, 13 p.
- 145.Preiss W., Jeske H. (2003). Multitasking in replication is common among geminiviruses. *Journal of Virology* 77 : 2972–2980.
- 146.Pringle C.R. (1999). Virus taxonomy at the XIth International Congress of Virology 144 : 2065-2070.

- 147.Ramos P., Guevara-Gonzalez R., Peral R., Ascencio-Ibanez J., Polston J., Argüello-Astorga G., Vega-Arreguin J., Rivera-Bustamante R. (2003). Tomato mottle Taino virus pseudo recombines with PYMV but not with ToMoV : Implications for the delimitation of cis-and trans-acting replication specificity determinants. *Archives of Virology* 148 : 1697-1712.
- 148.Sajid L, Joachim M. (2014). Cassava—how to explore the Ball-sufficient. In: the *International Journal for Rural Development*. pp 30–31.
- 149.Sanz A.I., Fraile A., Gallego J.M., Malpica J.M., Garcia-Arenal F. (1999). Genetic variability of natural populations of cotton leaf curl geminivirus, a single-stranded DNA virus. *Journal of Molecular Evolution* 49 : 672–681.
- 150.Sanz A.I., Fraile A., Garcia-Arenal F., Zhou X., Robinson D.J., Khalid S., Butt T., Harrison B.D. (2000). Multiple infection, recombination and genome relationships among begomovirus isolates in cotton and other plants in Pakistan. *Journal of General Virology* 81 : 1839-1849.
- 151.Saunders K., Salim N., Mali V.R., Malathi V.G., Briddon R., Markham P.G., Stanley J. (2002). Characterisation of Sri Lankan cassava mosaic virus and Indian cassava mosaic virus: evidence for acquisition of a DNA B component by a monopartite begomovirus. *Virology* 293 : 63-74.
- 152.Seal S.E., vandenBosch F., Jeger M.J. (2006). Factors Influencing *Begomovirus* Evolution and Their Increasing Global Significance: Implications for Sustainable Control. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25 : 23–46.
153. Sserubombwe W., Thresh J.M., Otim- Nape G., Osiru D. (2001). Progress of cassava mosaic virus disease and whitefly vector populations in single and mixed stands of four cassava varieties grown under epidemic conditions in Uganda. *Annals of Applied Biology* 138 : 161-170.
- 154.Stanley J. (1995). Analysis of African cassava mosaic virus recombinants suggests strand nicking occurs within the conserved nonanucleotide motif during the initiation of rolling circle DNA replication. *Virology* 206 : 707-712.
- 155.Stanley J., Gay M.R. (1983). Nucleotide sequence of cassava latent virus DNA. *Nature* 301 : 260-262.
- 156.Stanley J., Saunders K., Pinner M.S., Wong S.M. (1997). Novel defective interfering DNAs associated with ageratum yellow vein geminivirus infection of *Ageratum conyzoides*. *Virology* 239 : 87-96.
- 157.Stenger D.C., Revington G.N., Stevenson M.C., Bisaro D.M. (1991). Replication release of geminivirus genomes from tandemly repeated copies: evidence for rolling- circle replication of a plant viral DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 88: 8029-8033.
- 158.Stone G.D. (2002). "Both Sides Now". *Current Anthropology* 43 (4) : 611–630.doi:10.1086/341532.

- 159.Storey H., Nichols R. (1938). Studies of the mosaic diseases of cassava. *Annals of Applied Biology* 25 : 790-806.
- 160.Storey H.H. (1936). Virus disease of East African plants. VI-A progress report on studies of the disease of cassava. *East African Agricultural Journal* 3 : 446-449.
- 161.Sunter G., Bisaro D.M. (1991). Transactivation in a geminivirus : AL2 gene product is needed for coat protein expression. *Virology* 180 : 416-419.
- 162.Sylvestre P., Arraudeau M. (1983). Le manioc. ACCT, Coll. Techniques Agricoles et Productions Tropicales. Editions G-P. Maisonneuve et Larose, Paris, 262 p.
- 163.Talukder M.I., Begum F., Azad M.M.K. (2007). Management of pineapple disease of sugarcane through biological means. *J. Agric. Rural Dev.* 5(1-2) : 79-83.
- 164.Theberg R., (1985). Common african pest and diseases of cassava, yam and coco yam. Ibadan, IITA, 108 p.
- 165.Tiendrébéogo F. (2010). Caractérisation et aspects épidémiologiques des Begomovirus infectant les plantes maraîchères et le manioc au Burkina Faso. Thèse de doctorat unique, Université d Ouagadougou, Burkina Faso. 160 p.
166. Tiendrébéogo F., Lefeuvre P., Hoareau M., Harimalala M.A., De Bruyn A., Villemot J., Traoré V.S.E., Konaté G., Traoré A.S., Barro N. (2012). Evolution of African cassava mosaic virus by recombination between bipartite and monopartite begomoviruses. *Virology Journal* 9 : 67.
- 167.Trèche S. (1995). Importance du manioc en alimentation humaine dans différentes régions du monde. ORTOM, colloque et séminaires. pp. 25-35.
- 168.Ummey H., Sharmin R., Mihir L.S., Khan M.R., Syed H. (2002). Endogenous Bacterial Contamination During In vitro Culture of Table Banana : Identification and Prevention. *Plant Tissue Cult.* 12(2) : 117-124.
- 169.Valam Z A.F., Zinga I., Komba E.K., Toukia I.G., Soukpe R.D.L., Ballot C.A.S., Yandia P., Silla S., Mabanza J. (2018). “Comparative study between traditional cultural practices and conventional cultivation practices of cassava in a Farmer Field School in Pissa, Central African Republic”, *International Journal of Development and Sustainability*, Vol. 7, N°. 3, pp. 1062-1071.
- 170.Valam Z.A.F., Zinga I., Hoareau M., Tocko M.B.K., Mvila A.C., Silla S., Lett J.M. (2015). First report of cassava mosaic geminiviruses and the Uganda strain of East African cassava virus (EACMV-UG) associated with cassava mosaic disease in Equatorial Guinea. *New Disease Reports* 32, 29. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.215.032.029>.
- 171.Van Wezel R., Liu H., Tien P., Stanley J., Hong Y. (2001). Gene C2 of the monopartite geminivirus tomato yellow leaf curl virus-China encodes a 137 pathogenicity determinant that is localized in the nucleus. *Molecular Plant Microbe Interact* 14 : 1125-8.

172. Vanderschuren H., Stupak M., Futterer J., Gruissem W., Zhang P. (2007). Engineering resistance to geminiviruses--review and perspectives. *Plant Biotechnology Journal* 5 : 207-220.
173. Vanitharani R., Chellappan P., Fauquet C. M. (2005). Geminiviruses and RNA silencing. *Trends Plant Science* 10 : 144-51.
174. WARBURG O., (1894). Die kuiturpflanzen usambaras. *Mitt. Deutsch. Schutzgeb* 7, 131. *Annals of Applied Biology* 25: 790-80.
175. Wartig L., Kheyr-Pour A., Noris E., De Kouchkovsky F., Jouanneau F., Gronenborn B., Jupin I. (1997). Genetic analysis of the monopartite tomato 138 yellow leaf curl geminivirus: roles of V1, V2 and C2 ORFs in viral pathogenesis. *Virology* 228 : 132-140.
176. Winter S., Koerbler M., Stein B., Pietruszka A., Paape M., Butgereitt A. (2010). Analysis of cassava brown streak viruses reveals the presence of distinct virus species causing cassava brown streak disease in East Africa. *Journal of General Virology* 91 : 1365- 1372.
177. Xie Q., Sanz-Burgos A.P., Guo H., Garcia J.A., Gutierrez C. (1999). GRAB proteins, novel members of the NAC domain family, isolated by their interaction with geminivirus protein. *Plant Molecular Biology* 39 : 647-656
178. Yandia S. P., Wouyou D. A., Silla S., Dambier D., Gandonou C. B., Toukourou F., (2015). Elimination of African cassava mosaic virus in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) using meristem culture associated to thermotherapy. *International Journal of Development Research* Vol. 5, Issue, 10, pp. 5655-5660.
179. Yaninek J.S., Braima D.J., Wydra K. (1997). Cassava pest and disease diagnostic survey protocols guide to survey protocols and sampling procedures dans Actualisation de la banque de données sur le manioc au Bénin, p. 32.
180. Zeidan M., Czosnek H. (1991). Acquisition of tomato yellow leaf curl virus by the whitefly *Bemisia tabaci*. *Journal of General Virology* 72 : 2607-2614.
181. Zhou X., Liu Y., Calvert L., Munoz C., Otim-Nape G.W., Robinson D.J., Harrison B.D. (1997). Evidence that DNA-A of a geminivirus associated with severe cassava mosaic disease in Uganda has arisen by interspecific recombination. *Journal of General Virology* 78 : 2101-2111.
182. Zhou X., Robinson D.J., Harrison B.D. (1999). Types of variation in DNA-A among isolates of East African cassava mosaic virus from Kenya, Malawi and Tanzania. *Journal of General Virology* 79 : 2835-2840.
183. Zinga I, Harimalala M, De Bruyn A, Hoareau M, Semballa S, Reynaud B, Lefeuvre P, Lett J.M. (2012a). East African cassava mosaic virus Uganda (EACMV-UG) and African cassava mosaic virus (ACMV) reported for the first time in Central African Republic and Chad. *New Dis Reports*, 2012-47.

- 184.Zinga I. (2012). Epidémiologie de la maladie de la mosaïque du manioc en République Centrafricaine, résistance variétale et assainissement par thermothérapie Thèse de Doctorat 163 pp.
- 185.Zinga I., (2012). Epidémiologie de la maladie de la mosaïque du manioc en République Centrafricaine, résistance variétale et assainissement par thermothérapie. Thèse de doctorat en cotutelle, Université de La Réunion et Université de Bangui, 170p.
- 186.Zinga I., Chiroleu F., Legg J., Lefeuvre P., Kosh Komba E., Semballa S., Yandia P.S., Mandakombo N.B., Reynaud B. Lett J.M. (2013). Epidemiology assesement of cassava mosaic disease in Central African Republic reveals the importance of mixed viral infection and poor health of plant cutting. *Crop Protection* 4 : 6-12.
187. Zinga I., Chiroleu F., Valam Zango A., Ballot C.S.A., Harimalala M., Kosh Komba E., Yandia P.S., Silla S., Reynaud B, Lefeuvre P., Lett J. M., Dintinger J. (2016b). Evaluation of Cassava Cultivars for Resistance to Cassava Mosaic Disease and Yield Potential in Central African Republic. *J Phytopathology*. doi: 10.1111/jph.12511.
- 188.Zinga I., Harimalala M., De Bruyn A., Hoareau M., Semballa S., Reynaud B., Lefeuvre P., Lett J.M. (2012b). East African cassava mosaic virus-Uganda (EACMV-UG) and African cassava mosaic virus (ACMV) reported for the first time in Central African Republic and Chad. *New Disease. Reports*, 2012-47.
- 189.Zinga I., Nguimalet C.R., Lakouetene D.P., Konate G., Kosh Komba E. et Silla S. (2008). Les effets de la mosaïque africaine de manioc en république centrafricaine, *geo-eco-trop*, 2008, 32 : 47-60.

ANNEXES

Annexe 1 :Les milieux de culture pour la culture in vitro

<i>Composants des milieux</i>	<i>Con. / Milieu d'initiation</i>	<i>Con. / Milieu de prolifération</i>
Acide naphthalène acétique(ANA)	0,02mg/ml	0
Benzalaminopurine(BAP)	0,05mg/ml	0
CuSO4	1ml/l	0
Muruschige et Shoog(MS)	4,4g/l	4,4g/l
Sucrose	30g/l	30g/l
Phytigel	3,5g/l	3,5g/l
Myoinositol	100mg/l	100mg/l
Thiamine	1mg/l	0
Pyridoxine	1,5mg/l	0
Acide nicotinique	1,5mg/l	0
Glycine	2mg/l	0
Acide Gibbérellique(GA3)	0,02mg/ml	0

Table 1 : composition of CTAB kit

Reagents	Volume	Con. Final
1 M Tris HCl pH 8.0	100 ml	100mM
0,5 M EDTA	20 ml	10mM
Nacl	81,8 g	1.4 M
CATB*	20 g	2%
Eau distillée (H ₂ O)	QSP 1L	

Con. Final: concentration finale

Annexe 2 : Fiche de collecte des échantillons de feuilles de manioc infectées dans les pays de la CEMAC.

Les échantillons de la RCA

N° de l'échantillon	Nom de la variété	IGS	Coordonnées GPS			Site	Pays	Date de collecte
			Nord	Est	Altitude			
1	Vouro gozo	3	04°12.334'	018°23.007'	180 m	Pissa	RCA	09/02/2013
2	Vouro gozo	3	04°12.334'	018°23.007'	180 m	Pissa	RCA	09/02/2013
3	six mois	3	04°10.913'	018°22.766'	193 m	Pissa	RCA	09/02/2013
4	six mois	2	04°10.913'	018°22.766'	193 m	Pissa	RCA	09/02/2013
5	six mois	4	04°10.913'	018°22.766'	193 m	Pissa	RCA	09/02/2013
6	six mois	2	04°10.913'	018°22.766'	193 m	Pissa	RCA	09/02/2013
7	Mozele pako	2	04°10.913'	018°22.766'	193 m	Pissa	RCA	09/02/2013
8	six mois	3	04°10.918'	018°22.766'	120 m	Pissa	RCA	09/02/2013
9	six mois	3	04°10.918'	018°22.766'	120 m	Pissa	RCA	09/02/2013
10	Baboro	3	04°07.646'	018°19.250'	221 m	Pissa	RCA	09/02/2013
11	six mois	3	04°10.918'	018°22.766'	120 m	Pissa	RCA	09/02/2013
12	six mois	4	04°10.918'	018°22.766'	120 m	Pissa	RCA	09/02/2013
13	inc	3	04°07.647'	018°21.980'	226 m	Pissa	RCA	09/02/2013
14	inc	2	04°07.647'	018°21.980'	226 m	Pissa	RCA	09/02/2013
15	six mois	4	04°07.647'	018°21.980'	226 m	Pissa	RCA	09/02/2013
16	six mois	3	04°07.647'	018°21.980'	226 m	Pissa	RCA	09/02/2013
17	six mois	3	04°07.647'	018°21.980'	226 m	Pissa	RCA	09/02/2013
18	Vouro gozo	4	04°07.646'	018°18.226'	214 m	Pissa	RCA	09/02/2013
19	six mois	4	04°07.646'	018°18.226'	214 m	Pissa	RCA	09/02/2013
20	six mois	3	04°07.646'	018°18.226'	214 m	Pissa	RCA	09/02/2013
21	six mois	2	04°07.646'	018°18.226'	214 m	Pissa	RCA	09/02/2013
22	Vouro gozo	2	04°07.646'	018°18.226'	214 m	Pissa	RCA	09/02/2013
23	Bengba gozo	2	04°07.646'	018°15.712'	169 m	Pissa	RCA	10/02/2013
24	six mois	3	04°07.646'	018°15.712'	169 m	Pissa	RCA	10/02/2013
25	Vouro gozo	4	04°07.646'	018°15.712'	169 m	Pissa	RCA	10/02/2013
26	six mois	4	04°07.646'	018°15.712'	169 m	Pissa	RCA	10/02/2013
27	Bengba gozo	3	04°07.529'	018°14.534'	63 m	Pissa	RCA	10/02/2013
28	six mois	3	04°07.529'	018°14.534'	63 m	Pissa	RCA	10/02/2013
29	six mois	2	04°07.529'	018°14.534'	70 m	Pissa	RCA	10/02/2013
30	six mois	5	04°07.529'	018°14.534'	70 m	Pissa	RCA	10/02/2013
31	inc.	2	04°07.529'	018°14.534'	70 m	Pissa	RCA	10/02/2013
32	Bengba gozo	3	04°07.529'	018°14.534'	44 m	Pissa	RCA	10/02/2013
33	six mois	2	04°07.529'	018°14.534'	44 m	Pissa	RCA	10/02/2013
34	six mois	3	04°07.529'	018°14.534'	44 m	Pissa	RCA	10/02/2013
35	inc.	2	04°07.529'	018°14.534'	44 m	Pissa	RCA	10/02/2013
36	six mois	4	04°07.529'	018°14.534'	44 m	Pissa	RCA	10/02/2013

