

African Crop Science Journal by African Crop Science Society is licensed under
a Creative Commons Attribution 3.0 Uganda License.

Based on a work at www.ajol.info/

DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/acsj.v32i3.1>



INCIDENCE MOLECULAIRE ET DISTRIBUTION DES VIRUS ASSOCIES A LA MOSAÏQUE AFRICAINE DU MANIOC AU SUD-KIVU EN REPUBLIQUE DEMOCRATIQUE DU CONGO

J.-C. BULONZA, P. UGENCAN, R. MUVIRIRWA, L. EMPATA, T. BAKELANA¹,
H. MUHINDO, B. DOWIYA et G. MONDE

Laboratoire de Phytopathologie et biotechnologies végétales et Central and West African Virus
Epidemiology, Institut Facultaire des sciences Agronomiques de Yangambi,
Box 1232 Kisangani en République Démocratique du Congo

¹ Institut National pour l'Etude et la Recherche Agronomiques, Centre de Recherche de M'vuazi
au Kongo Central en République Démocratique du Congo

Auteur correspondant : mulimbanyajclaude@gmail.com

(Received 2 February 2024; accepted 20 August 2024)

RESUME

La maladie de la mosaïque du manioc (CMD) est une maladie redoutable des systèmes de production de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) en Afrique subsaharienne. L'objectif de cette étude était d'établir les virus associés au CMD et leur distribution spatio-temporelle dans la province du Sud-Kivu en République démocratique du Congo. Au total, 590 échantillons de feuilles de manioc ont été collectés entre novembre 2020 et Mars 2022 et analysés au laboratoire à l'aide de méthodes moléculaires. Les résultats ont montré que diverses souches virales (African Cassava Mosaic Virus (ACMV), East African Cassava Mosaic Virus (EACMV), ACMV+EACMV-UG, EACMCV et souches non spécifiées) étaient largement répandues dans le Sud-Kivu. La souche EACMV-UG était répandue dans tous les territoires de la province du Sud-Kivu, tandis que la souche camerounaise (EACMCV) n'a été trouvée que dans le territoire de Kalehe (2%). Il y avait une infection mixte (ACMV+EACMV-UG), bien qu'à des niveaux faibles, passant de 2,3 % en 2020 à 3 % en 2022. Tous les territoires étudiés présentaient une grande diversité de virus, à l'exception de celui d'Uvira, qui n'avait que l'EACMV-UG. Les virus ACMV étaient les plus abondants, suivis par l'EACMV-UG, dans la région étudiée. Une forte augmentation de la diversité virale s'est produite en 2020 et 2022, avec des taux passant de 33,07 à 57,5%.

Mots Clés : Virus de la mosaïque africaine du manioc, infection mixte

ABSTRACT

Cassava Mosaic Disease (CMD) is a dreadful disease of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) production systems in sub-Saharan Africa. The objective of this study was to establish the viruses associated with CMD and their spatio-temporal distribution in the South Kivu Province of the Democratic Republic

of Congo. A total of 590 cassava leaf samples were collected during November in 2020 and March 2022 and analysed for laboratory analysis using molecular methods. Results showed that various virus strains (African Cassava Mosaic Virus (ACMV), East African Cassava Mosaic Virus (EACMV), ACMV+EACMV-UG, EACMCV and unspecified strains) were widely distributed in South Kivu. Strain EACMV-UG was widespread in all territories of South Kivu Province; while the Cameroonian strain (EACMCV) was only found in the Kalehe Territory (2%). There was a mixed infection (ACMV+EACMV-UG), though at low levels, rising from 2.3% in 2020 to 3% in 2022. All the territories surveyed had wide diversity of viruses, with the exception of that of Uvira, which only had the EACMV-UG. The ACMV viruses were the most abundant; followed by EACMV-UG, in the study region. A sharp increase in virus diversity occurred during 2020 and 2022, with rates rising from 33.07 to 57.5%.

Key Words: African Cassava Mosaic Virus, mixed infection

INTRODUCTION

Le manioc (*Manihot esculenta* Crantz) est une source majeure d'énergie et de protéines dans l'alimentation humaine et animale en Afrique subsaharienne (ASS), où il est consommé sous forme de racines et de feuilles (Ezeji *et al.*, 2023). Cependant, les maladies virales limitent la culture du manioc dans la production, en particulier la maladie de la mosaïque du manioc (CMD) et la maladie des stries brunes du manioc (CBSD). La CBSD est endémique en ASS et peut entraîner des pertes de rendement colossales allant jusqu'à 90 % et d'énormes difficultés socio-économiques (Legg *et al.*, 2006 ; 2015).

Il s'agit d'une maladie causée par une infection virale, qui a été décrite pour la première fois en 1984 en Tanzanie et qui s'est ensuite répandue dans toutes les régions productrices de manioc de l'Afrique subsaharienne (Warburg, 1894). Son impact dépend fortement des cultivars utilisés, de la zone agro-écologique et du stade de croissance pendant lequel l'infection se produit (Terry et Hahn, 1980 ; Seif, 1982 ; Mahungu *et al.*, 2022).

Environ 16 virus différents induisant la mosaïque ont déjà été décrits sur le manioc, dont seulement neuf affectent la culture en Afrique (Thresh *et al.*, 1994 ; Calvert et Thresh, 2002). Ces virus appartiennent à au moins quatre familles et genres différents, dont les Comoviridae (Nepovirus), les Geminiviridae

(Begomovirus), les Potyviridae (ipomovirus) et les Caulimoviridae (Caulimovirus) (Legg et Tresh, 2003). Parmi ces quatre genres, le genre Begomovirus, y compris ACMV de la famille des Geminiviridae, a une importance économique sur le manioc en Afrique, où ces virus sont responsables de la mosaïque africaine du manioc (Bock et Woods, 1983 ; Hong *et al.*, 1993).