37	six mois	2	04°07.529'	018°14.534'	85 m	Pissa	RCA	10/02/2013
38	six mois	3	04°07.529'	018°14.534'	85 m	Pissa	RCA	10/02/2013
39	six mois	3	04°07.529'	018°14.534'	85 m	Pissa	RCA	10/02/2013
40	six mois	2	04°07.529'	018°14.534'	85 m	Pissa	RCA	10/02/2013
41	six mois	3	04°07.646'	018°18.226'	171 m	Pissa	RCA	09/02/2013
42	six mois	2	04°07.646'	018°18.226'	171 m	Pissa	RCA	09/02/2013
43	six mois	4	04°07.646'	018°18.226'	171 m	Pissa	RCA	09/02/2013
44	six mois	3	04°07.646'	018°18.226'	171 m	Pissa	RCA	09/02/2013
45	six mois	3	04°07.646'	018°18.226'	133 m	Pissa	RCA	10/02/2013
46	inc.	3	04°07.646'	018°18.226'	133 m	Pissa	RCA	10/02/2013
47	six mois	3	04°07.529'	018°18.534'	70 m	Pissa	RCA	10/02/2013
48	Vouro gozo	3	04°07.646'	018°18.226'	133 m	Pissa	RCA	10/02/2013
49	six mois	4	04°07.529'	018°18.534'	133 m	Pissa	RCA	10/02/2013
50	six mois	2	04°07.529'	018°18.534'	133 m	Pissa	RCA	10/02/2013
51	inc.	3	04°07.646'	018°18.226'	133 m	Pissa	RCA	10/02/2013
52	six mois	3	04°07.529'	018°18.534'	70 m	Pissa	RCA	10/02/2013
53	six mois	2	04°12.334'	018°23.007'	180 m	Pissa	RCA	09/02/2013
54	six mois	3	04°10.918'	018°22.766'	120 m	Pissa	RCA	22/09/2013
55	Nola	3	04°10.918'	018°22.766'	193 m	Pissa	RCA	21/09/2013
56	six mois	3	04°10.918'	018°22.766'	120 m	Pissa	RCA	09/02/2013
57	Bambari	4	04°37.776'	017°45.996'	62,39 m	Yaloké	RCA	21/09/2013
58	Claire	4	04°17.074'	017°12.137'	60,50 m	Yaloké	RCA	22/09/2013
59	inc.	2	04°17.074'	017°12.137'	60,50 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
60	inc.	4	04°37.740'	017°49.318'	72,82 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
61	inc.	4	04°37.776'	017°45.996'	62,39 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
62	inc.	4	04°36.847'	017°49.318'	72,82 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
63	inc.	4	04°37.776'	017°45.996'	76,31 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
64	six mois	3	04°37.776'	017°45.996'	62,39 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
65	inc.	4	04°17.074'	017°12.137'	60,50 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
66	Assa	5	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
67	zaorombousse	4	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
68	Assa	3	05°17.309'	017°15.368'	27 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
69	Assa	3	04°37.776'	017°45.996'	62,35 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
70	Assa	5	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
71	Assa	4	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
72	Assa	4	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
73	inc.	4	04°37.776'	017°45.996'	76,31 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
74	inc.	3	04°37.776'	017°45.996'	75,59 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
75	zaorombousse	5	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
76	inc.	4	04°37.776'	017°45.996'	76,31 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
77	Assa	4	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
78	zaorombousse	3	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013

79	Assa	4	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
80	Bambari	4	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
81	Assa	4	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
82	zaorombousse	4	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
83	Rendre	4	05°17.309'	017°15.368'	27 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
84	inc.	4	04°37.776'	017°45.996'	76,31 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
85	inc.	5	04°37.776'	017°45.996'	75,59 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
86	inc.	4	04°37.776'	017°45.996'	76,31 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
87	inc.	5	04°37.776'	017°45.996'	75,59 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
88	Assa	4	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
89	inc.	3	04°17.074'	017°12.137'	60,50 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
90	six mois	3	04°36.776'	017°45.996'	62,39 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
91	Assa	4	05°17.309'	017°15.368'	27 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
92	inc.	5	04°37.740'	017°49.318'	72,82 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
93	inc.	4	04°36.847'	017°49.318'	72,82 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
94	six mois	4	04°37.776'	017°45.996'	62,39 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
95	inc.	4	04°37.740'	017°46.345'	76,01m	Yaloké	RCA	15/02/2013
96	inc.	4	04°36.847'	017°49.318'	72,82 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
97	inc.	3	04°36.847'	017°49.318'	72,82 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
98	inc.	4	04°37.776'	017°45.996'	75,59 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
99	inc.	4	04°17.074'	017°12.137'	60,50 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
100	inc.	3	04°37.776'	017°45.996'	76,31 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
101	inc.	4	04°37.776'	017°45.996'	76,31 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
102	inc.	4	04°37.740'	017°49.318'	72,82 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
103	inc.	3	04°37.776'	017°45.996'	76,31 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
104	Assa	4	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
105	inc.	4	04°37.740'	017°46.345'	76,01 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
106	inc.	4	04°17.074'	017°12.137'	60,50 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
107	inc.	3	04°37.740'	017°49.318'	72,82 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
108	Assa	5	05°17.309'	017°15.368'	27 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
109	inc.	3	04°17.074'	017°12.137'	60,50 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
110	six mois	4	04°37.776'	017°45.996'	62,39 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
111	Assa	3	04°37.776'	017°45.996'	62,39 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
112	Claire	4	04°36.847'	017°49.318'	72,82 m	Yaloké	RCA	21/09/2013
113	six mois	3	04°12.334'	018°23.007'	180 m	Pissa	RCA	09/02/2013
114	inc.	4	04°17.074'	017°12.137'	60,50 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
115	Assa	5	04°37.776'	017°45.996'	63,18 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
116	inc.	3	04°37.776'	017°45.996'	75,59 m	Yaloké	RCA	14/02/2013
117	Claire	4	04°37.776'	017°45.996'	62,39 m	Yaloké	RCA	22/09/2013
118	six mois	2	04°12.334'	018°23.007'	180 m	Yaloké	RCA	09/02/2013
119	Claire	3	04°37.740'	017°49.318'	72,82 m	Yaloké	RCA	22/09/2013
120	inc.	3	04°17.074'	017°12.137'	60,50 m	Yaloké	RCA	15/02/2013

121	Assa	4	04°36.847'	017°49.318'	72,82 m	Yaloké	RCA	22/09/2013
122	inc.	4	04°37.776'	017°45.996'	62,39 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
123	Six mois	3	05°36.189'	019°12.247'	1512 m	Yaloké	RCA	22/09/2012
124	Assa	4	05°17.309'	017°15.368'	27 m	Yaloké	RCA	15/02/2013
125	Gangbada	4	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
126	Gangbada	3	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
127	Gangbada	4	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
128	Mawari	3	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
129	Mawari	3	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	21/10/2013
130	Gira piri	3	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	21/10/2013
131	Gangbada	4	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
132	Mawari	4	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
133	Zangbang	5	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	21/10/2013
134	Mawari	3	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
135	Gangbada	3	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
136	Mawari	4	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	21/10/2013
137	Gangbada	5	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
138	Gangbalé	5	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
139	Gangbada	4	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
140	Mawari	4	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	21/10/2013
141	Gangbalé	5	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
142	Gangbada	5	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
143	Gangbada	4	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
144	Gangbada	4	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
145	Gangbada	4	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
146	Mawari	4	inc.	inc.	inc.	Sibut	RCA	19/10/2013
147	Rendre	4	05°44.281'	019°09.986'	1652 m	Sibut	RCA	22/09/2013
148	Yalipé	3	05°33.610'	019°07.038'	1354 m	Sibut	RCA	22/09/2013
149	JPN	3	05°61.214'	019°15.520'	1420 m	Sibut	RCA	22/09/2013
150	Babouche	3	05°33.610'	019°07.038'	1354 m	Sibut	RCA	22/09/2013
151	Ombella	3	05°33.610'	019°07.038'	1354 m	Sibut	RCA	22/09/2013
152	JPN	3	05°38.463'	018°22.768'	1522 m	Sibut	RCA	21/09/2013

Les échantillons du Tchad

N°	Variété	IGS	Coordonnées GPS			Site	Pays	date de collecte
			Nord	Est	altitude			
1	six mois	2	09°15.636'	015°50.055'	1260 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
2	six mois	2	09°15.642'	015°50.018'	1264 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
3	cameroun	2	09°15.667'	015°50.016'	1258 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
4	cameroun	2	09°15.689'	015°50.025'	1261 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
5	moreye	2	09°15.716'	015°50.024'	1264 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
6	moreye	2	09°15.715'	015°50.025'	1268 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
7	moreye	1	09°15.716'	015°50.022'	1265 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
8	six mois	2	09°15.508'	015°50.022'	1272 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
9	six mois	2	09°15.505'	015°50.034'	1268 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
10	six mois	2	09°15.505'	015°50.033'	1266 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
11	locale kana	3	08°40.297'	015°54.854'	1502 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
12	locale kana	2	08°40.288'	015°54.851'	1496 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
13	locale kana	4	08°40.216'	015°54.854'	1513 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
14	inc.	3	08°40.254'	015°54.884'	1521 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
15	locale kana	1	08°40.272'	015°54.893'	1514 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
16	locale kana	2	08°40.257'	015°54.888'	1519 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
17	variété sauvage	2	09°17.949'	015°48.560'	1242 m	Kélo	Tchad	11/04/2013
18	inc.	4	07°35.275'	015°35.437'	1776 m	Kélo	Tchad	06/04/2013
19	ngoè	2	07°35.273'	015°35.439'	1786 m	Kélo	Tchad	06/04/2013
20	ngoè	3	07°35.272'	015°35.441'	1787 m	Kélo	Tchad	06/04/2013
21	ngoè	4	07°35.269'	015°35.443'	1788 m	Kélo	Tchad	06/04/2013
22	ngoè	1	07°35.267'	015°35.446'	1790 m	Kélo	Tchad	06/04/2013
23	ngoè	1	07°35.265'	015°35.449'	1788 m	Kélo	Tchad	06/04/2013
24	ngouè	2	07°35.261'	015°35.454'	1779 m	Kélo	Tchad	06/04/2013
25	ngouè	1	07°35.259'	015°35.457'	1776 m	Kélo	Tchad	06/04/2013
26	ngouè	3	07°35.256'	015°35.459'	1788 m	Kélo	Tchad	06/04/2013
27	ngouè	3	07°35.253'	015°35.463'	1780 m	Kélo	Tchad	06/04/2013
28	tombadje	2	09°18.159'	015°36.937'	1281 m	Kélo	Tchad	10/04/2013
29	tessem	2	09°18.139'	015°36.965'	1280 m	Kélo	Tchad	10/04/2013
30	tessem	2	09°18.136'	015°36.994'	1285 m	Kélo	Tchad	10/04/2013
31	tombadje	2	09°18.178'	015°36.992'	1289 m	Kélo	Tchad	10/04/2013
32	tombadje	2	09°18.179'	015°36.983'	1284 m	Kélo	Tchad	10/04/2013
33	tombadje	2	09°18.233'	015°36.941'	1287 m	Kélo	Tchad	10/04/2013
34	ngali berokou	2	09°18.014'	015°36.466'	1281 m	Kélo	Tchad	10/04/2013
35	ngali berokou	2	09°18.013'	015°36.458'	1280 m	Kélo	Tchad	10/04/2013
36	ngali berokou	2	09°18.014'	015°36.456'	1281 m	Kélo	Tchad	10/04/2013
37	local1 mainani	2	08°36.827'	016°34.544'	1324 m	Kélo	Tchad	14/06/2013
38	local1 mainani	3	08°36.826'	016°34.540'	1325 m	Kélo	Tchad	14/06/2013

39	local1 mainani	3	08°36.856'	016°34.527'	1321 m	Kélo	Tchad	14/06/2013
40	local1 mainani	2	08°36.861'	016°34.520'	1323 m	Kélo	Tchad	14/06/2013
41	local2 mainani	2	08°36.853'	016°34.507'	1315 m	Kélo	Tchad	14/06/2013
42	local2 mainani	3	08°36.852'	016°34.499'	1314 m	Kélo	Tchad	14/06/2013
43	local3 mainani	2	08°36.845'	016°34.483'	1310 m	Kélo	Tchad	14/06/2013
44	local3 mainani	3	08°36.844'	016°34.480'	1313 m	Kélo	Tchad	14/06/2013
45	253-264	2	08°40.548'	016°33.639'	1323 m	Kélo	Tchad	15/06/2013
46	13-B522	2	08°40.545'	016°33.650'	1312 m	Kélo	Tchad	15/06/2013
47	RTD 98/005	3	08°40.540'	016°33.643'	1307 m	Kélo	Tchad	15/06/2013
48	99-A405	3	08°40.554'	016°43.645'	1319 m	Kélo	Tchad	15/06/2013
49	97/4764	3	08°40.557'	016°33.651'	1329 m	Kélo	Tchad	15/06/2013
50	Ngali Moré	2	08°40.523'	016°33.624'	1309 m	Kélo	Tchad	15/06/2013
51	jatropha curcas	3	08°40.482'	016°33.585'	1205 m	Kélo	Tchad	15/06/2013
52	inc.	3	08°40.338'	016°33.749'	1302 m	Kélo	Tchad	15/06/2013
53	ngouti	2	08°18.663'	018°45.196'	1317 m	sarh	Tchad	07/06/2013
54	ngouti	3	08°18.649'	018°45.199'	1320 m	sarh	Tchad	07/06/2013
55	torbay	2	08°18.472'	018°45.159'	1319 m	sarh	Tchad	07/06/2013
56	morbay	3	08°18.469'	018°45.160'	1319 m	sarh	Tchad	07/06/2013
57	ngouti	3	08°18.611'	018°44.963'	1307 m	sarh	Tchad	07/06/2013
58	ngouti	2	08°18.612'	018°44.964'	1298 m	sarh	Tchad	07/06/2013
59	morbay	2	08°18.628'	018°44.966'	1286 m	sarh	Tchad	07/06/2013
60	kangara	2	08°18.639'	018°44.966'	1286 m	sarh	Tchad	07/06/2013
61	mandkako	2	08°51.322'	017°26.712'	1213 m	sarh	Tchad	10/06/2013
62	GAR	2	08°51.343'	017°26.699'	1213 m	sarh	Tchad	10/06/2013
63	GAR	3	08°51.346'	017°26.695'	1215 m	sarh	Tchad	10/06/2013
64	GAR	4	08°51.371'	017°26.690'	1218 m	sarh	Tchad	10/06/2013
65	GAR	3	08°53.010'	017°26.097'	1211 m	sarh	Tchad	10/06/2013
66	mandkako	2	09°01.546'	017°59.121'	1419 m	sarh	Tchad	08/06/2013
67	mandkako	3	09°01.555'	017°59.121'	1430 m	sarh	Tchad	08/06/2013
68	mandkako	4	09°02.536'	018°00.369'	1385 m	sarh	Tchad	08/06/2013
69	nani hogui	2	09°02.542'	018°00.369'	1382 m	sarh	Tchad	08/06/2013
70	nani hogui	3	09°02.545'	018°00.365'	1387 m	sarh	Tchad	08/06/2013
71	ngalinda	2	09°02.559'	018°00.385'	1380 m	sarh	Tchad	08/06/2013
72	ngalinda	2	09°02.552'	018°00.387'	1380 m	sarh	Tchad	08/06/2013
73	biyeng	2	09°10.385'	018°13.555'	1197 m	sarh	Tchad	08/06/2013
74	biyeng	3	09°10.370'	018°13.560'	1206 m	sarh	Tchad	08/06/2013
75	biyeng	3	09°10.369'	018°13.571'	1200 m	sarh	Tchad	08/06/2013
76	six mois	3	09°10.292'	018°13.641'	1202 m	sarh	Tchad	08/06/2013
77	inconnue	4	09°10.291'	018°13.643'	1197 m	sarh	Tchad	08/06/2013
78	six mois	3	09°10.292'	018°13.647'	1196 m	sarh	Tchad	08/06/2013
79	biyeng	2	09°10.304'	018°13.658'	1196 m	sarh	Tchad	08/06/2013
80	inconnue	3	09°10.310'	018°13.660'	1202 m	sarh	Tchad	08/06/2013

81	biyeng	3	08°48.864'	018°29.984'	1249 m	sarh	Tchad	07/06/2013
82	biyeng	2	08°48.864'	018°29.981'	1258 m	sarh	Tchad	07/06/2013
83	karanga	3	08°48.599'	018°29.782'	1250 m	sarh	Tchad	07/06/2013
84	karanga	2	08°48.608'	018°29.794'	1244 m	sarh	Tchad	07/06/2013
85	tolmad	3	08°48.699'	018°29.745'	1241 m	sarh	Tchad	07/06/2013
86	korkôh	2	08°48.701'	018°29.740'	1246 m	sarh	Tchad	07/06/2013
87	korkôh	2	08°48.740'	018°29.752'	1245 m	sarh	Tchad	07/06/2013
88	korkôh	3	08°48.697'	018°29.755'	1236 m	sarh	Tchad	07/06/2013
89	ngouti	3	08°18.802'	018°45.160'	1309 m	sarh	Tchad	07/06/2013
90	ngouti	2	08°18.789'	018°45.166'	1303 m	sarh	Tchad	07/06/2013
91	six mois	2	08°25.760'	017°47.696'	1269 m	sarh	Tchad	06/06/2013
92	six mois	3	08°25.750'	017°47.707'	1270 m	sarh	Tchad	06/06/2013
93	inconnue	3	09°03.154'	018°25.480'	1236 m	sarh	Tchad	06/06/2013
94	inconnue	2	09°03.145'	018°25.476'	1229 m	sarh	Tchad	06/06/2013
95	boyo	2	09°03.600'	018°25.406'	1225 m	sarh	Tchad	06/06/2013
96	boyo	3	09°03.598'	018°25.405'	1219 m	sarh	Tchad	06/06/2013
97	boyo	3	09°03.604'	018°25.579'	1213 m	sarh	Tchad	06/06/2013
98	boyo	2	09°03.601'	018°25.374'	1212 m	sarh	Tchad	06/06/2013
99	boyo	3	08°11.753'	017°36.596'	1312 m	sarh	Tchad	05/06/2013
100	karibay	3	08°13.726'	017°39.878'	1296 m	sarh	Tchad	05/06/2013
101	pagassou	3	08°13.674'	017°39.925'	1300 m	sarh	Tchad	05/06/2013
102	pagassou	3	08°13.671'	017°39.927'	1303 m	sarh	Tchad	05/06/2013
103	pagassou	2	08°11.762'	017°36.614'	1314 m	sarh	Tchad	05/06/2013
104	tamandoze	3	08°10.305'	017°34.355'	1303 m	sarh	Tchad	05/06/2013
105	tamandoze	2	08°06.274'	017°32.040'	1303 m	sarh	Tchad	04/06/2013
106	tamandoze	4	08°06.283'	017°32.051'	1303 m	sarh	Tchad	04/06/2013
107	tamandoze	3	08°11.473'	017°36.225'	1303 m	sarh	Tchad	04/06/2013
108	tamandoze	2	08°11.469'	017°36.228'	1307 m	sarh	Tchad	04/06/2013
109	tamandoze	4	08°11.468'	017°36.232'	1307 m	sarh	Tchad	04/06/2013
110	boyo	2	08°10.319'	017°34.345'	1301 m	sarh	Tchad	05/06/2013
111	boyo	3	08°10.318'	017°34.346'	1309 m	sarh	Tchad	05/06/2013
112	inc.	3	08°43.611'	017°09.639'	1263 m	sarh	Tchad	10/06/2013
113	inc.	3	08°40.611'	016°33.749'	1263 m	sarh	Tchad	15/06/2013
114	GAR	3	08°44.043'	017°10.987'	1263 m	sarh	Tchad	10/06/2013
115	GAR	2	08°44.004'	017°11.058'	1272 m	sarh	Tchad	10/06/2013
116	six mois	3	08°43.596'	017°09.648'	1266 m	sarh	Tchad	10/06/2013
117	mandkako	2	08°51.322'	017°26.712'	1217 m	sarh	Tchad	10/06/2013
118	ngali mand	2	08°50.216'	017°22.660'	1257 m	sarh	Tchad	10/06/2013
119	ngali mand	3	08°50.225'	017°22.683'	1263 m	sarh	Tchad	10/06/2013
120	GAR	4	08°42.102'	017°10.917'	1267 m	sarh	Tchad	10/06/2013
121	GAR	2	08°44.101'	017°10.923'	1271 m	sarh	Tchad	10/06/2013
122	GAR	3	08°44.095'	017°10.929'	1272 m	sarh	Tchad	10/06/2013

123	GAR	2	08°44.039'	017°10.989'	1277 m	sarh	Tchad	10/06/2013
124	GAR	4	08°44.005'	017°10.065'	1281 m	sarh	Tchad	10/06/2013
125	GAR	3	08°44.001'	017°11.066'	1285 m	sarh	Tchad	10/06/2013
126	GAR	4	08°43.954'	017°11.047'	1277 m	sarh	Tchad	10/06/2013
127	GAR	2	08°43.952'	017°11.047'	1272 m	sarh	Tchad	10/06/2013
128	GAR	3	08°43.947'	017°11.045'	1274 m	sarh	Tchad	10/06/2013
129	six mois	4	08°43.603'	017°09.654'	1254 m	sarh	Tchad	10/06/2013
130	six mois	2	08°43.600'	017°09.648'	1258 m	sarh	Tchad	10/06/2013
131	Kadbitei	3	08°42.255'	017°09.669'	1267 m	sarh	Tchad	10/06/2013
132	six mois	3	08°42.257'	017°09.654'	1265 m	sarh	Tchad	10/06/2013
133	six mois	4	08°42.256'	017°09.654'	1260 m	sarh	Tchad	10/06/2013
134	six mois	2	08°42.253'	017°09.653'	1264 m	sarh	Tchad	10/06/2013
135	six mois	2	08°42.040'	017°09.857'	1267 m	sarh	Tchad	10/06/2013
136	six mois	3	08°42.039'	017°09.874'	1259 m	sarh	Tchad	10/06/2013
137	six mois	4	08°42.012'	017°09.898'	1266 m	sarh	Tchad	10/06/2013
138	ngali	3	08°40.851'	017°07.420'	1280 m	sarh	Tchad	10/06/2013
139	ngali	2	08°40.856'	017°07.420'	1272 m	sarh	Tchad	10/06/2013
140	jatropha curcas	2	08°07.065'	017°30.338'	1321 m	sarh	Tchad	04/06/2013
141	ngali nda	2	08°17.075'	017°30.312'	1344 m	sarh	Tchad	04/06/2013
142	boundou	3	08°53.021'	017°26.102'	1208 m	sarh	Tchad	10/06/2013

Les échantillons du Congo

N° de l'échantillon	Variété	IGS	Coordonnées GPS			Site	Pays	Date de collecte
			Sud	Est	Altitude			
1	Boulabipaki	4	04°34.044'	014°40.457'	490 m	Odziba	Congo	18/06/2012
2	Moudouma	4	04°03.986'	013°10.162'	223,3 m	Odziba	Congo	14/01/2013
3	violet	4	04°28.589'	014°42.052'	466 m	Odziba	Congo	18/06/2012
4	Moumbochi	5	04°18.947'	013°69.66'	192,7 m	Odziba	Congo	21/01/2013
5	IITA/ 029	4	04°21.996'	013°62.837'	168,5 m	Odziba	Congo	16/01/2013
6	Ndombi	4	04°36.053'	014°40.369'	506 m	Odziba	Congo	19/06/2012
7	Ndombi	5	04°42.336'	014°39.065'	586 m	Odziba	Congo	19/06/2012
8	Moudouma	3	04°05.068'	012°38.284'	312,8 m	Odziba	Congo	11/01/2013
9	Moukoulampimpa	4	04°24.592'	014°45.071'	509 m	Odziba	Congo	18/06/2012
10	Bayenda	5	04°42.336'	014°39.065'	586 m	Odziba	Congo	19/06/2012
11	Mahala	5	04°46.282'	014°37.171'	586 m	Odziba	Congo	19/06/2012
12	Inconnue	4	04°05.083'	015°21.524'	500 m	Odziba	Congo	08/06/2012
13	Ngapi	4	03°55.378'	015°26.238'	705 m	Odziba	Congo	07/06/2012
14	Dimbouana	4	03°98.078'	012°61.000'	213,6 m	Odziba	Congo	11/01/2013
15	IITA 0162	4	04°21.996'	013°62.837'	168,5 m	Odziba	Congo	16/01/2013
16	0325 IITA,	2	04°00.048'	013°91.127'	517,3 m	Odziba	Congo	18/01/2012
17	Kissindi	5	04°22.177'	013°62.913'	161,7 m	Odziba	Congo	16/01/2013
18	IITA /029	3	04°18.947'	013°69.66'	192,7 m	Odziba	Congo	21/01/2013
19	Ngapi	4	03°25.27'	015°39.588'	653 m	Odziba	Congo	02/06/2012
20	Ngapi	4	03°32.37'	015°34.162'	675 m	Odziba	Congo	04/06/2012
21	Ngapi	4	03°36.408'	015°33.134'	649 m	Odziba	Congo	04/06/2012
22	Ngatsa	5	03°36.408'	015°33.134'	649 m	Odziba	Congo	04/06/2012
23	Ngapi	5	03°31.424'	015°26.172'	672 m	Odziba	Congo	04/06/2012
24	Ngatsa	5	03°31.424'	015°26.172'	672 m	Odziba	Congo	04/06/2012
25	Ngapi	5	03°29.511'	015°35.116'	613 m	Odziba	Congo	04/06/2012
26	TME60444 (IITA)	2	02°29.130'	015°45.554'	635 m	Ngo	Congo	05/06/2012
27	Boundji (6 mois)	3	02°29.130'	015°45.554'	635 m	Ngo	Congo	05/06/2012
28	Ipi	3	02°28.024'	015°45.112'	628 m	Ngo	Congo	05/06/2012
29	Gangara	3	02°35.030'	015°39.191'	650 m	Ngo	Congo	05/06/2012
30	Ngatsa	4	02°42.164'	015°32.539'	662 m	Ngo	Congo	05/06/2012
31	Ntsilou	3	02°42.164'	015°32.539'	662 m	Ngo	Congo	05/06/2012
32	Ngatsa	5	02°50.436'	015°32.571'	664 m	Ngo	Congo	05/06/2012
33	inc.	3	02°28.024'	015°45.112'	628 m	Ngo	Congo	05/06/2012
34	inc.	3	02°35.030'	015°39.191'	650 m	Ngo	Congo	05/06/2012
35	IITA 029	3	03°80.905'	012°53.246'	184,9 m	Odziba	Congo	11/01/2012
36	Moudouma	4	04°28.933'	012°76.957'	388,4 m	Odziba	Congo	11/01/2013
37	variété SC8 chinois.	4	04°20.143'	015°10.249'	301 m	Odziba	Congo	22/06/2012

38	Ntouloubandoumba	4	04°22.113'	015°07.588'	341 m	Odziba	Congo	22/06/2012
39	Ntantari	4	04°16.222'	014°43.105'	448 m	Odziba	Congo	19/06/2012
40	Ngatsa	4	03°42.119'	015°34.572'	680 m	Odziba	Congo	07/06/2012
41	Ngatsa	4	03°26.471'	015°39.329'	680 m	Odziba	Congo	06/06/2012
42	Ngatsa	5	03°05.440'	015°37.304'	685 m	Odziba	Congo	05/06/2012
43	variété SC5 chinoi.	5	04°20.143'	015°10.249'	301 m	Odziba	Congo	22/06/2012
44	Ntouloubandoumba	4	04°26.226'	015°05.579'	350 m	Odziba	Congo	22/06/2012
45	Ngatsa	4	03°20.315'	015°31.197'	699 m	Odziba	Congo	06/06/2012
46	Ngatsa	4	03°20.255'	015°33.589'	685 m	Odziba	Congo	06/06/2012
47	Ngapi (violet)	2	03°42.119'	015°34.572'	680 m	Odziba	Congo	07/06/2012
48	Ngapi (violet)	5	03°42.119'	015°34.572'	680 m	Odziba	Congo	07/06/2012
49	variété SC9 chinoi.	5	04°20.143'	015°10.249'	301 m	Odziba	Congo	22/06/2012
50	Mahabama	4	04°14.293'	013°15.648'	174,6 m	Odziba	Congo	17/01/2012
51	Ngapi	2	03°50.130'	015°26.508'	707 m	Odziba	Congo	07/06/2012
52	Ngatsa	4	03°42.263'	015°30.101'	687 m	Odziba	Congo	07/06/2012
53	Ngatsa	4	03°58.240'	015°23.247'	720 m	Odziba	Congo	08/06/2012
54	Ngatsa	4	03°55.378'	015°26.238'	705 m	Odziba	Congo	07/06/2012
55	Ngapi	4	03°51.299'	015°24.290'	708 m	Odziba	Congo	07/06/2012
56	Ntsi'sachet	5	03°95.080'	013°81.142'	479,9 m	Odziba	Congo	18/01/2013
57	Mahabama	4	04°11.395'	013°91.567'	267 m	Odziba	Congo	18/01/2013
58	Jamais deçu	4	04°26.202'	013°84.536'	198,5 m	Odziba	Congo	21/01/2013
59	Caoutchouc	3	04°14.559'	015°14.469'	321 m	Odziba	Congo	22/06/2012
60	Imvoutoulou	5	03°80.483'	013°32.351'	350,6 m	Odziba	Congo	14/01/2013
61	Moudouma	4	03°63.985'	013°36.467'	448,4 m	Odziba	Congo	14/01/2013
62	Mouritanie	4	03°94.268'	012°80.695'	141,6 m	Odziba	Congo	15/01/2013
63	Mahabama	4	04°13.771'	013°08.859'	160,5 m	Odziba	Congo	15/01/2013
64	Mbeté	4	04°16.769'	013°37.147'	201,9 m	Odziba	Congo	16/01/2013
65	Moudouma	4	04°16.237'	013°24.475'	166,9 m	Odziba	Congo	17/01/2013
66	Makinimangueté	4	04°28.297'	012°71.126'	360,1 m	Odziba	Congo	12/01/2013
67	Moudouma	3	03°96.932'	013°15.132'	352,8 m	Odziba	Congo	14/01/2013
68	Ngapi	3	03°27.200'	015°39.150'	590 m	Odziba	Congo	02/06/2012
69	Ngapi	2	03°27.200'	015°39.150'	590 m	Odziba	Congo	02/06/2012
70	inc.	4	03°94.889'	013°82.224'	481,9 m	Odziba	Congo	18/01/2013
71	Moupel ya bengué	4	03°88.099'	013°88.916'	495 m	Odziba	Congo	18/01/2013
72	Madama	4	04°17.066'	013°61.207'	168 m	Odziba	Congo	21/01/2013
73	Ngatsa	2	03°50.130'	015°26.508'	707 m	Odziba	Congo	07/06/2012
74	Mouhozi	4	04°16.719'	013°48.981'	184,8 m	Odziba	Congo	16/01/2013
75	Ndombi	4	04°18.384'	014°40.162'	465 m	Odziba	Congo	21/01/2013
76	Dimbouana	4	04°07.501'	012°88.879'	177 m	Odziba	Congo	18/01/2013
77	Ndombi	4	04°20.096'	014°43.558'	454 m	Odziba	Congo	18/01/2013
78	Ngapi	4	03°50.130'	015°26.508'	707 m	Odziba	Congo	07/06/2012
79	IITA inconnu	3	03°80.905'	012°53.246'	184,9 m	Odziba	Congo	11/06/2012

80	Moudouma	4	03°87.509'	013°20.866'	292,1 m	Odziba	Congo	14/01/2012
81	Moudouma	4	03°98.078'	012°61.000'	213,6 m	Odziba	Congo	11/01/2012
82	Mahabama	4	04°07.280'	012°97.021'	130 m	Odziba	Congo	15/01/2012
83	IITA 0162	3	04°26.750'	012°72.035'	346,8 m	Odziba	Congo	12/01/2012

Les échantillons du Cameroun

			Coordonnées GPS					
N° de l'échantillon	Variété	IGS	Nord	Est	Altitude	Site	Pays	Date de collecte
1	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	12/12/2012
2	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	15/12/2012
3	Agric	2	04°35.871'	009°29.824'	188 m	Matomb	Cameroun	24/09/2012
4	8034	3	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	06/03/2013
5	Local red	3	04°04.814'	009°00.733'	32 m	Matomb	Cameroun	inc,
6	Agric	2	04°36.902'	009°02.665'	60 m	Matomb	Cameroun	25/09/2012
7	Pétrole rouge	3	04°43.924'	009°40.759'	473 m	Matomb	Cameroun	27/09/2012
8	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	14/12/2012
9	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	14/12/2012
10	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	14/12/2012
11	Pétiole blanc	2	04°10.294'	009°28.133'		Matomb	Cameroun	21/09/2012
12	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	15/12/2012
13	Local white	3	04°04.830'	009°12.138'	459 m	Matomb	Cameroun	20/09/2012
14	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	15/12/2012
15	8061	3	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	06/03/2013
16	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	15/12/2012
17	20126	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	06/03/2013
18	960023	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	06/03/2013
19	NA	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	15/12/2012
20	Pétrole rouge	3	04°33.056'	009°13.379'	83 m	Matomb	Cameroun	26/09/2012
21	920326	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	06/03/2013
22	Pétrole rouge	3	04°39.439'	009°29.093'	83 m	Matomb	Cameroun	26/09/2012
23	Otoko	3	04°36.902'	009°02.665'	60 m	Matomb	Cameroun	25/09/2012
24	Agric	2	04°04.814'	009°00.733'	32 m	Matomb	Cameroun	20/09/2012
25	locao red	3	04°04.830'	009°12.138'	459 m	Matomb	Cameroun	20/09/2012
26	Pétiole blanc	2	04°21.252'	009°25.994'	22 m	Matomb	Cameroun	22/09/2012
27	920057	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	06/03/2013
28	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	14/12/2012
29	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	15/12/2015
30	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	14/12/2012
31	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	14/12/2012

32	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	14/12/2012
33	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	15/12/2015
34	Excel	4	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	06/03/2013
35	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	12/12/2012
36	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	13/12/2012
37	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	15/12/2015
38	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	13/12/2012
39	Pétrole rouge	3	04°44.088'	009°34.467'	131 m	Matomb	Cameroun	27/09/2012
40	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	15/12/2015
41	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	12/12/2012
42	Pétiole rouge	3	04°21.252'	009°25.994'	22 m	Matomb	Cameroun	22/09/2012
43	inc.	3	04°08.085'	009°25.992'	22 m	Matomb	Cameroun	21/09/2012
44	Agric	2	04°33.056'	009°13.379'	83 m	Matomb	Cameroun	26/09/2012
45	Local white	3	04°01.146'	009°06.226'	55 m	Matomb	Cameroun	20/09/2012
46	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	13/12/2012
47	Pétiole rouge	2	04°08.085'	009°25.992'	22 m	Matomb	Cameroun	21/09/2012
48	Pétrole rouge	3	04°35.871'	009°29.824'	188 m	Matomb	Cameroun	24/09/2012
49	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	12/12/2012
50	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	14/12/2012
51	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	14/12/2012
52	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	12/12/2012
53	Agric	3	04°01.146'	009°06.226'	55 m	Matomb	Cameroun	20/09/2012
54	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	14/12/2012
55	inc.	2	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	13/12/2012
56	Pétiole rouge	3	04°04.190'	011°33.1904'	615 m	Matomb	Cameroun	17/05/2013
57	Pétiole rouge	3	04°04.190'	011°33.1904'	615 m	Matomb	Cameroun	17/05/2013
58	Pétiole rouge	3	03°49.093'	011°02.987'	583 m	Matomb	Cameroun	18/05/2013
59	Excel	3	04°12.504'	009°19.383'	443 m	Matomb	Cameroun	20/05/2013
60	Pétiole rouge	3	03°56.501'	011°18.684'	562 m	Matomb	Cameroun	16/05/2013
61	Pétiole rouge	3	04°11.976'	011°23.280'	528 m	Matomb	Cameroun	17/05/2013
62	Pétiole vert	3	03°47.559'	011°23.234'	717 m	Matomb	Cameroun	18/05/2013
63	Pétiole rouge	3	03°47.559'	011°23.234'	717 m	Matomb	Cameroun	18/05/2013
64	Pétiole vert	3	04°04.190'	011°33.1904'	615 m	Matomb	Cameroun	17/05/2013
65	Pétiole vert	2	03°50.833'	010°03.769'	153 m	Matomb	Cameroun	18/05/2013
66	Pétiole vert	3	04°06.270'	011°15.014'	547 m	Matomb	Cameroun	15/05/2013
67	Moan morm	3	04°22.937'	011°26.131'	552 m	Matomb	Cameroun	17/05/2013
68	Local amer	2	04°22.937'	011°26.131'	552 m	Matomb	Cameroun	17/05/2013
69	Pétiole rouge	3	04°16.725'	011°13.637'	408 m	Matomb	Cameroun	15/05/2013
70	Pétiole violet	3	04°10.825'	011°33.371'	541 m	Matomb	Cameroun	16/05/2013
71	Pétiole vert	3	04°02.400'	011°21.292'	591 m	Matomb	Cameroun	15/05/2013
72	Pétiole rouge	2	03°50.833'	010°03.769'	153 m	Matomb	Cameroun	18/05/2013
73	Pétiole rouge	3	04°06.270'	011°15.014'	547 m	Matomb	Cameroun	15/05/2013