Il existe neuf espèces virales, dont sept sont présentes en Afrique ; à savoir le virus de la mosaïque du manioc africain (ACMV), le virus de la mosaïque du manioc est-africain (EACMV), le virus de la mosaïque du manioc est-africain du Cameroun (EACMCV), le virus de la mosaïque du manioc est-africain de Zanzibar (EACMZV), East African cassava mosaic Malawi virus (EACMMV), le East African cassava mosaic Kenya virus (EACMKV) et le South African cassava mosaic virus (SACMV) (Bisimwa *et al.*, 2012 ; Lett, 2014). Deux des maladies virales sont originaires de l'Inde : le virus indien de la mosaïque du manioc (ICMV) et le virus sri-lankais de la mosaïque du manioc (SLCMV) (Patil et Fauquet, 2009; Bisimwa *et al.*, 2012). Selon Harimalala (2012) et Tiendrébéogo *et al.* (2012), deux autres espèces virales africaines ont été récemment proposées, à savoir l'African cassava mosaic Burkina Faso virus (ACMBFV) et le Cassava mosaic Madagascar virus (CMMGV).

La recombinaison intra- ou inter-espèces a donné naissance à plusieurs espèces de la

souche EACMV (Tiendrébéogo *et al.*, 2012), qui joueraient un rôle important dans la sévérité des symptômes (Legg *et al.*, 2006). En particulier, le East African cassava mosaic virus-Uganda (EACMV-UG), le East African cassava mosaic virus-Kenya (EACMV-KE) ; et le East African cassava mosaic virus-Tanzania (EACMV-TZ) (Patil et Fauquet, 2009).

Le virus transmettant l'ACMV possède un génome bipartite, comprenant la composante appelée ADN-A nécessaire à la réplication et au conditionnement du virus ; et une autre composante appelée ADN-B, nécessaire au déplacement du virus (Hanley-Bowdoin *et al.*, 1999). Ces deux composants circulaires de l'ADN sont chacun composés d'environ 2,8 Kb (Fauquet *et al.*, 2003).

Les boutures de manioc affectées utilisées pour la multiplication végétative de la culture constituent le moyen le plus efficace de dissémination de l'agent infectieux de la mosaïque (infection primaire). Le virus est également transmis d'une plante à l'autre dans les champs par l'aleurode ou mouche blanche, *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera : Aleyrodidae) ; un petit hémiptère d'environ 1 mm (Fargette *et al.*, 1990 ; Bock, 1994 ; Legg, 1994). Deux autres espèces d'aleurodes (*B. afer* Priesner et Hosney et *Aleurodicus dispersus* Russell) ravagent également les champs de manioc en Afrique et en Inde. L'aleurode (*B. tabaci*) est considéré comme le principal vecteur du CMD, dont la prévalence est souvent attribuée à la culture continue de cultivars sensibles (Fargette *et al.*, 1994), à l'utilisation de matériel de propagation malade (Storey et Nichols, 1938) et à l'augmentation de la pression d'innoculation du virus due à l'activité accrue du vecteur (Fargette *et al.*, 1990 ; Mahungu *et al.*, 2022). Jusqu'à présent, aucun cas de transmission du virus par les semences ou par des moyens mécaniques n'a été signalé. Cependant, la mosaïque est également transmise à des espèces végétales autres que le manioc, en particulier les légumineuses *Pueraria javanica* et *C. pubescens* (Monde, 2010).

La mosaïque africaine du manioc se manifeste par une décoloration sévère, le plus souvent associée à une déformation plus ou moins importante des feuilles (Tiendrébéogo *et al.*, 2009). En effet, la maladie provoque principalement une panachure vert clair à jaunâtre du limbe sur les jeunes feuilles, qui se déforme, se boursoufle et croît de manière asymétrique après l'arrêt du développement des parties infectées (Fauquet et Fargette, 1990 ; Zinga, 2012). Ces déformations peuvent couvrir de 20 à 100% de la feuille (Fargette, 1987).

Une infection précoce et sévère affecte le développement de l'ensemble de la plante et ralentit la croissance entraînant des déformations, des décolorations et une réduction de la taille des feuilles (Zinga, 2012). La base de certaines folioles est réduite à la nervure principale et à la plante (Fauquet et Fargette, 1990). La croissance de la plante étant entravée par cette déformation, il y a une réduction des rendements en racines.

La gravité de la maladie est quantifiable selon l'indice de gravité des symptômes (SGI) utilisant l'échelle de Hahn (1980), qui varie de 1 à 5. Les feuilles sévèrement atteintes sont réduites, déformées, recroquevillées et caractérisées par la présence de parties jaunâtres alternant avec des parties vertes normales. Les plantes affectées par l'ACMV sont généralement rabougries (Storey et Nichols, 1938). L'objectif de cette étude était d'établir les incidences moléculaires des virus associés au CMD et leur distribution spatio-temporelle dans la province du Sud-Kivu de la République démocratique du Congo.

MATERIELS ET METHODES

Collecte d'échantillons. Au total, 590 échantillons de feuilles de manioc, dont 549 symptomatiques et 41 asymptomatiques, ont été collectés dans cinq territoires de la province du Sud-Kivu, en novembre 2020 et mars 2022. Les territoires comprenaient Kalehe, Idjwi, Kabare et Uvira, situés aux latitudes de plus de 1500 mètres et 800 mètres respectivement.

Les échantillons ont été analysés par PCR sur électrophorèse sur gel, en utilisant les procédures décrites par le protocole harmonisé du programme d'épidémiologie virale de l'Afrique Central et de l'Ouest. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux obtenus par d'autres (Mahungu *et al.*, 2004 ; Tata-Hangy *et al.*, 2003 ; 2007 ; Bisimwa *et al.*, 2012 ; 2015 ; 2019) afin d'établir l'évolution de la maladie CMD dans la province du Sud-Kivu.

Maladie dans les champs. L'incidence de la maladie a été évaluée en comptant les plantes malades sur l'ensemble des plantes du champ enquêté. Selon l'échelle définie par Mouketou *et al.* (2022), si l'incidence moyenne est comprise entre : 0-25% alors le niveau d'incidence est faible ; 25-50% le niveau d'incidence est modéré ; 50-75% le niveau

d'incidence est élevé et 75-100% le niveau d'incidence est très élevé. La gravité du CMD au champ a été évaluée sur les cinq premières feuilles apicales selon l'échelle de gravité allant de 1 à 5, comme illustré dans la Figure 1.