74	Pétiole vert	3	04°21.145'	011°16.129'	401 m	Matomb	Cameroun	17/05/2013
75	Pétiole vert	2	04°19.757'	011°40.554'	464 m	Matomb	Cameroun	16/05/2013
76	Pétiole vert	3	04°07.387'	009°30.174'	13 m	Matomb	Cameroun	18/05/2013
77	Pétiole vert	3	04°16.725'	011°13.637'	408 m	Matomb	Cameroun	15/05/2013
78	Pétiole rouge	2	03°49.093'	011°02.987'	583 m	Matomb	Cameroun	18/05/2013
79	Pétiole rouge	3	04°07.387'	009°30.174'	13 m	Matomb	Cameroun	18/05/2013
80	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	Matomb	Cameroun	15/12/2012
81	Petiole rouge	3	03°01.225'	000°57.505'	24 m	Matomb	Cameroun	03/09/2013
82	Petiole rouge	3	03°24.744'	010°07.388'	57 m	Matomb	Cameroun	03/09/2013
83	Petiole rouge	3	02°41.090'	000°51.000'	29 m	Matomb	Cameroun	03/09/2013
84	Petiole rouge	3	02°41.090'	000°51.000'	29 m	Matomb	Cameroun	03/09/2013
85	Petiole rouge	4	02°47.904'	010°51.440'	679 m	Matomb	Cameroun	04/09/2013
86	Ngonemekem	3	02°30.994'	011°04.105'	597 m	Matomb	Cameroun	05/09/2013
87	Petiole vert	3	02°49.103'	011°00.104'	589 m	Matomb	Cameroun	05/09/2013
88	Petiole rouge	3	03°12.579'	011°24.150'	658 m	Matomb	Cameroun	05/09/2013
89	inc.	3	02°19.874'	011°24.027'	574 m	Matomb	Cameroun	05/09/2013
90	Petiole rouge	3	02°49.103'	011°00.104'	589 m	Matomb	Cameroun	05/09/2013
91	Petiole vert	3	03°35.766'	011°01.000'	724 m	Matomb	Cameroun	06/09/2013
92	Petiole vert	4	02°47.004'	010°20.700'	248 m	Matomb	Cameroun	04/09/2013

Les échantillons du Gabon

N° de l'échantillon	Nom des variétés	IGS	Coordonnées GPS			Site	Pays	Date de collecte
			Nord	Est	Altitude			
1	kunda	3	01°36.056'	013°15.090'	456 m	Motobo	Gabon	21/03/2014
2	moukanga blanc	3	01°20.474'	013°31.830'	320 m	Motobo	Gabon	20/03/2014
3	inc.	3	01°40.309'	013°21.003'	442 m	Motobo	Gabon	inc
4	inc.	3	inc.	inc.	inc.	Motobo	Gabon	inc
5	inc.	3	01°49.217'	013°35.914'	461 m	Motobo	Gabon	14/03/2014
6	inc.	3	01°30.886'	013°32.662'	339 m	Motobo	Gabon	inc
7	inc.	3	01°49.217'	013°35.914'	461 m	Motobo	Gabon	inc
8	six mois	3	01°36.095'	013°09.607'	485 m	Motobo	Gabon	21/03/2014
9	lekaga	3	01°15.942'	013°31.936'	438m	Motobo	Gabon	20/03/2014
10	Moupel	2	inc.	inc.	451 m	Motobo	Gabon	inc
11	oyourakonda	3	01°34.761'	013°09.948'	419 m	Motobo	Gabon	21/03/2014
12	moussala	2	01°50.329'	013°36.112'	458 m	Motobo	Gabon	14/03/2014
13	inc.	4	01°39.211'	013°33.260'	385 m	Motobo	Gabon	24/03/2014
14	moukanga blanc	2	02°00.449'	013°36.693'	477 m	Motobo	Gabon	inc
15	inc.	3	01°44.677'	013°44.916'	419 m	Motobo	Gabon	25/03/2014
16	inc.	4	01°43.971'	013°43.381'	418 m	Motobo	Gabon	25/03/2014
17	inc.	4	01°38.800'	013°33.390'	371 m	Motobo	Gabon	24/03/2014
18	inc.	4	01°38.800'	013°33.390'	371 m	Motobo	Gabon	22/03/2014
19	ngouazi	3	01°34.761'	013°09.948'	419 m	Motobo	Gabon	21/03/2014
20	mouanganga	3	01°50.329'	013°36.112'	458 m	Motobo	Gabon	14/03/2014
21	moukanga blanc	3	01°20.474'	013°31.830'	320 m	Motobo	Gabon	20/03/2014
22	inc.	2	01°40.309'	013°21.003'	442 m	Motobo	Gabon	inc
23	moukanga vert	3	01°44.307'	013°37.845'	412 m	Motobo	Gabon	inc
24	moukanga blanc	3	01°49.207'	013°35.919'	451 m	Motobo	Gabon	inc
25	ofoufou	4	inc.	inc.	inc.	Motobo	Gabon	inc
26	inc.	3	01°37.785'	013°32.434'	306 m	Motobo	Gabon	22/03/2014
27	inc.	3	inc.	inc.	inc.	Motobo	Gabon	inc
28	sanza motoba	4	01°15.942'	013°31.936'	438 m	Motobo	Gabon	20/03/2014
29	okanga	3	01°33.572'	013°34.530'	391 m	Motobo	Gabon	11/10/14
30	moment	3	01°25.243'	013°32.293'	324 m	Motobo	Gabon	18/03/2014
31	inc.	4	01°41.657'	013°40.642'	434 m	Motobo	Gabon	25/03/2014
32	violet	3	01°36.095'	013°09.607'	485 m	Motobo	Gabon	21/03/2014
33	inc.	4	01°38.800'	013°33.390'	371 m	Motobo	Gabon	24/03/2014
34	inc.	4	01°38.800'	013°33.390'	371 m	Motobo	Gabon	22/03/2014
35	ngouazi	3	01°34.761'	013°09.948'	419 m	Motobo	Gabon	21/03/2014
36	mouanganga	3	01°50.329'	013°36.112'	458 m	Motobo	Gabon	14/03/2014

Les échantillons de la Guinée Equatoriale

			Coordonnées GPS					
N° de l'échantillon	Nom des variétés	IGS	Nord	Est	Altitude	Site	Pays	Date de collecte
1	inc.	3	03°37.970'	08°53.375'	317 m	Bioko	Guinée E.	15/12/2013
2	inc.	inc.	03°44.980'	08°49.448'	65 m	Bioko	Guinée E.	15/12/2013
3	inc.	3	03°44.980'	08°49.448'	65 m	Bioko	Guinée E.	15/12/2013
4	inc.	inc.	03°35.954'	08°36.970'	54 m	Bioko	Guinée E.	15/12/2013
5	inc.	5	03°41.101'	08°39.335'	103 m	Bioko	Guinée E.	15/12/2013
6	inc.	inc.	03°27.657'	08°865.00'	100 m	Bioko	Guinée E.	15/12/2013
7	inc.	3	01°16.725'	11°16.145'	683 m	Evinayong	Guinée E.	18/12/2013
8	inc.	2	01°18.378'	11°16.145'	667 m	Evinayong	Guinée E.	18/12/2013
9	inc.	3	01°05.562'	10°36.567'	667 m	Evinayong	Guinée E.	18/12/2013
10	inc.	3	01°34.947'	09°37.268'	13 m	Evinayong	Guinée E.	18/12/2013
11	inc.	3	01°26.424'	10°32.479'	685 m	Evinayong	Guinée E.	17/12/2013
12	inc.	3	01°25.059'	10°26.947'	636 m	Evinayong	Guinée E.	17/12/2013
13	inc.	4	01°37.340'	10°19.336'	606 m	Evinayong	Guinée E.	17/12/2013
14	inc.	4	02°05.650'	11°18.876'	598 m	Evinayong	Guinée E.	17/12/2013
15	inc.	inc.	01°51.082'	10°03.287'	203 m	Evinayong	Guinée E.	17/12/2013
16	inc.	3	01°52.609'	09°57.870'	162 m	Evinayong	Guinée E.	16/12/2013
17	inc.	4	01°93.433'	10°00.134'	696 m	Evinayong	Guinée E.	19/12/2013
18	inc.	4	01°18.569'	10°57.957'	682 m	Evinayong	Guinée E.	19/12/2013
19	inc.	inc.	01°93.433'	10°00.134'	696 m	Evinayong	Guinée E.	19/12/2013
20	inc.	inc.	01°04.805'	10°45.423'	673 m	Evinayong	Guinée E.	19/12/2013
21	inc.	3	01°02.283'	10°39.076'	650 m	Evinayong	Guinée E.	19/12/2013
22	inc.	4	01°05.562'	10°36.567'	656 m	Evinayong	Guinée E.	19/12/2013
23	inc.	3	01°09.377'	10°33.894'	631 m	Evinayong	Guinée E.	19/12/2013
24	inc.	4	01°16.719'	11°16.150'	683 m	Evinayong	Guinée E.	19/12/2013
25	inc.	4	01°50.212'	10°52.079'	531 m	Evinayong	Guinée E.	19/12/2013
26	inc.	3	01°34.445'	10°49.150'	inc.	Evinayong	Guinée E.	02/04/2014
27	inc.	4	01°50.333'	10°14.386'	inc.	Evinayong	Guinée E.	31/03/2014
28	inc.	3	01°25.409'	10°34.548'	inc.	Evinayong	Guinée E.	01/04/2014
29	inc.	4	01°05.562'	10°36.567'	656 m	Evinayong	Guinée E.	02/04/2014
30	inc.	3	01°09.377'	10°33.894'	631 m	Evinayong	Guinée E.	02/04/2014

Annexe 3 : Exemple de fiche de collecte des données sur la parcelle de CEP de Pissa (Centrafrique)

V1= Rendre ; V2=Gabon ; V3=Togo blanc

N°	cultivar	incidence	IGS	DMB	hauteur(m)	circonf.(cm)	nbre de tub.	poids de tub.(kg)
1	V2-1	0	0	0	1,5	5	3	5,6
2	V2-2	0	0	2	1,86	7	5	6
3	V2-3	0	0	0	2,01	10	8	4,3
4	V2-4	0	0	0	0	0	0	0
5	V2-5	0	0	1	1,83	8	9	5,5
6	V2-6	0	0	1	1,91	10	8	6,6
7	V2-7	1	1	1	1,95	9	7	5,8
8	V2-8	0	0	0	1,56	6	5	4,5
9	V2-9	0	0	3	1,45	5	3	4,4
10	V2-10	0	0	0	0	0	0	0
11	V2-11	0	0	0	1,36	5	1	1
12	V2-12	0	0	0	2,05	11	9	5,8
13	V2-13	0	0	1	1,76	9	7	4,2
14	V2-14	0	0	1	2,08	10	6	5
15	V2-15	0	0	0	2,15	10	7	4,6
16	V2-16	0	0	2	1,75	9	7	4,8
17	V2-17	0	0	0	0	0	0	0
18	V2-18	0	0	3	1,8	8	8	5,5
19	V2-19	0	0	0	1,45	7	5	2,9
20	V2-20	0	0	0	1,56	7	6	2,7
21	V2-21	0	0	0	1,43	8	3	2,5
22	V2-22	0	0	4	1,69	7	5	2,4
23	V2-23	0	0	0	1,77	9	7	3,5
24	V2-24	0	0	0	2,2	9	9	5,1
25	V2-25	0	0	0	1,81	8	8	4,9
26	V2-26	0	0	0	0	0	0	0
27	V2-27	0	0	0	2,3	9	10	4,8
28	V2-28	0	0	0	1,98	9	8	5,2
29	V2-29	0	0	0	1,59	7	7	2,9
30	V2-30	0	0	0	1,69	7	5	3,1
31	V2-31	0	0	0	1,49	7	3	2,8
32	V2-32	0	0	0	1,9	9	9	4,7
33	V2-33	1	2	0	1,6	8	5	3,2
34	V2-34	0	0	0	2,05	9	10	5,5
35	V2-35	0	0	3	2,4	9	11	5,8
36	V2-36	0	0	0	2,15	9	6	4,8
37	V2-37	0	0	0	1,98	9	9	4,3
38	V2-38	0	0	1	1,88	8	8	4,6

Annexe 4

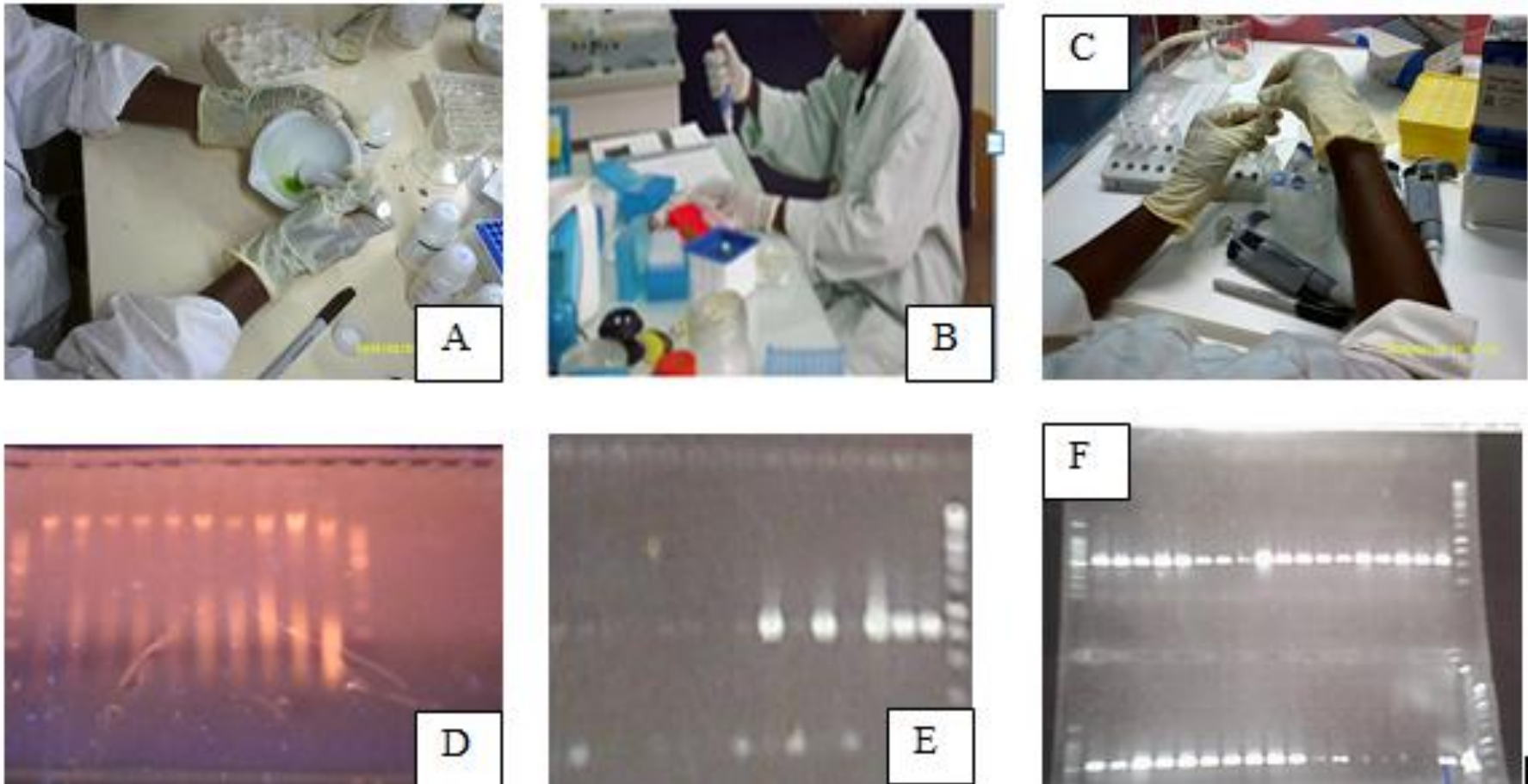


Figure 1 : Caractérisation des begomovirus dans les pays de la CEMAC

A et B : extraction d'ADN au LASBAD et AU CIRAD ; C : préparation de mix PCR ; D : gel révélant la présence d'ADN total dans les extraits au LASBAD ; E et F : gel présentant les échantillons positifs aux begomovirus

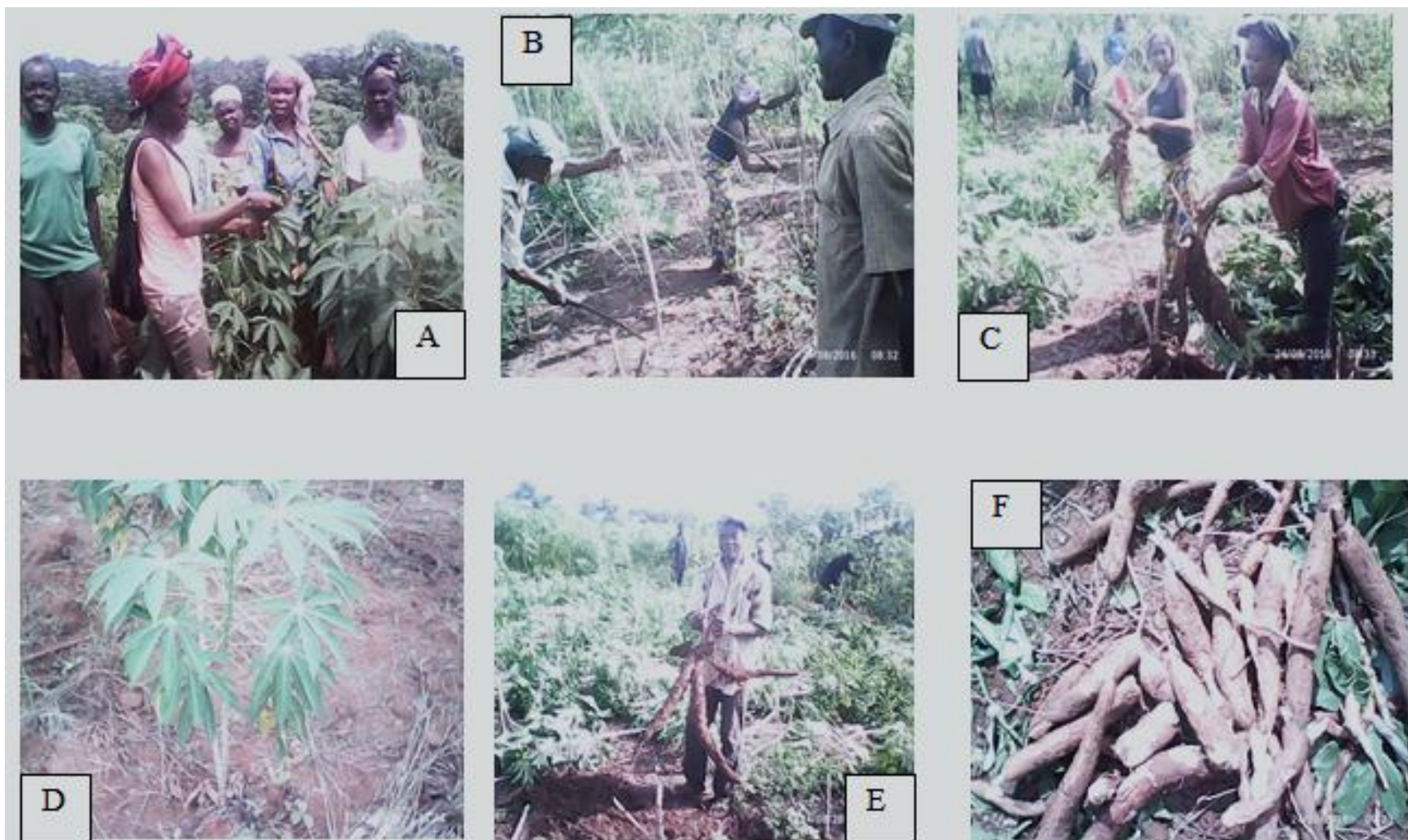


Figure 2 : Champ école paysan

A : Apprentissage sur les symptômes de la mosaïque et le comptage des mouches blanches ; B, C, E, F : récolte ; D : plant de la variété Togo blanc.

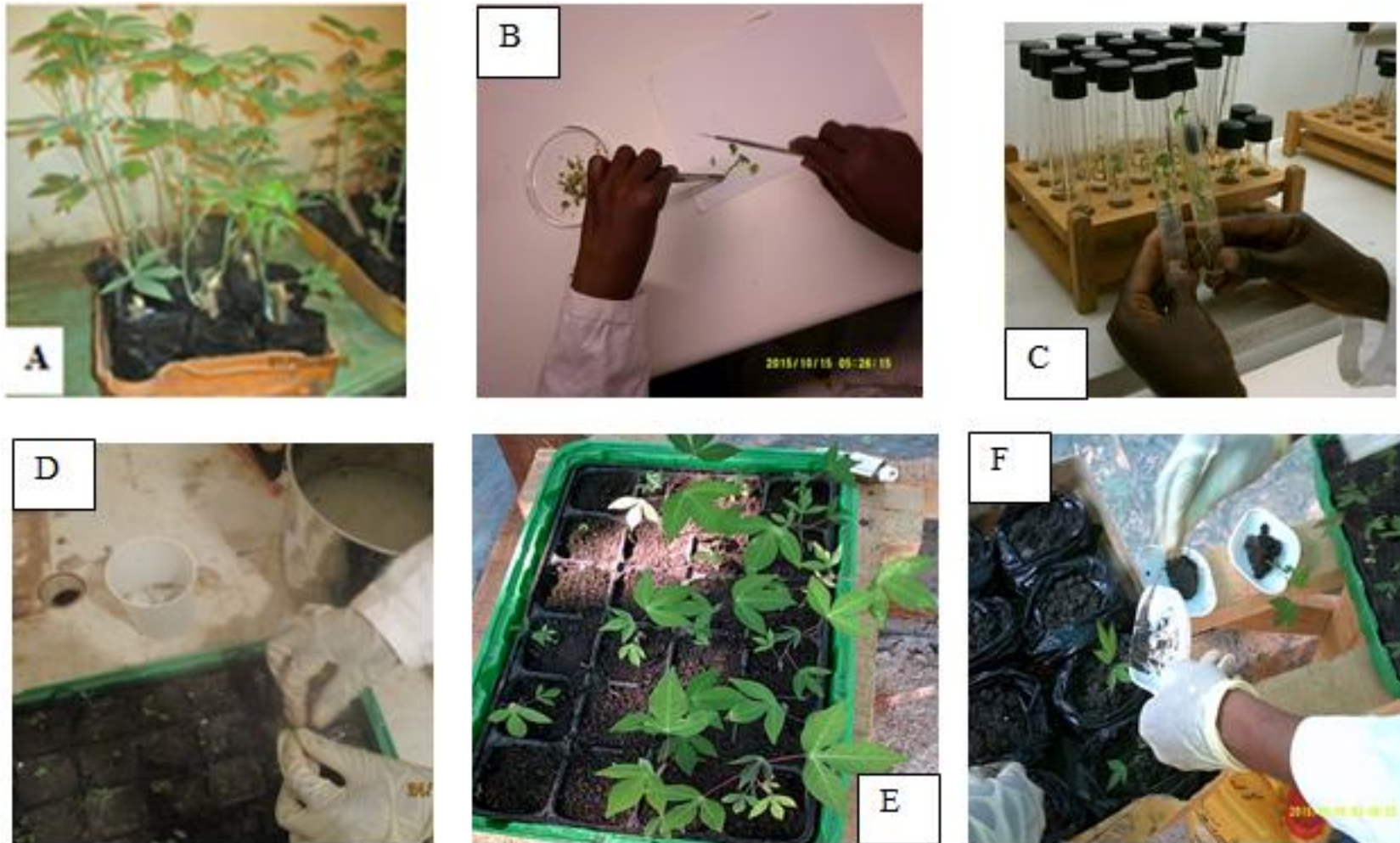


Figure 3 : culture in vitro et sevrage des vitroplants

A : traitement des boutures de manioc par la thermothérapie ; B : multiplication des vitroplants, C : choix des vitroplants pour le sevrage, D et E : étapes du sevrage ; F : durcissement des microplants.

ARTICLES



First report of cassava mosaic geminiviruses and the Uganda strain of *East African cassava mosaic virus* (EACMV-UG) associated with cassava mosaic disease in Equatorial Guinea

A. Valam-Zango^{1,2}, I. Zinga¹, M. Hoareau³, B.K. Tocko-Marabena¹, A.C. Mvila⁴, S. Semballa¹ and J.M. Lett^{3*}

¹ LASBAD, Université de Bangui, BP908 Bangui, Central African Republic; ² Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo; ³ CIRAD, UMR PVBMT, Pôle de Protection des Plantes, 97410 Saint Pierre, La Réunion, France; ⁴ Institut National de Recherche Agronomique, BP2499, Brazzaville, Congo

*E-mail: lett@cirad.fr

Received: 29 Sep 2015. Published: 12 Dec 2015. Keywords: ACMV, EACMV, EACMCV, *Manihot esculenta*

Cassava mosaic disease (CMD) is one of the main production constraints for cassava (*Manihot esculenta*) in Africa (Patil & Fauquet, 2009). The disease is caused by seven cassava mosaic geminiviruses (CMGs, genus *Begomovirus*). A severe CMD pandemic, caused by the synergistic interaction between *African cassava mosaic virus* (ACMV) and the Uganda strain of *East African cassava mosaic virus* (EACMV-UG), emerged in the 1990's in East Africa and subsequently progressed into neighbouring countries and into Central Africa. EACMV-UG has recently been reported in several Central African countries bordering Equatorial Guinea: Cameroon (Akinbade *et al.*, 2010), the Central African Republic and Chad (Zinga *et al.*, 2012), the Congo Republic and the Democratic Republic of Congo (Neuenschwander *et al.*, 2002) and Gabon (Legg *et al.*, 2004). Although CMD has been reported in Equatorial Guinea, the causal agents have never been identified.

In December 2013, 30 leaves from local cultivars of cassava exhibiting moderate to very severe CMD symptoms were collected at nine different locations in Equatorial Guinea (Table 1). Sixteen leaf samples tested positive by PCR for the presence of CMGs using degenerate and specific primers (Harimalala *et al.*, 2015). Each detection of the virus was confirmed by direct sequencing of the amplification products. Amplification revealed the occurrence of ACMV (30% of the samples), EACMV (27%) and *East African cassava mosaic Cameroon virus* (EACMCV; 13%) in single (ACMV, 27%; EACMV, 10%) and mixed infections (ACMV-EACMV, 3%; EACMV-EACMCV, 13%).

Based on a sample which tested positive by PCR for the presence of EACMV (GQ006), the possible occurrence of EACMV-UG in Equatorial Guinea was investigated. Complete DNA-A and -B molecules were cloned and sequenced using the Phi29 DNA polymerase-based rolling circle amplification strategy. BLASTn analysis showed that the DNA-A sequence (GenBank Accession No. KT780440) shared the highest nucleotide sequence identity (99%) with Central, East and West African isolates of EACMV-UG ([CG:12] JX910240; [UG:Nak] AJ618957; [BF:FaK:08] FM877474). The DNA-B sequence (KT780439) shared the highest nucleotide sequence identity (98%) with Central and East African isolates of EACMV-UG ([CF:CF44B:07] KM885991; [KE:K90:02] AJ704962).

To our knowledge, this is the first report of the occurrence of ACMV, EACMCV and EACMV-UG associated with CMD in Equatorial Guinea. This study confirms the westward spread of the Uganda strain of EACMV.

These results need to be considered during the regional management of cassava diseases and by regulatory phytosanitary bodies.

Acknowledgements

This study was supported by the MAE (PARRAF programme, AIRD), PRASAC-CEMAC (Cassava project-EU), European Union (FEDER) and the *Région Réunion*. A. Valam-Zango is a recipient of PhD fellowships from the ProVeg network and PRASAC-CEMAC.

References

- Akinbade SA, Hanna R, Nguenkam A, Njukwe E, Fotso A, Doumtso A, Ngeve J, Tenku STN, Lava Kumar P, 2010. First report of the *East African cassava mosaic virus*-Uganda (EACMV-UG) infecting cassava (*Manihot esculenta*) in Cameroon. *New Disease Reports* **21**, 22. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2010.021.022>
- Harimalala M, Chiroleu F, Giraud-Carrier C, Hoareau M, Zinga I, Andriamampianina JA, Velombola JA, Ranomenjanahary S, Andrianjaka A, Reynaud B, Lefeuvre P, Lett JM, 2015. Molecular epidemiology of cassava mosaic disease in Madagascar. *Plant Pathology* **64**, 501-507. <http://dx.doi.org/10.1111/ppa.12277>
- Legg JP, Ndjelassili F, Okao-Okuja G, 2004. First report of cassava mosaic disease and cassava mosaic geminiviruses in Gabon. *Plant Pathology* **53**, 232. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0032-0862.2004.00972.x>
- Neuenschwander P, Hughes Jd'A, Ogbe F, Ngatse JM, Legg JP, 2002. Occurrence of the Uganda variant of *East African cassava mosaic virus* (EACMV-Ug) in western Democratic Republic of Congo and the Congo Republic defines the westernmost extent of the CMD pandemic in East/Central Africa. *Plant Pathology* **51**, 385. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3059.2002.00698.x>

Comparative study between traditional cultural practices and conventional cultivation practices of cassava in a Farmer Field School in Pissa, Central African Republic

Adonise F. Valam Zango ¹, Innocent Zinga ^{2*}, Ephrem Kosh Komba ², Igor Gorgon Toukia ³, Regis Dimitri Longue Soukpe ², Christian Armand Simplicite Ballot ², Prosper Yandia ², Semballa Silla ², Joseph Mabanza ⁴

¹ *Laboratory of Biological and Agronomic Sciences for Development (LBASD), University of Bangui, Bangui, Central African Republic*

² *Laboratory of Biological and Agronomic Sciences for Development (LBASD), University of Bangui, Bangui, Central African Republic*

³ *Higher Institute of Rural Development (ISDR), University of Bangui, Central African Republic*

⁴ *Faculty of Science and Technology, Marien Ngouabi University of Brazzaville, Congo*

Abstract

The objective of our study is to make a comparative evaluation in a Farmer Field School (FFS) approach between farmers farming practices and conventional practices in order to have convincing arguments to sensitize producers on best cultural practices. Three adapted varieties of cassava (Rendre, Togo blanc and Gabon) were experimented by both practices. The study revealed that the plot of conventional techniques of all the varieties combined yielded an average of 46.9 t / ha of fresh tuber against 23.15 t / ha for traditional cultivation techniques with a very significant difference. In tuber number 5.7 for first plot and 4.4 for second plot with a significant difference. These results show that the Rendre variety is very sensitive to mosaic (80% incidence) and is rather a tolerant variety, because its yield potential is 50t / ha in the case of conventional cultivation practices. The study revealed that the Togo Blanc variety developed a 100% resistance on both plots and showed a high yield of 50t / ha on the conventional plot.

Keywords: Farmer Field School; Cultural Practices; Cassava Mosaic; Resistant Variety; Fresh Tuber Yield

* Corresponding author. *E-mail address:* zinga.innocent37@gmail.com



Cite this article as: Zango, A.F.V., Zinga, I., Komba, E.K., Toukia, I.G., Soukpe, R.D.L., Ballot, C.A.S., Yandia, P., Silla, S. and Mabanza, J. (2018), "Comparative study between traditional cultural practices and conventional cultivation practices of cassava in a Farmer Field School in Pissa, Central African Republic", *International Journal of Development and Sustainability*, Vol. 7 No. 3, pp. 1062-1071.

1. Introduction

Cassava (*Manihot esculenta*) is an economically important food crop that feeds nearly 700 million people, particularly in sub-Saharan Africa and Asian countries (Stone, 2002). It produces good yields even on soils that are low in nutrients and in drought conditions. It is a perennial plant that can be harvested at any times, it is often grown in developing countries as a plant reserve (El-Sharkawy et al., 2004). Cassava is grown on a total global area of 18.6 million hectares with a total production of 270 million tons worldwide, half of which is provided by the African continent (FAOSTAT, 2014). In the Central African Republic (CAR) cassava is the main food crop with a production of 700,000 tons of chips in front of yam at 450,000 tons and maize at 165,000 tons (FAOSTAT, 2013). It plays an important role in household food security, particularly in rural communities and is the staple food of more than 95% of Central Africans (Zinga et al., 2008).

Cassava is vulnerable to some 20 viral diseases, the most important of which are currently in Africa are cassava mosaic disease (CMD) and cassava brown streak disease (CBSD) (Legg et al., 2006; Patil and Fauquet, 2009). Cassava mosaic has been reported in several sub-Saharan African countries (Ndunguru et al., 2005, Ndunguru et al., 2006; Patil and Fauquet, 2009) where it causes serious performance problems (Legg and Ogwal, 1998).

Surveys carried out in the Central African Republic between 2005 and 2012 showed that cassava cultivation faces constraints mainly related to mosaic with an average incidence of 85% and that 79% of cuttings used for replanting by producers were contaminated by mosaic (Zinga et al., 2008; Zinga et al., 2013). The same surveys identified two species of Central African cassava begomovirus: ACMV and EACMV-UG (Zinga et al., 2013). Surveys carried out by a regional project gave the same trends (PRASAC 2015). Thus with the support of PARRAF project and PRASAC project a Farmer Field School was set up to strengthen the capacity of producers on cassava cultivation techniques and improve their knowledge on the impact of the disease on production. The objective of this approach is to help producers better manage the disease in order to capitalize production. Varieties used in this study were a susceptible variety (Render) and two resistant varieties (Gabon and White Togo) with mosaic. Two parcels of the same size were created in a Farmer's Field School approach. On the first plot the producers transplanted the three varieties with their cultivation techniques and on the second plot the researchers transplanted the same varieties with conventional cultivation techniques. Both plots we

followed for 12 months. Agronomic and phytosanitary parameters were evaluated and compared between the two plots.

2. Materials and method

2.1. Experimental conduct

The plant material uses for the study were: Gabon, Togo Blanc, resistant varieties and Rendre, susceptible variety. These varieties are collected on the Laboratory of biological and agronomic sciences for development (LaSBAD) Wood Park.

It is a structured group, made up of 22 active people including 12 women and 10 men.

The experiment was carried out in rural areas in Pissa village at 75 km on M'baïki road at 4 ° 27 "north latitude and 18 ° 87" east longitude and 380 m altitude.