Analyses moléculaires

Extraction de l'ADN. L'extraction de l'ADN des feuilles de manioc a été réalisée à l'aide de la méthode CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide), modifiée par (Lodhi *et al.*, 1994). Ainsi, 0,05 g de chaque échantillon a été broyé dans 1800 µl de tampon contenant 2 g de CTAB (2%), 4,09 g de NaCl (1,4 M), 200 µl de B-mercaptol-Ethanol et 100 ml d'eau moléculaire. L'ADN extrait a été conservé à -20 °C avant d'être analysé par PCR.

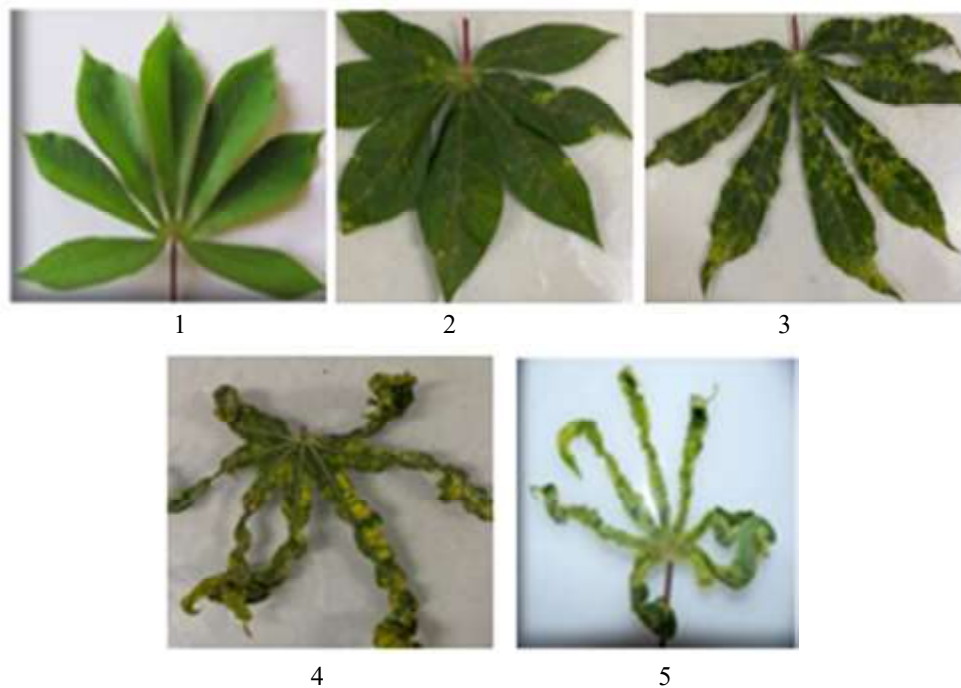


Figure 1. Echelle de sévérité de Symptômes de la MAM utilisée (WAVE, 2022).

Légende : Niveau 1 : Pas de symptômes visibles sur la feuilles ; 2 : Apparition des légères plages chlorotiques sur la feuille ; 3 : Plages chlorotiques sur presque toutes la feuille sans déformation de la surface foliaire ; 4 : Plages chlorotiques couvrant la majeure partie de la feuille, accompagnée de déformation, recroquevillement et réduction de la surface foliaire et 5 : Mosaïque sévère, feuilles tordues, déformées et pratiquement réduites aux nervures. WAVE : West African Virus Epidemiology.

Amplification par réaction en chaîne de la polymérase (PCR). Les amorces listées dans le Tableau 1 ont été utilisées pour la détection des différentes souches virales associées à la mosaïque du manioc.

L'amplification par PCR a été réalisée en utilisant le protocole harmonisé du Programme d'épidémiologie virale en Afrique centrale et de l'Ouest. Le programme PCR comprenait 35 cycles après une dénaturation initiale à 95 °C pendant 4 minutes et une dénaturation finale à 94 °C pendant 1 minute. Le recuit a été effectué à 54 °C pendant 1 minute, tandis que l'élongation initiale a été effectuée à 72 °C pendant 1 minute et l'élongation finale à 72 °C pendant 10 minutes. Pour chaque échantillon, un volume total de 25 µl composé de 5 µl d'ADN et de 20 µl de mélange PCR, comprenant les éléments énumérés dans le Tableau 2, a été préparé.

Migration des produits PCR sur Gel d'Agarose par électrophorèse. Les amplicons (produits PCR) migré par électrophorèse sur gel d'agarose 1,2% (1,2g du gel d'agarose dans 100 ml de TAE (1M) à 90 volt pendant 45 min.

Analyse des données. Les résultats de l'analyse moléculaire ont été analysés comme suit :

Incidence moléculaire =

$$\frac{\text{Nombre des échantillons testés positifs}}{\text{Total des échantillons testés}} \times 100$$

..... (Equation 1)

Les données géo référencées de surveillance sur le terrain, ainsi que celles obtenues après l'analyse moléculaire, ont été utilisées pour produire des cartes à l'aide du logiciel QGIS version 3.24 : (WGS-84).

Les statistiques inférentielles axées sur l'Analyse des Variances Moléculaires (AMOVA), le test de proportion, le Chi-carré et l'Analyse des Composantes Hiérarchiques

(ACPH) ont été réalisées par le logiciel R studio version 4.3.0.

RESULTATS

Diversités des virus associés au CMD.

L'analyse moléculaire a révélé que le virus africain de la mosaïque du manioc (ACMV) était la souche la plus répandue, suivie par la variante ougandaise du virus de la mosaïque du manioc de l'Afrique de l'Est (EACMV-UG), tous deux largement répandus dans le Sud-Kivu (Tableau 3). L'infection mixte de ces deux souches était moins fréquente. La variante camerounaise du virus de la mosaïque du manioc de l'Afrique de l'Est (EACMCV) n'a été détectée que dans la région de Kalehe. Des souches non identifiées ont été obtenues à l'aide de l'amorce générique et comprenaient une large distribution et abondance variable mais relativement faible. La Figure 2 ci-dessous illustre quelques échantillons positifs et négatifs à la PCR avec différentes amorces.

Distribution des virus de la mosaïque africaine du manioc dans la Province du Sud Kivu.

La distribution spatio-temporelle des virus de la pomme de terre dans le Sud-Kivu, en République démocratique du Congo, la distribution spatio-temporelle des virus dans le Sud-Kivu, en République démocratique du Congo, est présentée dans la Figure 3.

La Figure 3 révèle une large distribution des souches virales dans les territoires de Kalehe, Idjwi, Kabare et Walungu en province du Sud-Kivu. Les souches les plus abondantes étaient celles de l'ACMV (20,84%), suivies par la souche EACMV-UG (8,81%), les souches non spécifiées (7,45%), l'infection mixte ACMV+EACMV-UG (2,54%) et enfin la souche EACMCV (2,45%).

Incidence sur le terrain. L'ampleur de la maladie sur terrain est donnée sur la Figure 4 suivant :

D'après la prévalence de l'incidence (Fig. 4) la mosaïque africaine du manioc était

TABLEAU 1. Amorces utilisées pour la détection des souches virales au CMD dans les échantillons de feuilles de manioc

Séquences des amorces (5'-3')	Amorce	Sens	Virus détecté	Taille attendue
ATGTCGAAGCGACCAAGGAGATTGTTA TTAATTGCCAATACT	JSP001JSP002	Sens/Anti-sens	ACMV DNA-A	783 pb (Pita <i>et al.</i> , 2001)
ATGTCGAAGCGACCAAGGAGATCCTTT ATTAATTGTCACTGC	JSP001JSP003	Sens/Anti-sens	EACMV DNA-A	780 pb (Pita <i>et al.</i> , 2001)
TCGGGAGTGATACATGCGAAGGCCGGC TACACCAGCTACCTGAAAGCT	ACMVBFAACMVBR	Sens/Anti-sens	ACMV DNA-B	628 pb (Matic <i>et al.</i> , 2012)
CRTCAATGACGTTGTACCAGGT TTGC AGAGAACTACATC	CMB Rep FEACMV RepR	Sens/Anti-sens	EACMV DNA-A (AC1)	650 pb (Alabi <i>et al.</i> , 2008)
GGATACAGATAGGGTCCCACGACGAG GACAAAGAAITCCAAT	VNF031/FVNF032/R	Sens/Anti-sens	EACMV-CM DNA-A (AC2/AC3)	~ 560 pb (Fondong <i>et al.</i> , 2000)
GCAGTGAATGAGTTCCCCGGTCCGATTC CGCTGGCGGGCCATGGAGACC	ACMV2IFor ACMV2IRev	Sens/Anti-sens	DNA-A ((AC3-AC2-AC1) de ACMV, EACMCV, EACMKV, EACMMV, EACMZV et SACMV	552 pb (Matic <i>et al.</i> , 2012)

TABLEAU 2. Composition du mix PCR

Réactifs	Concentration initiale	Concentration finale	Volume pour une réaction (µl)
Tampon coloré	5x	1x	5
MgCl ₂	25Mm	1Mm	1
dNTP	10 Mm	0,2Mm	0,5
Amorce1	10 µM	0,4 µM	1
Amorce2	10µM	0,4 µM	1
Go taq polymérase	5 u/µl	0,625 u/µl	0,125
ADN	-	100 ng/µl (1/50 ^e)	5
H ₂ O qsp 25µl	-	-	11,375
Total			25

Nous avons utilisé les tubes de 0,2 ml dans lesquels était préparé le mix PCR composé des éléments cités dans le tableau 2 pour l'amplification PCR

TABLEAU 3. Incidence moléculaire pour les échantillons de feuilles de manioc obtenus au Sud-Kivu en République Démocratique du Congo

Territoires	Echantillons	ACMV	EACMV-UG	ACMV + EACMV -UG (%)	EACMCV (%)	SNSP	Total testés positifs (%)
Kalehe	140	39(27,85)	23(16,42)	7(5)	4(2,45)	2(1,42)	75(53,57)
Idjwi	130	29(22,30)	9(6,92)	5(3,84)	0(0)	4(3,07)	49(37,69)
Kabare	140	44(31,42)	11(8,85)	3(2,14)	0(0)	15(10,71)	77(55)
Walungu	140	11(8,85)	5(3,57)	0(0)	0(0)	23(16,42)	39(27,85)
Uvira	40	0(0)	4(10)	0(0)	0(0)	0(0)	4(10)
Total	590	123(20,84)	52(8,81)	15(2,54)	4(0,67)	44(7,45)	244(41,35)

Légende : ACMV : African Cassava Mosaic Virus, EACMV-UG : East African Cassava Mosaic Virus-Uganda variant, EACMCV : East African Cassava Mosaic Cameroun virus et SNSP : Souches Non Spécifiées

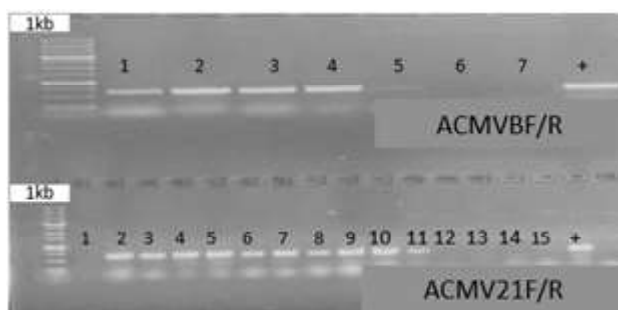


Figure 2. Gél électrophorèse avec l'amorce spécifique ACMV et générique ACMV21F/R.