The climate is of Guinean-forest type characterized by a rainy season of 8 months (from March to October) and a dry season which lasts 4 months (from November to March). The average annual rainfall varies between 1500 and 1600 mm. The relative humidity of the air is very high around 70%. The average monthly temperature varies between 24 ° C and 27 ° C.

The parcel plan consists of two small plots with a surface area of 38 m X 26 m (988 m²), which were put in place on August 15, 2015: one plot for farmers farming techniques (FFT) and another plot for conventional farming techniques (CFT). The plot of farmers was randomized with a random distribution; the distance between the cassava feet varying from 50 m to 80 cm, the length of the cuttings was not proportional varying from 20 cm to 35 cm. 816 cuttings at a rate of 272 per variety were planted on the plot of the producers.

The conventional plot consisted of 6 subplots of 100 m² each. The spacing between the elementary plots was 2 m, the distance between the cassava feet was 1 m, and the cuttings length was 25 cm. The six plots were distributed over an area of 988 m². The cutting was done online and in an inclined manner. 726 cuttings at a rate of 242 per variety were transplanted to the conventional plot.

Both plots were weeded 3 times before harvest. At harvest the following parameters were measured: incidence and severity of mosaic, height of stems, and number of tuber and yield of fresh tuber weight.

2.2. Molecular detection cassava begomovirus

For the 2 plots, 10 samples of cassava leaves of the asymptomatic white Togo cultivar were taken and brought to the Laboratory of Biological and Agronomic Sciences for Development for the detection by PCR of the viruses in order to check molecularly its phytosanitary state. Some mg of dehydrated cassava leaf samples were weighed, milled. DNA extraction was performed using the CATB kit (Cetyl trimethyl ammonium bromide) (Table1).

Table 1. Composition of the CATB kit

Reagents	Volume	Con. Final
1 M Tris HCl pH 8.0	100 ml	100mM
0,5 M EDTA	20 ml	10mM
Nacl	81,8 g	1.4 M
CATB*	20 g	2%
Eau distillée (H ₂ O)	QSP 1L	

Con. Final: concentration finale

The mixture was made with stirring to obtain the DNA extraction buffer. Detection of begomoviruses on leaf samples was performed using the PCR method using universal primers that recognize all species. These are the pair of primers VD1863 / TCRTCAATGACGTTGTACCA and C12D2391 / TTTCCAYCCVAACATTCARGG.

3. Data processing

The data was entered and coded on the Excel spreadsheet version 2010 and all the data were submitted to the ANOVA test (Anova Model.9) on the XLSTAT software and the histograms were constructed using the pivot table.

4. Results

4.1. Incidence of the disease

The average incidence of mosaic was 0%, 82% and 8% respectively on the Togo white, Rendre and Gabon varieties with a significant difference between the three varieties ($p < 2e-16$). (Figure 1).

4.2. Mosaic severity

The severity of the disease on the Rendre variety was 2 on the conventional plot and 2.3 on the plot of producers. On the Gabon variety it was 0.20 on the conventional plot and 0.23 on the plot of the producers. The severity was zero on both plots with regard to the Togo Blanc variety. The severity of the Render variety is very important as that of the other varieties with a highly significant difference ($p < 2e-16$) (Figure 2).

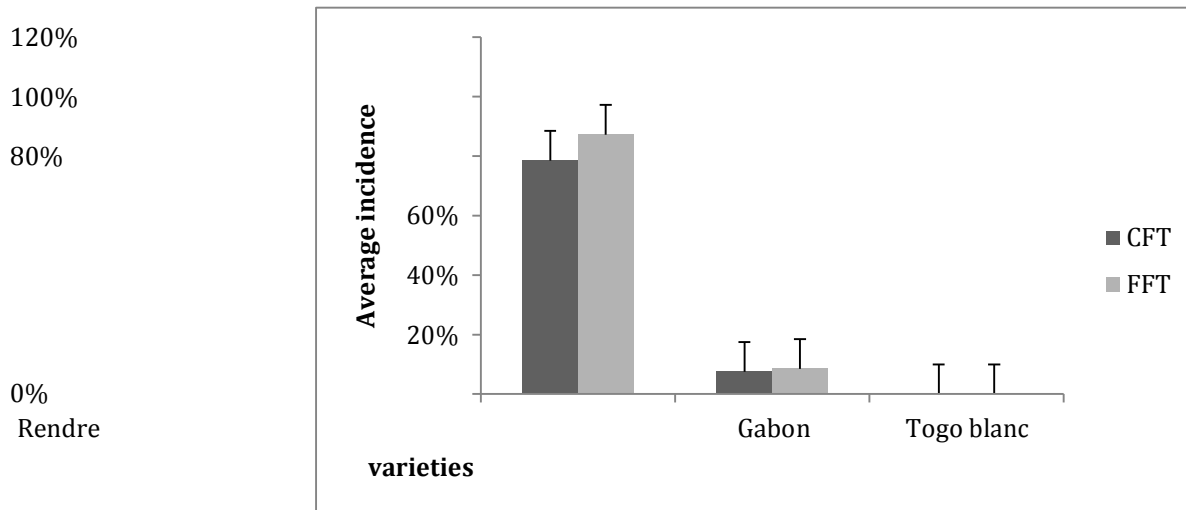


Figure 1. Incidence of cassava disease according to varieties and crop systems (CFT : Conventional Farming Techniques; FFT : Farmers Farming Techniques)

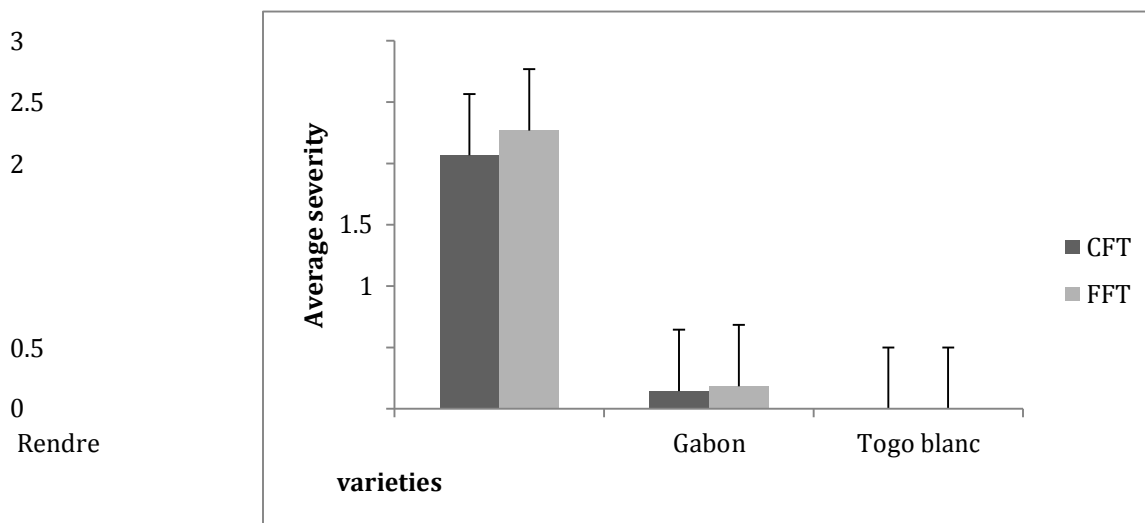


Figure 2. Severity according to variety and cultural practices (CFT : Conventional Farming Techniques; FFT : Farmers Farming Techniques)

4.3. Number of tubers

The results of the study reveal that the average number of tubers for all varieties combined is 5.7 for the conventional field while it is 4.4 for the plot of producers. The number of tubers of the conventional plot exceeds that of the plot of producers with a significant difference ($p = 2e-16$). The Rendre variety produced on average in both cropping systems 6 tubers, 5.2 tubers for white Togo and 4.3 tubers for Gabon (Figure 3).

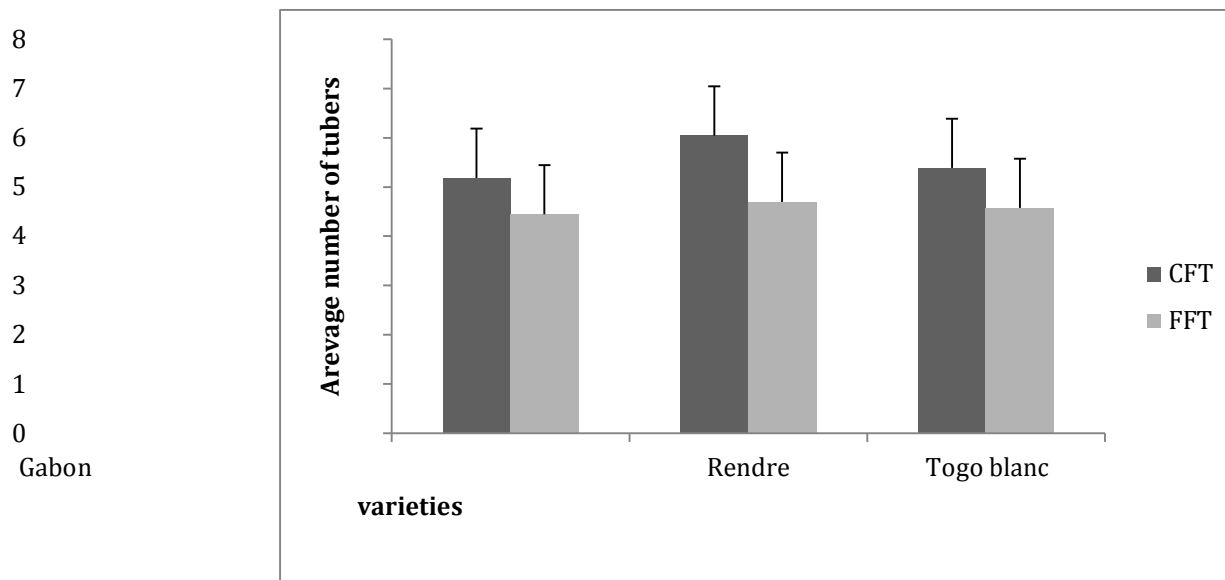


Figure 3. Number of tubers according to varieties and cultural practices. (CFT: Conventional Farming Techniques; FFT: Farmers Farming Techniques)

4.4. The weight of fresh tubers

The average weight of tubers was 23,15t / ha obtained on the plot of the producers and 46,9 t / ha on the conventional plot with a very significant difference ($p = 2e-16$). The yield of the three varieties on the two plots is respectively: Rendre (Producers: 2,8kg / foot, conventional: 5,0kg / foot), Gabon (Producers: 1,8kg / foot, conventional: 28kg / foot), White Togo (Producers: 2,9kg / foot, conventional: 5,0kg / foot), (Figure 4) with a very significant difference. ($p < 2e-16$) (Figure 4)

Gabon

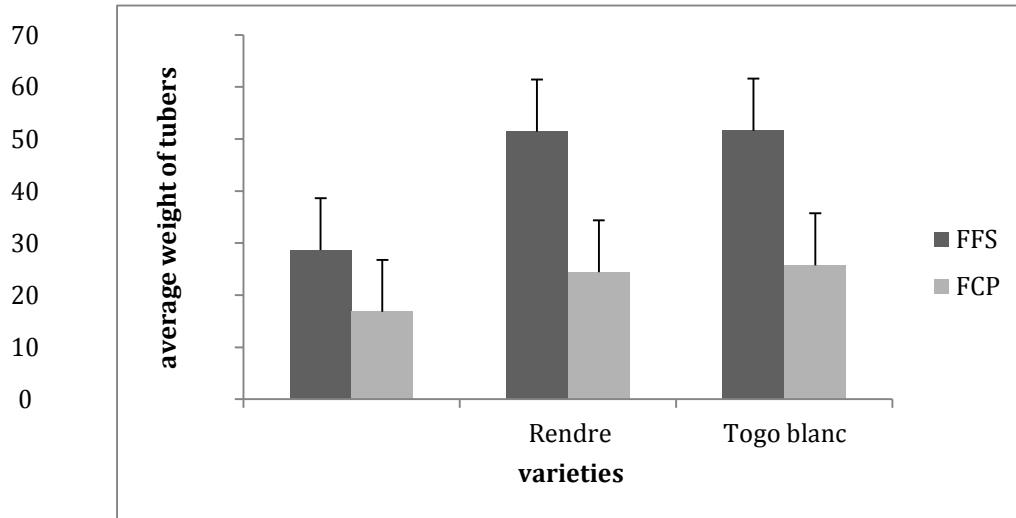


Figure 4. Tuber weights according to varieties and cultural practices. (CFT: Conventional Farming Techniques; FFT: Farmers Farming Techniques)

4.5. Molecular detection

On the 10 samples of asymptomatic white Togo leaves, no virus was detected by PCR. On the other hand, the two samples showing symptoms from Rendre and Gabon varieties were positive by PCR (Table 2). These results show that the asymptomatic samples of the Togo Blanc variety are free from the virus.

Table 2. Virus Detection in Leaf Samples

Samples	PCR with degenerate primers
TB1	-
TB2	-
TB3	-
TB4	-
TB5	-
- TBP1	-
TBP2	-
TBP3	-
TBP4	-
TBP5	-
GB	+
RD	+

TB: Togo blanc-CFT, TBP: Togo blanc-FFT, GB: Gabon, RD: Rendre

5. Discussion

A Farmer Field School of cassava was set up to evaluate the effectiveness of conventional farming techniques implemented by researchers against traditional farming techniques developed by farmers in the village of Pissa. This study shows that the incidence and severity of the mosaic are almost homogeneous with a non-significant difference. On the other hand, the study revealed that the plot of conventional techniques of all the varieties combined produced an average of 46.9 t / ha of fresh tuber against 23.15 t / ha for traditional

cultivation techniques with a very significant difference. And also the plot of conventional techniques of all varieties combined produced on average 5.7 of tuber against 4.4 for traditional farming techniques with a significant difference. We can conclude that conventional cropping techniques improve double cassava production compared to those practiced by farmers. The phenomenon is observed in all varieties studied with a very significant difference and is divided respectively as follows: Rendre (Producers techniques: 28kg /ha, conventional techniques: 50kg /ha); Gabon (Producers techniques: 18kg / ha, conventional techniques: 28kg /ha) and White Togo (Producers techniques: 29kg /ha, conventional techniques: 50kg /ha). The number of tubers is also improved by conventional techniques. The spacing between the feet of cassava was 1m X 1m applied with in-line cuttings on the conventional plot whereas it ranged from 0.5m x 0.5m to 0.8m x 0.8m with non-linear cuttings on the plot of producers. The size of the cuttings was 25 cm in the conventional plot whereas it varied from 20 cm to 35 cm in the traditional plot. We can deduce that the poor production recorded on the plot of the producers was related to the density of the plants which exceeded the norm and certainly generated a phenomenon of nutritional competition between the feet with a negative effect on the yield. On an area of 988 m² were planted 726 cuttings in the conventional plot against 816 cuttings in the traditional plot.

Another phenomenon which would have had a negative effect on the yield of the varieties in the plot of the producers is the lack of sufficient aeration preventing the diffusion of the solar radiation thus inhibiting the photosynthesis with repercussions on the chlorophyll content of the plants and the productivity of the plant cassava (Fauquet and Fargette 1990; Zinga et al., 2008, 2016a). An interesting result that this study reveals is that the Rendre variety is very sensitive to mosaic but with a high yield potential of 50t / ha in the case of conventional cultivation practices. In view of these results we can conclude that the Rendre variety is a mosaic tolerant variety, because despite its high sensitivity it has given a very good yield (Zinga et al., 2016b). On the other hand, the Gabon variety is resistant with a yield potential of 18t / ha in the traditional plot and 30t / ha in the conventional partial. This study is in line with recent work carried out between 2010 and 2011 in the Central African Republic (Zinga et al., 2016b).

The study also reveals that the Togo Blanc variety that has developed a 100% resistance is a highly resistant variety with a high yield potential in the conventional plot (50t / ha). The analysis of the 10 samples of the asymptotic leaves of the white Togo variety taken from the two plots was negative (Harrison, 1987). This confirms that this variety is really and highly resistant to mosaic. It is a variety of great interest and potential and should play an important role in the strategy of tackling mosaic, hunger and poverty in the country (Mallowa et al., 2011).

6. Conclusion

In conclusion, the cassava cultivation techniques applied in our study had no effect on the phytosanitary parameters, but they influenced the agronomic parameters. It is therefore preferable for cassava producers to make use of conventional farming practices to significantly increase yields and ensure food security for the Central African population. To avoid propagation and losses, the use of the Togo white variety is more advisable. The results of the study show that cassava production is double when using conventional cropping practices. The three varieties of cassava studied have better agronomic potential. It would be desirable to carry out genetic cross-breeding studies between these clones to generate new varieties agronomical interesting.

The TOGO BLANC variety has been highly resistant to diseases and pests. The identification of the gene responsible for this resistance may be useful in agricultural research and improvement of production. The results of this study need to be popularized on a large scale to sensitize producers on the importance of using best agricultural practices.