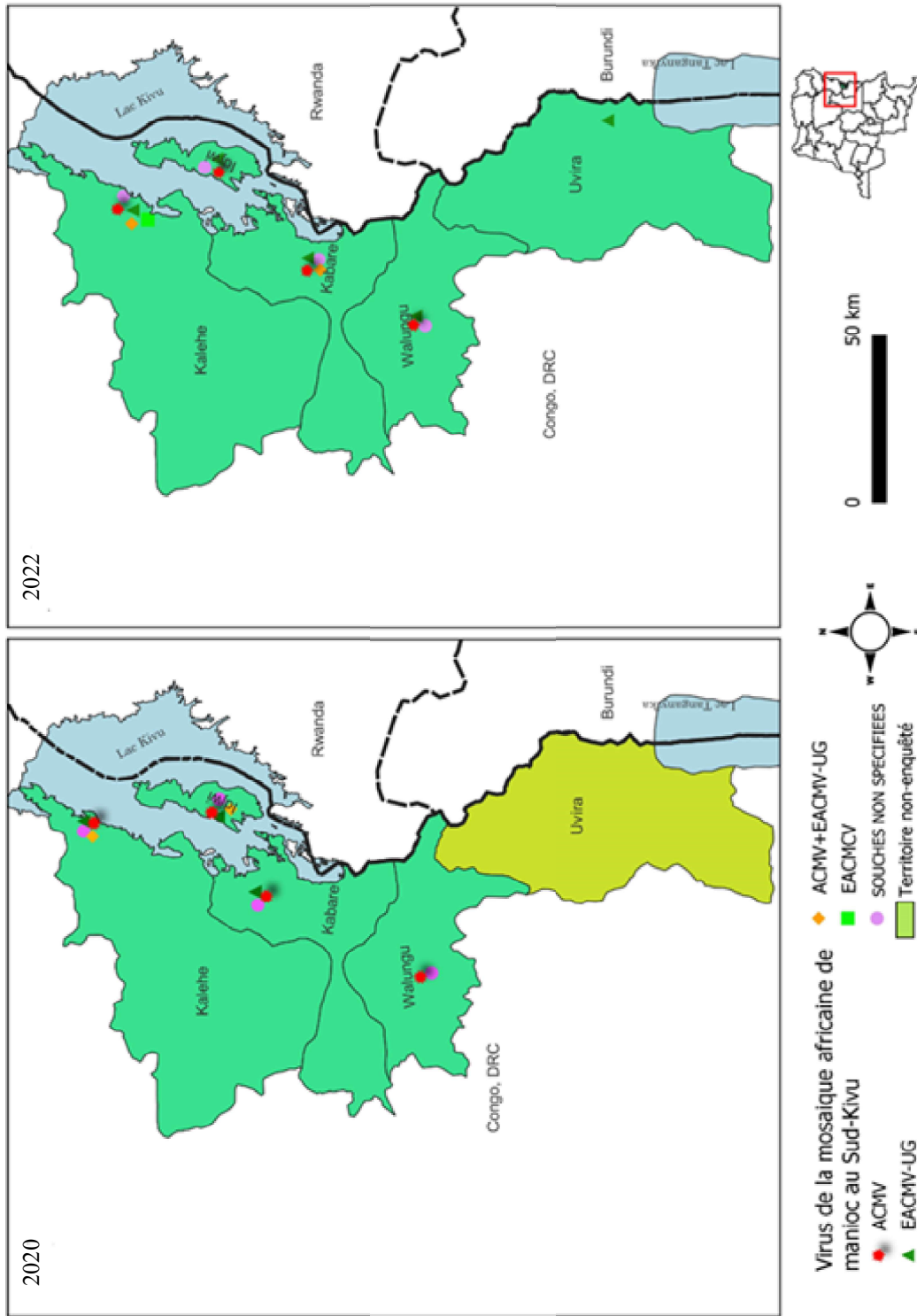


Figure 3. Distribution spatio-temporelle des virus de la CMD dans le Sud-Kivu, en République démocratique du Congo.

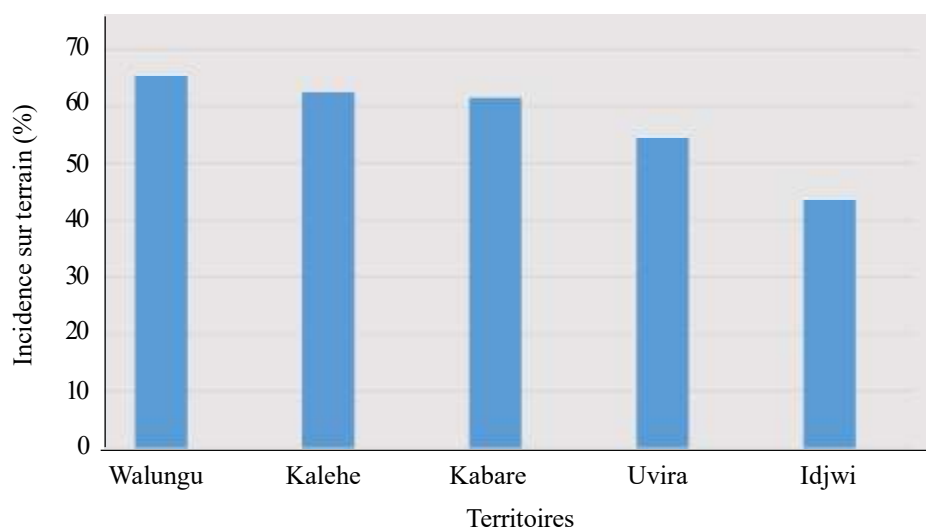


Figure 4. Incidence en champs dans les territoires du Sud-Kivu en République Démocratique du Congo.

largement répandue dans la zone d'étude, avec des incidences moyennes par territoire à Walungu (65,25%), suivi de Kalehe 62,5% plus Kabare (61,5%) ; Uvira (54,4%) et enfin Idjwi (43,5%).

La mise à jour des incidences moléculaires et de l'évolution des virus responsables de la mosaïque africaine du manioc est donnée dans le Tableau 3.

L'incidence moléculaire moyenne de la maladie de la mosaïque africaine du manioc était de 41,35%. Sur le plan numérique, l'incidence moléculaire était élevée à Kabare (55%) suivi de Kalehe (53,57%) Walungu (27,85%) et était faible à Uvira (10%).

Les virus EACMV-UG étaient répandus dans tous les territoires avec une incidence élevée à Kalehe 16,42% contre 3,57% à Walungu.

Une faible proportion d'infection mixte (ACMV+EACMV-UG) a été enregistrée à Kalehe, Idjwi et Kabare avec respectivement 5,%, 3,84% et 2,14%.

Les virus EACMCV a été détecté seulement dans le territoire de Kalehe (2,45%). 16,42% d'échantillons testés à Walungu, 10,71 % à Kabare et 3,07% à Idjwi 1,42% à Kalehe étaient négatifs à toutes les amorces à l'exception de

l'amorce ACMV21F/21R qui détecte une gamme large des souches virales associées à la mosaïque africaine du manioc.