References

- El-Sharkawy, M.A. (1993), "Drought-tolerant cassava for Africa, Asia and Latin America: Breeding projects work to stabilize productivity without increasing pressures on limited natural resources", *Bioscience*, Vol. 43 pp. 441-451.
- FAOSTAT. (2013), FAO database, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- FAOSTAT. (2014), FAO database, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Fauquet, C. and Fargette D. (1990), "African cassava mosaic virus: etiology, epidemiology and control", *Plant Disease*, Vol. 74, pp. 404-411.
- Harrison, B.D. (1987), Properties and geographical variation of geminivirus isolates from mosaic-affected cassava, *Proceedings of the International Seminar: African cassava mosaic disease and its control, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, 4-8 May 1987*.CTA-ORSTOM. pp. 270.
- Legg, J. and Ogwal, S. (1998), "Changes in the incidence of African cassava mosaic virus disease and the abundance of its whitefly vector along south–north transects in Uganda", *Journal of Applied Entomology*, Vol. 122, pp. 169-178.
- Mallowa, S., Isutsa D., Kamau, A, Obonyo, R. and Legg J. (2006), "Current characteristics of cassava mosaic disease in postepidemic areas increase the range of possible management options", *Annals of Applied Biology*, Vol. 149, pp. 137-144.
- Malouhi, N. and Kafara, J.N. (2002), *La culture du manioc en Centrafrique CTP/ICRA*, pp16.
- Ndunguru, J., Legg J., Aveling T., Thompson G. and Fauquet C. (2005), "Molecular biodiversity of cassava begomoviruses in Tanzania: evolution of cassava geminiviruses in Africa and evidence for East Africa being a center of diversity of cassava geminiviruses", *Virology Journal*, Vol. 2 No. 21, pp. 1-23.
- Ndunguru, J., Legg, J.P., Fofana, I.B.F., Aveling, T.A.S., Thompson, G., Fauquet, C.M. and Calvert L. (2006), "Identification of a defective molecule derived from DNA-A of the bipartite begomovirus of East African cassava mosaic virus", *Plant Pathology*, Vol. 55, pp. 2-10.
- Stone, G.D. (2002), "Both Sides Now", *Current Anthropology*, Vol. 43 No. 4, pp. 611–630.
- Zinga, I., Chiroleu, F., Legg, J., Lefeuvre, P., Kosh Komba, E., Semballa, S., Yandia P.S., Mandakombo, N.B., Reynaud B. and Lett J.M. (2013), "Epidemiology assesement of cassava mosaic disease in Central African Republic reveals the importance of mixed viral infection and poor health of plant cutting", *Crop Protection*, Vol. 4, pp. 6-12.

Zinga, I., Chiroleu, F., Valam Zango, A., Ballot, C.S.A., Harimalala, M., Kosh Komba, E., Yandia, P.S., Semballa, S., Reynaud B., Lefeuvre, P., Lett, J.M. and Dintinger J. (2016b), Evaluation of Cassava Cultivars for Resistance to Cassava Mosaic Disease and Yield Potential in Central African Republic, *J Phytopathology*, Vol. 164, pp. 913-923

Zinga, I., Longue, R.D., Kosh Komba, E., Beaumont, C. and Semballa, S. (2016a), "Evaluation of protein and chlorophyll content in leaves of five local mosaic-infected varieties of cassava in Central African Republic", *Tropicacultura*, Vol. 34 No. 1, pp. 3-9.

Zinga, I., Nguimalet, C.R., Lakouetene, D.P., Konate, G., Kosh Komba, E. and Semballa, S. (2008), "The effects of the African cassava mosaic in the Central African Republic", *geo-eco-trop*, Vol. 32, pp. 47-60.



Journal of Experimental Agriculture International

43(4): 1-9, 2021; Article no.JEAI.68637
ISSN: 2457-0591

(Past name: American Journal of Experimental Agriculture, Past ISSN: 2231-0606)

Comparative Elimination of Begomoviruses in Cassava Meristems and Axillary Buds

**Adonise F. Valam Zango^{1,2}, Innocent Zinga^{1*}, Régis Dimitri Longué Soupké¹,
Simplice Prosper Yandia^{1,3}, Brice Toko Marabana¹, Nicole Gado Yamba Kassa¹,
Françoise R. Otabo⁴, Emmanuel Kamba Mebourou¹, Kosh Komba Ephrem¹,
Armand M’Villa⁴, Guy Florent Ankogui⁴, Semballa Silla¹ and Joseph Mabanza²**

¹Laboratoire des Sciences Biologiques et Agronomiques pour le Développement (LASBAD), Faculté des Sciences, Université de Bangui, Central African Republic.

²Faculté des Sciences et techniques, Université Marien Ngouabi de Brazzaville, Congo. ³Institut Supérieur de Développement Rural (ISDR), Université de Bangui, Central African Republic. ⁴Institut National de Recherche Agronomique (INRA), Brazzaville, Congo.

Authors' contributions

This work was carried out in collaboration between all authors. Authors AFVZ, IZ, RDLS, BTM, NGYK, SPY, FRO, EKM, AM, GFA and SS designed the study and wrote the protocol. Authors AFVZ, IZ, RDLS, NGYK and SPY managed the experiments. All authors read and approved the final manuscript.

Article Information

DOI: 10.9734/JEAI/2021/v43i430665

Editor(s):

(1) Dr. Dalong Guo, Henan University of Science and Technology, China.

Reviewers:

(1)

(2)

Habibu Mugerwa, University of Georgia, USA.
Biljana Stojan Ilić, Megatrend University, Serbia.

Complete Peer review History: <http://www.sdiarticle4.com/review-history/68637>

ABSTRACT

Aim: The production of healthy cuttings from a local cassava cultivar for cassava mosaic control.

Study design: The study was carried out at the In Vitro Culture Laboratory using the techniques of thermotherapy and culture of tissues and explants in a specific medium.

Place and duration: The study was carried out at the Laboratory of Biological and Agronomic Sciences for Development at the University of Bangui, Central African Republic from December 2017 to June 2018.

Methodology: A variety of cassava called *six-month* very susceptible to mosaic was used for

*Corresponding author: E-mail: zinga.innocent37@googlemail.com, zinga.innicent37@googlemail.com;

were treated and seeded on appropriate culture media. After the plants produced in vitro were acclimatized and the leaves were removed to check their phytosanitary state by the PCR technique.

Results: The rate of emergence of the acclimatized plants and the expression of the disease on the microplants were evaluated. The results show that 75% of the weaned vitro plants recovered under acclimatization. In addition, the acclimatized plants left growing in the greenhouse for four months remained asymptomatic. Molecular analysis by PCR showed that begomoviruses were not detected on meristem samples unlike samples from stem fragments.

Keywords: Manihot esculenta; mosaic; thermotherapy; in vitro culture; central African Republic.

1. INTRODUCTION

Cassava is an important food in the fight against food insecurity of populations in sub-Saharan Africa [1]. Cassava is the main food crop in the Central African Republic with a production of 2.4 million tons of fresh tubers or 714,042 tons of chips, ahead of yams at 476,674 tons and maize at 92,355 tons [2]. It constitutes the staple food of the population of the Central African Republic and represents a main source of income [3]. Its culture is practiced throughout the territory and feeds almost the entire Central African population. Cassava leaves are eaten in several producing countries and particularly in the CAR. The leaves are particularly rich in proteins, carotenes, minerals (K, Ca, Na,) and vitamins B1, B2, and C [4]. Amino acid in cassava leaves are also useful for wound healing in the skin, replacing damaged cells, bone health, helping us with good memories, and to help the body's metabolic system. Chlorophyll in the leaves serve as antioxidants and anticancer agent. Benefits of cassava leaves are very much; health can be supplemented with the intake of cassava leaves. Known cassava leaves have a number of important benefits such as suitable for those who are running the diet

program. In addition, cassava leaves can also be used as medicine rheumatism, headaches, ulcers, cold medicine, diarrhea, overcome the worms, and increase stamina. It also used as a herbal medicine that can drink it with water directly. The active principle of cassava leaves have pesticide activity [4]. Cassava is vulnerable to around twenty viral diseases, the most important of which currently in Africa are cassava mosaic disease (CMD) and cassava brown streak disease (CBSD) [5,6]. Cassava mosaic has been reported in several sub-Saharan African countries [7,8,6] where it causes serious yield problems [9,10]. Surveys carried out in the Central African Republic between 2005 and 2012 showed that the main constraint of cassava is CMD with an average incidence of 85% and that 79% of cuttings used for replanting by producers were infected with CMBs [10,11]. The same surveys made it possible to determine two species of CMBs on Central African cassava: ACMV and EACMV-UG [12]. Surveys carried out by a regional project gave the same trends [12].

Cassava mosaic disease has become a persistent and most virulent threat, with the disease incidence of 85% and a severity of 3 on the IITA [13].

However, the selection of cuttings from asymptomatic plants has made it possible to obtain yields equivalent to those of resistant varieties [14,15,16]. The impact of CMD on the yield is more than 70% for plants originating from infected cuttings while it is only 10% on initially healthy plants when the infection occurs 120 days after planting [17]. Studies carried out in Ivory Coast have shown that plants contaminated by cuttings had a yield loss of over 75%. On the other hand, the plants that get inoculated with CMBs by the whitefly had had a less important loss, which decreased as the inoculation time increased until no longer having an effect if the inoculation took place 70 days after planting [14]. It is therefore necessary to limit the damage caused by the CMD in cassava fields. One way to control mosaic disease is *in vitro* culture. During the last 30 years, *in vitro* culture techniques have developed widely and have been applied to more than 1000 different species [18,19]. These tissue culture techniques are of great interest on the one hand for the collection, multiplication and conservation of genetic material [14]; on the other hand for the production of healthy planting material. Tissue culture systems allow plant material to be propagated with high multiplication rates in an aseptic environment. *In vitro* culture combined with heat therapy has been effective in previous studies because heat therapy eliminates the mosaic virus [20,21]. According to Zinga, the treatment of cassava cuttings, infected with CMBs at 49 °C for 30 minutes in a water bath, generates 43% of the plants free from symptoms of the disease one month

after planting with a harvest yield equivalent to that of the initially healthy plants [10].

A recent survey carried out in the Central African Republic shows that 90% of consumers have culinary preferences for leaves with mosaic symptoms (data not yet published). This attitude is worrying, because it could favor the spread of the disease. This further supports the need for this work. This work combines the technique of thermotherapy with that of tissue culture in order to sanitize plant material to serve as seeds for producers in order to improve cassava production in the Central African Republic. It was carried out in several stages:

- Transplanting of the infected cuttings was carried out in a chamber under the heat of 37°C to 40°C for two weeks
- Tissue culture was performed for the production of *in vitro* plants. - The *in vitro* plants were weaned and placed in the greenhouse for 4 months for their development.
- The leaves of *in vitro* plants were analyzed by PCR to check their phytosanitary state.

2. MATERIALS AND METHODS

Experimental Place

The study was carried out at the Laboratory of Biological and Agronomic Sciences for Development at the University of Bangui, Central African Republic from December 2017 to June 2018.

Plant Material

Cassava cuttings of the Six months variety, very susceptible to cassava mosaic disease, were used as plant material. It is a local variety appreciated by the rural population because of its early maturing despite its susceptibility to mosaic disease.

Culture Media for the Production of Vitro Plants

Show in Table 1.

Sampling

200 Cuttings from a local "six-month" cassava cultivar very susceptible to mosaic disease but much preferred by cassava growers in the Central African Republic are used as material. The cuttings were taken from 12-month-old cassava stems whose leaves showed mosaic symptoms with an average severity of 3.5 on the IITA scale. These cuttings were collected in Pissa, 74 km from Bangui and transferred to the Laboratory of Biological and Agronomic Sciences for Development (LASBAD) to be sanitized.

Heat Therapy Treatment

25 cm cuttings (200 cuttings) were soaked in 10% bleach solution for 10 min, then rinsed with tap water, then transplanted into black polyethylene bags containing sterilized soil. The transplanted cuttings were taken to the thermotherapy room to be placed in culture trays, they were watered every 48 h.

The temperature in this chamber fluctuated between 37 °C to 40 °C during the day. The photo periodicity was 16/8. These plants were kept under these conditions for two weeks before being subjected to experimental testing (Fig. 1A).

Preparation of Culture Media

Murashige and Skoog's medium (4.4g) were used to perform this work. The volume of the solution was 1 liter to which were added 100 mg of myoinositol, 30 g of Sucrose, 1 mg of thiamine, 1.5 mg of Pyridoxine. And phytohormones such as 0.02 mg of NAA; 0.05 mg of BAP; 0.02 mg GA3 (Table 1). The pH of the medium was adjusted to 5.7 (METROHM pH meter, MettlerToledo AG. 8603 Schwerzenbach. China) using 0.1N HCl or 1N NaOH solution. 3.5 g of phytigel was added to the Murashige solution described below. The resulting mixture was placed in a microwave for homogenization for 4 min. The solution taken out of the microwave was mixed with the rest of the solution in the Erlenmeyer flask on the magnetic stirrer. The solution resulting from the mixture was poured into test tubes and sterilized in an autoclave (SULZER autoclave, manufactured TRADE, Raypa . R. Espinar S.L. Espana) at 121° C for 30 min. After sterilization, the media was cooled and stored in a refrigerator for use in inoculation.

Culture of Meristems and StemFragments

One day after the preparation of the culture media, the explants taken from the tips of the cassava stems were washed with tap water for 5 min, then they were transferred to the laminar flow hood. Bleach (10%) (fresh chorox Bleach.

Fresh Organic Herbal (FOH), Douala) was added to the explants introduced into jars, the whole was stirred for 5 min. The explants were then placed in 70% alcohol for 5 minutes while stirring slowly (Bleach and ethanol are used to disinfect plant material). Finally, they were rinsed with sterile water 3 times for 5 minutes while vigorously shaking the jars to completely get rid of the reagents used (Fig. 1B).

In this study, we used two cultivation methods: seeding from meristems and seeding from stem fragments. These explants were removed using a scalpel blade under a horizontal laminar flame hood and placed in the culture medium or initiation medium. The meristems were collected using a stereoscopic microscope to rid the leaf envelope of blanks. On the other hand, the stem fragments were taken in such a way that each fragment comprises a node. The seeded tissues were transferred to the acclimatization room at a temperature of 18 ° C and a light illumination of 3000 Lux with a photo periodicity of 16 H / 8.

Micro Propagation

After three weeks, the shoots were extracted from the tubes under the hood and cut into micro-cuttings and then subcultured onto a proliferation medium. The multiplication of micro-plants was carried out for four (4) months,

systematically removing the apical bud, as well as the base nodes showing the yellowed leaves (Fig. 1C).

Acclimatization of Vitro Plants

After multiplication, vitro plants were weaned according to the OTABO protocol, [25]. The vitro plants having at least 3 leaves, 3 roots and a size of 5 cm were chosen to carry out this operation. The black soil was used as a substrate and was

autoclaved for 30 min at 160°C. The microplants extracted from the tubes were rinsed with water to remove the agar and then they were introduced directly into the substrate in the weaning tank previously covered with two plastic films. The microplants were put into regeneration in a mini-greenhouse. One week after weaning, the first plastic film was removed and two weeks after the second plastic film and removed (Fig. 1E). The microplants were then removed and immediately transplanted into a new substrate for hardening (Fig. 1F).

Detection of Mosaic Viruses in Weaned Cassava Plants

To check the phytosanitary state of these microplants, samples of the leaves were taken for analysis by PCR. Samples were collected from the leaves of microplants from stem fragments and also from those of microplants from meristems. All samples were screened against positive control samples.

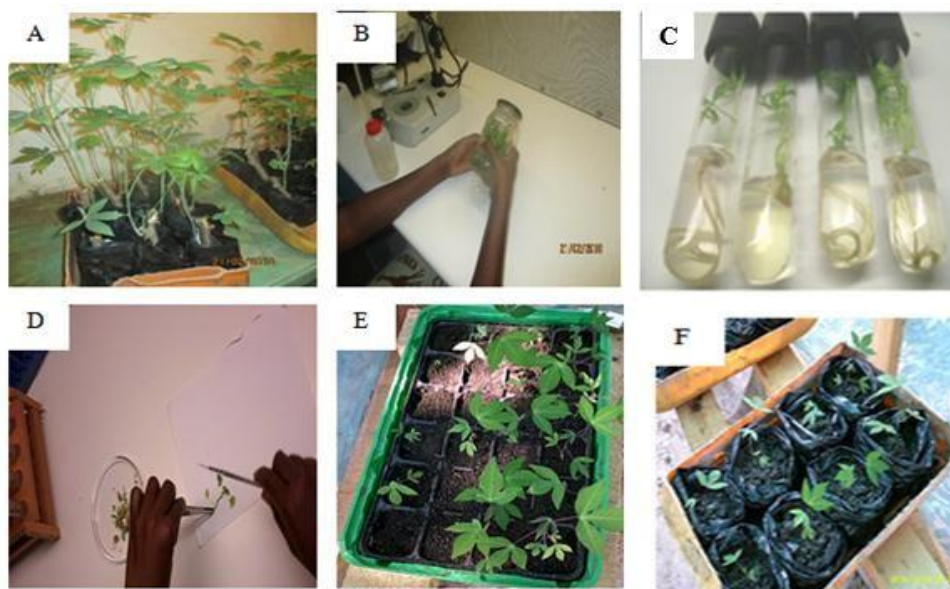
Total DNA was extracted using the Qiagen Kit. In this study degenerate primers were used to detect

begomoviruses in the material analyzed [26]. The reaction mixture was carried out under the following conditions: 14.87 μ l water; 2.5 μ l 10X PCR buffer; 2 μ l of dNTPs; 1.5 μ l MgCl₂; 1 μ l primer1; 1 μ l primer2 and 0.13 μ l of Taq polymerase. DNA extract (2 μ l) was then added to the reaction mixture to carry out the amplification of the viral genome, which gave a total volume of 25 μ l. The primer sequences are provided in Table 2.

Table 1. The components of culture media and their concentration

Media components	Con. / Initiationmedium	Con. / Proliferation medium
Naphthalene acetic acid (NAA)	0,02mg/ml	0
Benzalaminopurin (BAP)	0,05mg/ml	0
CuSO ₄	1ml/l	0
Muruschige and Shoog (MS)	4,4g/l	4,4g/l
Sucrose	30g/l	30g/l
Phytigel	3,5g/l	3,5g/l
Myoinositol	100mg/l	100mg/l
Thiamine	1mg/l	0
Pyridoxine	1,5mg/l	0
Nicotinic acid	1,5mg/l	0
Glycine	2mg/l	0
Gibberellic acid (GA3)	0,02mg/ml	0

Source: Ng [22]; Mabanza et Jonard [23]; Murashige et Skoog [24]

**Fig. 1. Stages of in vitro culture and weaning**

A: Regeneration of cassava cuttings in the thermotherapy room. B: Sanitation of the explants under the hood. C: Production of tissue culture plants. D: Multiplication of in vitro plants. E: Development of vitro plants two weeks after weaning. F: Curing of in vitro plants.