Dans le territoire d'Uvira 90% d'échantillons étaient testés négatifs à toutes les souches à l'exception de la souche EACMV-UG à laquelle 10% d'échantillons étaient positifs. Quelques échantillons étaient positifs uniquement à l'amorce générique ACMV21F/ACMV21R avec 16,42% à Walungu, 10,71% à Kabare, 3,07% à Idjwi et 1,42% Kalehe. Le teste de chi-deux de conformité, de P-value = $2.2e-16$ \hat{A} 0,05 a confirmé la différence significative entre les incidences moléculaires des différentes souches virales détectées.

Sévérité en champ et incidence moléculaire.

Le Tableau 4 compare les différents niveaux de sévérité avec les incidences moléculaires des virus détectés.

Les souches des virus ont été détectées suivant les niveaux de sévérité à l'exception du niveau 5. Il s'est observé qu'aucun échantillon de la collection de notre étude n'était de ce niveau. Néanmoins, à la lumière de ces résultats, les données ont montré une incidence moléculaire élevée issue respectivement des sévérités 3 et 2. Cette

TABLEAU 4. Sévérité en champ et incidence moléculaire moyen (%)

Sévérité	ACMV (%)	EACMV-UG (%)	ACMV + EACMV-UG (%)	EACMCV	SNSP
1	15(12,19)	11(20,37)	3(20)	0(0)	12(27,27)
2	44(35,77)	14(25,92)	4(26,66)	0(0)	13(29,54)
3	54(43,90)	24(44,44)	6(40)	0(0)	17(38,63)
4	10(8,13)	5(9,25)	2(13,33)	4(100)	2(4,54)
5	-	-	-	-	-
Total	123	54	15	4	44

supériorité serait due au fait que moins d'échantillons étaient du niveau 4 et d'autres échantillons de niveau 1, c'est-à-dire asymptomatique au champ étaient aussi négatifs à l'analyse.

Au seuil de 1% de signification, ($r = -002$) il n'y a pas eu de corrélation entre la sévérité observée en champ avec l'incidence moléculaire dans les échantillons et cela grâce à l'analyse des composantes principales Hiérarchiques (ACPH). Quel que soit le niveau de sévérité, quelques échantillons ont été testés positifs et cette observation a confirmé que certains échantillons apparemment sains grâce au diagnostic visuel étaient testés positifs au diagnostic moléculaire.

DISCUSSION

Les souches virales associées à l'ACMV sont abondantes (Tableau 3) et largement distribuées dans le Sud-Kivu de la RDC (Fig. 3).

Le virus de la mosaïque africaine du manioc était plus abondant (20,84%) que les souches EACMV-UG (8,81%), et la souche d'infection mixte (ACMV+EACMV-UG, 2,54%). Ainsi, la région étudiée est principalement ravagée par l'ACMV, bien que les autres groupes viraux aient le potentiel d'émerger et de dépasser la gravité de l'ACMV. Davantage d'efforts de contrôle devraient être dirigés vers l'ACMV, bien qu'une surveillance active soit impérative pour prévenir la prolifération des autres formes de maladies virales. Traore (2017), en

travaillant dans le Sud-Kivu, nous avons trouvé des plantes malades dans tous les territoires surveillés (Fig. 4), a également constaté que l'ACMV (46,55%) était le plus impliqué dans la maladie par rapport à l'EACMV (0,45%) ; il est important de recourir aux boutures saines pour la multiplication afin d'éviter la propagation de cette maladie.

La présence de résultats positifs de PCR pour des échantillons visuellement asymptomatiques souligne la sensibilité et l'efficacité relativement plus grandes de la procédure PCR. Des résultats similaires ont été obtenus par Boka (2016) en Côte d'Ivoire, où ils ont conclu que l'absence de symptômes sur les feuilles de manioc n'exclut pas la présence de maladies virales. Contrairement à nos résultats, en 2006, il a été constaté que l'ACMV avait une faible incidence moléculaire (4,4%) par rapport à l'EACMV-UG (42,4%) et l'ACMV+EACMV-UG 53,2% plus abondant. En 2012, les résultats de Bisimwa *et al.* (2012) ont également confirmé dans la province du Sud-Kivu, la présence des virus ACMV proportionnellement plus abondants que les virus EACMV-UG et l'infection mixte (ACMV+EACMV-UG). La variation temporelle de la diversité des maladies virales observée au fil des ans pourrait être attribuée aux caprices incessants du temps attribué aux effets du changement climatique, qui pourraient affecter certaines souches virales plus que d'autres, Monde (2010).

Le fait que 1,56 % des échantillons symptomatiques de terrain aient été testés

négatifs par PCR en utilisant les paires d'amorces JSP0001/0002, JSP001/0003, ACMVBF/ACMVBR, CMBRePF/EACMVRePR, VNF031/VNF032 et ACMV21F/ACMV21R (Tableau.3), est une confirmation supplémentaire de l'efficacité de la PCR à fournir des résultats plus fiables que les observations de terrain. Ceci pourrait également s'expliquer par des recombinaisons entre les virus infectant le manioc ; le cas de co-infection entre les virus de la mosaïque (virus ADN) et les virus de la striure brune du manioc (virus ARN) conduirait à ces résultats. Les 7,5% de souches virales non spécifiées détectées dans la présente étude, en utilisant l'amorce générique ACMV21F/R, pourraient s'expliquer par le fait que l'amorce ACMV21F/R détecte une large gamme de souches, Boka (2016). Néanmoins, ces souches non identifiées méritent des investigations systématiques supplémentaires afin de concrétiser les actions de contrôle de l'ACMA en RDC.

Le déclin délibéré des incidences moléculaires de l'ACMV observées entre 2003 et 2022 (Tableau 3), pourrait être expliqué par les efforts antérieurs faits par différentes organisations comme l'IITA, la FAO, l'INERA, le SENASEM et le WAVE, qui ont rigoureusement promu la sélection, la multiplication de boutures de manioc saines et la dissémination de variétés résistantes à la mosaïque.

CONCLUSION

Cette étude a révélé deux souches de virus associées à la mosaïque africaine du manioc, l'ACMV étant plus abondant (20,84%) que l'EACMV-UG (8,81%), bien que les deux soient largement répandus dans le Sud-Kivu en RDC. A l'exception d'Uvira qui n'avait que des virus EACMV-UG, tous les territoires étaient infestés par une diversité de virus menaçant les niveaux de production de manioc. Il a été noté un certain nombre de zones floues qui nécessiteront des recherches

supplémentaires il s'agit entre autres : les variations incohérentes des incidences moléculaires de l'ACMV observées entre 2003 et 2022 ; et les souches virales non identifiées détectées par PCR sur les échantillons de feuilles de manioc.

Il sera nécessaire d'effectuer une caractérisation moléculaire de ces souches non identifiées en séquençant les souches virales associées à la mosaïque et les analyses moléculaires liées à la double infection (mosaïque et stries brunes) dans le Sud-Kivu.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été soutenu par la Fondation Bill & Melinda Gates et le Bureau des Affaires étrangères, du Commonwealth et du Développement du Royaume-Uni (FCDO) sous le numéro de subvention OPP1082413 au Programme d'épidémiologie virale d'Afrique centrale et occidentale (WAVE) pour les cultures à racines et tubercules grâce à une subvention de l'Université Félix Houphouët-Boigny (UFHB) à l'Institut Facultaire des Sciences Agronomiques de Yangambi. Les auteurs remercient tous les chercheurs de WAVE IFA-Yangambi et les agriculteurs de manioc de la province du Sud-Kivu.

REFERENCES

- Bigirimana, S. et Legg, J.P. 2007. La menace de la pandémie de la mosaïque du manioc sur la production et ses conséquences au Burundi. Proceeding of the 13th ISTRC Symposium, Arusha, Tanzanie. pp. 359-364. www.istrc.org
- Bisimwa, E., Walangululu, J. and Bragard, C. 2012. Occurrence and distribution of cassava mosaic Begomovirus related to agro-ecosystems in the Sud-Kivu province, democratic Republic of Congo. *Asian Journal of Plant Pathology* 6(1):1-12. doi: <https://10.3923/ajppaj.2012.1.12>
- Bisimwa, E., Birindwa, D.R., Yomeni, M.O., Rudahaba, N., Byamungu, K. and Bragard,

- C. 2019. Multiple cassava viruses co-infections and resurgence of pests are leading to severe symptoms and yield losses on cassava in the South-Kivu Region, Democratic Republic of Congo. *American Journal of Plant Science* 10(11): 1969-1988.
- Bock, K.R. and Woods, R.D. 1983. The etiology of cassava mosaic disease. *Plant Disease* 67:994-995
- Bock, K.R. 1994. The spread of African cassava mosaic geminivirus in coastal and Western Kenya. *Tropical Science* 34:92-101.
- Boka, Y.T. 2016. Etude épidémiologique de la maladie de la mosaïque du manioc [*Manihot esculenta* Crantz] (euphorbiaceae) dans quelques régions du sud-est de la Côte d'Ivoire. Mémoire de D.E.S. Université Nangui Abrogoua. UFR des Sciences de la Nature, Abidjan, Côte d'Ivoire. 47pp.
- Calvert, L.A. and Thresh, J.M. 2002. The viruses and virus diseases of cassava. In: Hillocks, R.J., Thresh, J.M. and Bellotti, A.C. (Eds.). pp. 237-260. Cassava: Biology, Production and Utilisation. CAB International. London, U.K.
- Colvin, J., Omongo, C.A., Maruthi, M.N., Otim Nape, G.W. and Thresh, J.M. 2004. Dual begomovirus infection and high *Bemisia tabaci* populations: Two factors driving spread of cassava mosaic disease pandemic. *Plant Pathology* 53(5):577-584.
- Ezeji, L.A., Abediji, A.O., Nkere, C.K., Ogbé, O.C., Onyeka, J.T. and Atiri, G.I. 2023. Viruses associated with cassava mosaic disease and their alternative hosts along Nigeria-Cameroon border. *African Crop Science Journal* 31(3):263-277. doi: <https://dx.doi.org/10.4314/acsj.v31i3.1>
- Fargette, D., Fauquet, C., Grenier, E. and Thresh, J.M. 1990. The spread of African cassava mosaic virus into and within cassava fields. *Journal of Phytopathology* 130:289-302.
- Fargette, D., Thresh, J.M. and Otim-Nape, G.W. 1994. The epidemiology of African cassava geminivirus: reversion and the concept of equilibrium. *Journal of Tropical Science* 34:123-133.
- Fargette, D. 1987. Epidémiologie de la mosaïque africaine du manioc en Côte d'Ivoire. Thèse de doctorant. ORSTOM. Paris, France. 243pp.
- Fauquet, C. and Fargette, D. 1990. African cassava mosaic virus: Etiology, epidemiology and control. *Plant Disease* 74:404-411. doi: <https://10.1094/PD-74-0404>.
- Fauquet, C., Bisaro, D.M., Briddon, R.W., Brown, J.K., Harrison, B.D., Rybicki, E.P., Stenger, D.C. and Stanley, J. 2003. Revision of taxonomic criteria for species demarcation in the family Geminiviridae and an updated list of begomovirus species. *Archives of Virology* 148:405-421.
- Fondong, V.N., Pita, J.S., Rey, M.E.C., Kochko, A., Beach, R.N. and Fauquet, C.M. 2000. Evidence of synergism between African cassava mosaic virus and new double-recombination geminivirus infecting cassava in Cameroon. *Journal of General Virology* 81:287-29. doi: 10.1099/0022-1317-81-1-287
- Hahn, S.K., Terry, E.R. and Leuschner, K. 1980. Breeding cassava for resistance to cassava mosaic disease. *Euphytica* 29: 673-683.
- Hanley-Bowdoin, L., Settlege, S.B., Orozco, B.M., Nagar, S. and Robertson, D. 1999. Geminiviruses: Models for plant DNA replication, transcription and cell cycle regulation. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18:71-106.
- Harimalala, M. 2012. Epidémiologie moléculaire, diversité génétique et phylogeographie des Begomovirus responsables de la maladie de la mosaïque du manioc à Madagascar. Thèse d'Etat. Ecole Doctorale des Sciences, Technologies et Santé Edition n°542.