Table 2. Primer sequences used to detect CMD begomovirus in cassava leaves samples

Specificity	Names/sequences of primers	Expected size of amplicon (bp)
CMD virus	VD1863/TCRTCAATGACGTTGTACCA	520
	C12D2391/TTTCCAYCCVAACATTCARGG	

Amplification Program of the Viral DNA by the PCR with Universal Primers

The amplification of viral DNA was carried out according to the following program : denaturation at 94 °C for 5 min; followed by 30 cycles of : Denaturation at 94 °C for 1 min, annealing at 55°C for 1 min, elongation at 72 °C for 1 min and a last elongation at 72 °C for 7 min.

Amplification Program of the Viral DNA by the PCR with Universal Primers

The amplification of viral DNA was carried out according to the following program : denaturation at 94 °C for 5 min; followed by 30 cycles of : Denaturation at 94 °C for 1 min, annealing at 55°C for 1 min, elongation at 72 °C for 1 min and a last elongation at 72 °C for 7 min.

Revelation of PCR Amplifiers Amplified

DNA sequences were revealed by 1% agarose gel electrophoresis stained with ethidium bromide under UV illumination. Preparation of the gel Agarose (1 g) was dissolved in 100 ml of TAE 1x. The solution was homogenized by boiling using a microwave for few minutes. The solution was cooled by running cold water over the walls of the erlenmeyer. Ethidium bromide (4 µl) was deposited on the gel after cooling at 65°C. The gel is then poured into a tray and a comb is placed at one end to delineate wells in the gel. The agarose was left for polymerization at ambient temperature for 30 min. The TAE 1x buffer was then added to the electrophoresis tank until the gel was completely immersed.

Gel Loading and Electrophoretic Migration

Two microliters of loading buffer (blue color) were mixed with 10 µl of PCR products. A volume of 10 µl of the mixture obtained was deposited in a well which has been delimited by the comb. Ten microliters of molecular weight marker were deposited in the first and last wells. The electrophoretic migration was then carried out under a constant electric potential of 100 volts for 1 h. The gel was deposited in a BET solution for 15 min and rinsed by immersing in water for 1h before the revelation of PCR products under UV illumination.

Parameters Studied and Data Analysis

The parameters studied are the effect of thermotherapy on the mosaic, the rate of regeneration of the microplants after weaning, the expression of the mosaic on the microplants and the phytosanitary evaluation of the microplants. The data collected was entered on the Excel version 2010 spreadsheet and analyzed by the XLSTAT software. Student's t- test was used to determine the effect of heat therapy on the incidence of mosaic disease and the success of vitro plants at acclimatization.

3. RESULTS

Cassava Mosaic Disease Incidence

The cuttings taken for sanitation were all diseased (100%) with an average severity of 3.5, according to visual observation based on the IITA scale. After thermotherapy treatment of these cuttings 65% were free of mosaic symptoms. Thermotherapy reduced the incidence highly significantly ($p < 0.01\%$).

In this study, it should be noted that out of 240 weaned vitroplants, 180 regenerated, i.e. 75% success rate with a very significant difference of $p < 0.05\%$.

Acclimatisation Success Rate of In vitro Plants

In this study, it should be noted that out of 240 weaned vitroplants, 180 regenerated, i.e. 75% success rate with a very significant difference of $p < 0.05\%$.

Mosaic Expression on Microplants

After four (4) months of curing the microplants in the greenhouse, no symptoms were recorded on all the plants.

Detection of Begomoviruses

Testing for virus strains in leaf samples from acclimatised glasshouse plants showed positive bands with the universal primers on all samples from stem fragments (samples 1, 2, 3, 5, 8, 9) and controls, while no viral DNA bands were observed on samples from meristems (samples 4, 6, 7) (Fig. 2).

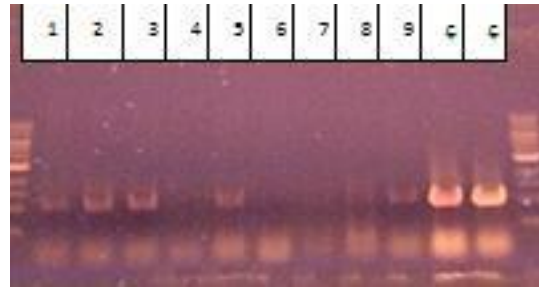


Fig. 2. Detection of begomoviruses in tissue culture plant leaf samples

Samples 1, 2, 3, 5, 8, 9 are from axillary buds (explants) Samples 4, 6, 7 are meristem samples C: control. Size of the ladder: 1kb

The PCR results show 100% of tissue culture plants from meristems (75 samples) are free from the virus, whereas those from axillary buds (72 samples) although being asymptomatic carried 92% of the viral particles. What shows that the best plant material for sanitizing infected cassava plant material is the meristem.

3. DISCUSSION

The use of stem cuttings of poor sanitary quality could be explained both by the unavailability of healthy material and by the farmers' lack of knowledge about CMD. A recent study showed that the incidence of CMD was 85% and that 79% of cuttings used by growers were infected with mosaic [11]. In all cases, our results emphasized the need to put in place a control strategy based on both the use of resistant varieties and the sanitation of plant material.

This work showed that thermotherapy had a significant effect on the incidence and severity of mosaic disease [20,21,10], when the cuttings used were taken from cassava plants infected with mosaic.

We found that after heat treatment, most cassava plants did not show symptoms of mosaic disease.

This could explain why heat therapy has played a very important role in the elimination of cassava mosaic disease. These results corroborate with previous studies on thermotherapy which have shown that it has this capacity to inhibit the multiplication of the virus during its application in many plants [27,20,28,29,30,31,21,12]. The regeneration of the explants evaluated after one week of culture in the acclimatization room showed that 48% of the meristems and 50% of the stem fragments had recovered. Infections due to microorganisms were also noted with losses of 52% and 50% respectively for meristems and stem fragments. In this study it was found that the infection rate is high, this could be due to the use of contaminated materials. It is therefore necessary to use sterile materials. Some studies have shown that the surface disinfection usually done during in vitro culture does not effectively eliminate infections, especially bacterial infections which are endogenous and appear gradually during culture [32,33,34,35].

sometimes added to the culture medium in order to eliminate germs or prevent their expression [36,35]. During this study, weaning took into account several parameters: the size of the tissue culture plants, the number of leaves, the number of roots, the number of days after in vitro multiplication and the physical aspect of the tissue plant to avoid losses. This has led to a significant reduction in the number of tissue culture plants ready for weaning. This work gave a higher success rate of tissue culture plants at weaning than loss with a significant difference. The number of leaves of each weaned in vitro plant increased after two weeks. This is consistent with the work done by Otabo and Mabanza in 1996 on weaning and transfer of tissue culture plants to the field. At the end of weaning, no mosaic symptoms were observed on the leaves of in vitro plants, this does not justify the absence of viruses in the microplants, the virus can be expressed directly when the microplants are transferred to the field. As Féreol has suggested, however, it is far from asserting that tissue culture plants are free from the virus because in in vitro culture the symptoms can be masked [20]. The viral load may be low, which may not allow the disease to express itself. It is therefore necessary to use molecular techniques to verify the phytosanitary status of these microplants before confirming that they are healthy. The study showed that all samples from the meristem were negative while samples from the stems were positive with faint bands compared to controls, supporting the low viral load hypothesis.

Thus, antimicrobial agents (bactericides and / or fungicides) are

OTABO team has proven that growing meristems is the most effective way to sanitize cuttings infected with cassava mosaic.

Early studies confirmed this finding by indicating that heat therapy inhibits replications as virus degradation continues, resulting in subsequent virus elimination from meristems [27]. Another hypothesis, it can be thought that the speed of growth of seedlings under heat is greater than the speed of upward migration of the virus. This means that the meristems have remained free from the virus unlike the explants.

Other study on diseased cassava cuttings were treated in a heated water bath at temperatures ranging from 43°C to 51°C for 30 min before being grown for

12 months in the field. The data clearly demonstrate, the highest yield was obtained from plants grown from diseased cuttings treated at 49°C (4.7kg / plant), a yield statistically similar to that of untreated symptomless cuttings (4.6kg / plant). Although plants grown from diseased cuttings treated at 47°C, 49°C and 51°C had a similar CMD incidence at one MAP (61%, 59% and 57%, respectively), the diseased cuttings treated at 49°C showed significantly lower CMD incidence between two and five MAP compared to plants in the two other treatments [12].

4. CONCLUSION

Sanitation of the plant material by culture of the meristem combined with heat therapy produced apparently healthy tissue culture plants in which

no viral DNA were detected and no disease symptoms were observed after weaning. PCR testing for viruses in leaf samples confirmed the complete absence of viruses on samples from meristems unlike those from stem fragments. It is therefore important to check the health status of tissue culture plants using molecular techniques before disseminating cuttings from tissue culture plants to producers. This control strategy is very useful in the Central African context where the best culinary varieties are sensitive to mosaic and the majority of producers use the contaminated cuttings for replanting. Appropriation of these techniques by agricultural extension services is essential to help producers have healthy cuttings to improve cassava yields.

ACKNOWLEDGEMENTS

At the location of researchers from LASBAD, INRA and PRASAC (Regional Center for Applied Research in the Development of the Savannahs of Central Africa) who have supported

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

1. Janssens. Le manioc in agriculture en Afrique tropicale. DGCI, Bruxelles. 2001;198-218.
2. Engelmann F. *In vitro* conservation of tropical plant germoplasm: a review. *Euphytica*. 1991;57: 227-243.
3. Janssens. Le manioc in agriculture en Afrique tropicale. DGCI, Bruxelles. 2001;198-218.
4. Engelmann F. *In vitro* conservation of tropical plant germoplasm: a review. *Euphytica*. 1991;57: 227-243
5. Mallouhi N, Kafara JM. La culture du manioc en Centrafrique. *CTP/ICRA*. 2002;16.
6. Tom C, Mity T. Pesticidal activity of the leaves of manihot esculenta against the pest *tribolium castaneum* . *WJPMR*. 2017;3(1):286-290.
7. Legg J, Owor BS, seruwagi P, Ndunguru J. Cassava mosaic virus disease in East and Central Africa epidemiology and management of a regional pandemic. *Advances in Virus Research* 2006; 67:355-418.
8. Patil BL, Fauquet CM. Cassava mosaic geminiviruses: Actual knowledge and perspectives. *Molecular Plant Pathology*. 2009 ; 10:685-701.
9. Ndunguru J, Legg J, Aveling T, Thompson G, Fauquet C. Molecular biodiversity of cassava begomoviruses in Tanzania: evolution of cassava geminiviruses in Africa and evidence for East Africa being a center of diversity of cassava geminiviruses. *Virology Journal*. 2005;2:21.
10. Ndunguru J, Legg JP, Fofana IBF, Aveling TAS, Thompson G, Fauquet CM, Calvert L. Identification of a defective molecule derived from DNA-A of the bipartite begomovirus of East African cassava mosaic virus. *Plant Pathology*. 2006;55:2-10.
11. Legg J, Ogwal S. Changes in the incidence of African cassava mosaic virus disease and the abundance of its whitefly vector along south–north transects in Uganda. *Journal of Applied Entomology*. 1998;12:169-178.
12. Zinga I, Chiroleu F, Kamba E, Giraud- Carrier C, Harimalala M, Kosh Komba E, Yandia S, Semballa S, Reynaud B, Dintinger J, Lefeuvre P, Lett JM. Field Evaluation of the Effectiveness of Thermo-therapy against Cassava Mosaic Disease in Central African Republic. *American Journal of Experimental Agriculture*. 2014;4(11):1232-1241.
13. Zinga I, Chiroleu F, Legg J, Lefeuvre P, Kosh Komba E, Semballa S, Yandia PS, Mandakombo NB, Reynaud B, Lett JM. Epidemiology assesment of cassava mosaic disease in Central African Republic reveals the importance of mixed viral infection and poor health of plant cutting. *Crop Protection*. 2013;4:6-12.
14. Sseruwagi PS, serubombwe WS, Legg JP, Ndunguru J, Thresh JM. Methods of surveying the incidence and whitefly vector populations on cassava in Africa: A review. *Virus Res*. 2004; 100:129e142.
15. Fauquet C, Fargette D. African cassava mosaic virus: etiology, epidemiology and control. *Plant Disease*. 1990;74:404- 411.
- 16.

16. Mallowa SO, Isutsa DK, Kamau AW, Legg JP. Effectiveness of phytosanitation in cassava mosaic disease management in a postepidemic area of western Kenya. *ARPN Journal of Agricultural and Biologicla Science*. 2011;6(7).
17. Ummey H., Sharmin R., Mihir L.S., Khan M.R., Syed H. Endogenous Bacterial Contamination During In vitro Culture of Table Banana: Identification and Prevention. *Plant Tissue Cult*. 2002; 12(2):117-124.
18. FAOSTAT. FAO database. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome Italy; 2016.
19. George EF. Plant propagation by tissue culture (Part 1). In *The Technology* (2nd edn). Exegetics Ltd. Edington;1993a.
20. George EF. Plant propagation by tissue culture (Part 2). In *Practice* (2nd edn). Exegetics Ltd.: Edington. 1993b.
21. Feréol L. Multiplication végétative et élimination de la mosaïque du manioc par thermothérapie sur des plantes cultivées in vitro. In *Diseases of tropical food crops. Proceedings of an International Symposium V.C.L. Louvain-La-Neuve.Belgium*. 1978;285-29
- Dambier Dominique, Gandonou Christophe Bernard and Toukourou Fatiou. Elimination of African cassava mosaic virus in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) using meristem culture associated to thermotherapy. *International Journal of Development Research*. 2015;5(10):5655-5660.
22. Yandia Simplicie Prosper, Wouyou D. Agapit, Silla Semballa,

Peer-review history:

*The peer review history for this paper can be accessed here:
<http://www.sdiarticle4.com/review-history/68637>*

Résumé



La mosaïque africaine du manioc (MAM) est la principale maladie virale qui affecte le manioc et baisse son rendement dans les zones de culture. L'objectif de ce travail est de lutter contre celle-ci afin d'améliorer la productivité du manioc et d'assurer une sécurité alimentaire durable en Afrique centrale. Il s'agit de : (i) caractériser au niveau moléculaire les begomovirus du manioc pour une meilleure connaissance des espèces virales ; (ii) évaluer l'impact de la MAM par une approche CEP ; (iii) lutter contre la MAM par l'utilisation des boutures de manioc infectées assainies. Notre étude a permis de diagnostiquer par la PCR les quatre espèces de begomovirus responsables de la mosaïque dans les six pays de la CEMAC, ce sont, l'ACMV, EACMV-UG, EACMV et EACMCV. Le séquençage des génomes entiers des begomovirus du Congo, du Gabon et de la Guinée Equatoriale a permis d'obtenir 10 séquences ADN-A et 10 séquences ADN-B. Cette étude a montré que l'incidence et la sévérité de la maladie, de même que la densité des mouches blanches, la hauteur des tiges, le diamètre des tiges et le nombre de tubercules dans les deux systèmes culturaux sont presque homogènes avec une différence non significative. Par contre la parcelle des techniques conventionnelles de toutes les variétés confondues ont produit en moyenne 46,9 t/ha de tubercules frais contre 23,15t/ha pour les techniques culturales traditionnelles avec une différence très significative. Le cultivar Rendre a été très sensible à la mosaïque mais a donné par contre un très bon rendement. Ainsi pour lutter contre la mosaïque africaine du manioc on devrait favoriser la culture des variétés de manioc résistantes performantes d'une part, et, d'autre part, utiliser des boutures de manioc infectées assainies des cultivars sensibles productifs largement développés par les producteurs.

Mots clés : Begomovirus, CEMAC, *Manihot esculenta* Crantz, Mosaïque africaine du manioc,

Abstrat

African cassava mosaic disease (ACMD) is the main viral disease affecting cassava and reducing its yield in growing areas. The objective of this work is to control it in order to improve cassava productivity and ensure sustainable food security in Central Africa. It consists of : (i) characterize at the molecular level the cassava begomoviruses for a better knowledge of the viral species; (ii) assess the impact of MAM through a CEP approach; (iii) control MAM through the use of sanitized infected cassava cuttings. Our study allowed diagnosing by PCR the four begomovirus species responsible for the mosaic in the six CEMAC countries: ACMV, EACMV-UG, EACMV and EACMCV. The sequencing of the whole genomes of begomoviruses of Congo, Gabon and Equatorial Guinea resulted in 10 DNA-A sequences and 10 DNA-B sequences. This study showed that disease incidence and severity, as well as whitefly density, stems height, stem diameter and tuber numbers in the two cropping systems were almost homogeneous with a non-significant difference. On the other hand, the plot of the conventional techniques of all varieties combined produced an average of 46.9 t/ha of fresh tubers compared to 23.15 t/ha for the traditional cultivation techniques with a very significant difference. Rendre cultivar was very sensitive to mosaic but gave a good yield. Therefore, two means of mosaic control were defined at the end of his work: the cultivation of high-performance cassava varieties such as the Togo Blanc variety and the use of cassava cuttings sanitized by in vitro culture to limit the damage caused by mosaic viruses. Thus, to control African cassava mosaic, the cultivation of resistant, high-performance cassava varieties should be encouraged, on the one hand, and, on the other hand, the use of infected, sanitized cassava cuttings from productive susceptible cultivars widely developed by producers should be used.

Keywords : Begomovirus, CEMAC, *Manihot esculenta* Crantz, African cassava mosaïque