- CIRAD Université de La Réunion, France. 232pp.
- Hong, Y.G., Robinson, D.J. and Harrison, B.D. 1993. Nucleotide Sequence evidence for the occurrence of three distinct white fly transmitted geminiviruses in cassava. *Journal of General Virology* 74:2437-2443.
- Legg, J.P. 1994. Bemisia tabaci: The white fly vector of African Cassava geminivirus in Africa: An ecological perspective. *African Crop Science Journal* 2:437-448.
- Legg, J.P. and Fauquet, C.M., 2004. Cassava mosaic geminiviruses. *African Journal of Plant Molecular and Biology* 56:585-586.
- Legg, J.P., Owor, B., Sseruwagi, P. and 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. doi: 10.1016/S0065-3527(06)67010-3.
- Legg, J.P., Kumar, P.L., Makesh Kumar, T., Tripathi, L., Ferguson, M., Edward, K., Ntawuruhunga, P. and Cuellar, W. 2015. Cassava virus diseases: Biology, epidemiology, and management. *Advances in Virus Research* 91:85-142. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.aivir.2014.10.001>
- Lett J.-M. 2014. Diversité, évolution et émergence des phytovirus à transmission vectorielle : La chronique des géminivirus. Thèse de doctorant. Université de La Réunion. Saint Denis, France. 85pp.
- Mahungu, N.M., Ndonga, A., Kendanga, T. et Bidiaka, S. 2022. Le manioc en RD Congo. Institut International d'Agriculture Tropicale. CGIAR. ISBN :978-99951-69-07-7.372P.
- Monde, G. 2010. Epidémiologie, diversité génétique et phytogéographie des virus de la mosaïque africaine de manioc dans la région de Yangambi en RD Congo. Thèse de doctorat, UCL, Louvain-la-Neuve, Belgique. 181pp.
- Mouketou, A., Koumba, A.A., Gnacadja, C., Zinga, C.R., Abessolo, C.M., Ovono, A.P.M., Sevidzem, S.L., Mintsá, R., Lepengue, A.N. and Mavoungou, J.F. 2022. Cassava mosaic disease incidence and severity and whitefly vector distribution in Gabon. *African Crop Science Journal* 30: (2):167-183. doi: <https://dx.doi.org/10.4314/acsj.v30i2.5>
- Ndunguru, J., Legg, J.P., Aveling, T.A.S., Thompson, G. and Fauquet, C.M. 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* 2:21-43. doi: 10.1186/1743-422X-2-21.
- Patil, B.L. et Fauquet, C.M., 2009. Cassava mosaic geminiviruses: Actual knowledge and perspectives, *Molecular Plant Pathology* 10(5):685-701. doi: <https://10.1111/j.1364-3703.2009.00559.x>.
- Pita, J.S., Fondong, V.N., Sangare, A., Otim-Nape, G.W., Ogwal, S. and Fauquet, C.M. 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(3):655-665. doi:10.1099/0022-1317-82-3-655
- Seif, A.A. 1982. Effect of cassava mosaic virus on yield of cassava. *Plant Disease* 66:661-662.
- Sseruwagi, P., Sserubombwe, W.S., Legg, J.P., Ndunguru, J. and Thresh, J.M. 2004. Methods of surveying the incidence and severity of cassava mosaic disease and whitefly vector populations on cassava in Africa: A review. *Virus Research* 100:129-142. doi: 10.1016/j.virusres.2003.12.021.
- Storey, H.H. and Nichols, R.F.W. 1938. Studies of the mosaic disease of cassava. *Annals for Applied Biology* 25:790-806.
- Tata-Hangy, W.K., Koffi-Tete, M., Obonyo, R., Okao-Okuja, G., Asiimwe, P. and Legg, J. 2007. Monitoring and diagnostic survey of cassava mosaic virus disease (CMD) in eastern Democratic Republic of Congo

- (part 1). A report to IITA/CRS Crop Crisis Control Project. IITA, Ibadan, Nigeria. 9pp.
- Terry, E.R. and Hahn, S.K. 1980. The effect of cassava mosaic disease on growth and yield of local and improved variety of cassava. *Tropical Pest Management* 26:34-37.
- Thresh, J.M., Fishpool, L.D., Otim-Nape, G.W and Fargette, D. 1994. African cassava mosaic disease: an underestimated and unsolved problem. *Tropical Journal of Science* 34:3-14.
- Tiendrébéogo, F., Lefeuvre, P., Hoareau, M., Traoré, V., Barro, N., Reynaud, B., Traoré, A., Konate, G., Traoré, O. and Lett, J.M. 2009. Occurrence of East African cassava mosaic virus-Uganda (EACMV-UG) in Burkina Faso. *Plant Pathology* 58:783. doi: 10.1111/j.1365-3059.2009.02110.x
- Tiendrébéogo, F. 2010. Caractérisation et aspects épidémiologiques des Begomovirus infectant les plantes maraîchères et le manioc au Burkina Faso. Thèse de doctorant. Université de Ouagadougou. Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso. 154pp.
- Tiendrébéogo, F., Lefeuvre, P., Hoareau, M., Harimalala, M.A., Debruyan, A., Villemot, J., Traoré, V.S.E., Konate, G., Traoré, A.S., Barro, N., Reynaud, B., Traoré, O and Lett, J.M. 2012. Evolution of African cassava mosaic virus by recombination between bipartite and monopartite begomoviruses. *Virology Journal* 9:67. doi: 10.1186/1743-422X-9-67.
- Traoré, T.E. 2017. Diversité des virus de la mosaïque africaine du manioc au Burkina Faso. Mémoire de D.E.S. Université Ouagadougou IPR Joseph Ki-zerbo. Unité de Formation et de Recherche en sciences de la vie et de la terre, Burkina Faso. 48pp.
- Warburg, O. 1894. Die Kuiturplazen usambaras. Mitt. Deutsh. Schutzgeb 7,131. *Annals of Applied Biology* 25(4):790-806.
- Zerbini, F.M., Briddon, R., Idris, A., Martin, D., Moriones, E. et Navas, C.J. 2017. ICTV Virus Taxonomy Profile: Geminiviridae. *Journal of General Virology* 98(1):131-133. doi: 10.1099/jgv.0.000672.
- Zhou, X. 2013. Advances in understanding begomovirus satellites. *Annual Review of Phytopathology* 51:357-381. doi: 10.1146/annurev-phyto-082712-102234.
- Zinga, I. 2012. Epidémiologie de la maladie de la mosaïque du manioc en République Centrafricaine, résistance variétale et assainissement par thérapie. Thèse de doctorant. Université de La Réunion/ Université de Bangui. Sciences, Technologie et santé. ED N°542. République Centrafricaine. 169pp.