

Approche de l'étude sérologique des mycoplasmes du jaunissement mortel des cocotiers en Afrique de l'Ouest. (An approach to the serological study of the mycoplasmas of Lethal Yellowing in the coconuts in West Africa).

M. DOLLET, C. SAILLARD, O. GARCIA-JURADO, J. C. VIGNAULT, D. GARGANI (Département Virologie, I. R. H. O./GERDAT, B. P. 5036, 34032 Montpellier, Cedex, France), J. G. TULLY (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20014, U. S. A.), J. M. BOVE.

Des tests par la méthode Elisa ont été réalisés sur des échantillons d'inflorescences et de racines de cocotiers malades du Togo. Les échantillons ont été prélevés sur trois cocotiers malades, un présentant les premiers symptômes de la maladie, c'est-à-dire la chute des noix immatures, un au stade du jaunissement des feuilles basses, et un avec un jaunissement généralisé, ainsi que sur un témoin sain dans une zone exempte de maladie. Les inflorescences présentaient les symptômes caractéristiques associés à la présence de MLO tels que nous les avons définis dans nos travaux antérieurs. Les échantillons avaient été testés contre les antiséras des variétés suivantes : *Acholeplasma axanthum* S 743, *A. oculi*, *A. modicum*, *A. granularum*, *A. laidlawii* PG 8 et *Spiroplasma citri* (R8 A2), les plantes témoins étant des pervenches (*Vinca rosea*) infectées par *Spiroplasma citri* et des pervenches saines. Seules les pervenches infectées par *S. citri* ont donné un test Elisa positif avec l'antisérum correspondant. Un contrôle d'une inhibition possible des réactions sérologiques due à un phénomène d'oxydation des broyats de tissu de cocotier a été réalisé, en ajoutant des broyats de cocotiers sains ou malades à 1 — un échantillon de culture de *A. axanthum* et *A. laidlawii* et 2 — des antigènes purifiés des différentes variétés de mycoplasmes testées contre leur antisérum. Les résultats sont exposés. L'examen en microscopie électronique d'échantillons de ces mêmes inflorescences fixés et inclus révèle la présence de faibles concentrations de MLO intraphloémiques.

Serological tests by the Elisa method were carried out on samples of inflorescences and roots from diseased coconuts from Togo. The samples came from three sick coconuts with : 1 — the early characteristic symptom of nut drop, 2 — yellowing of the lower leaves, and 3 — overall yellowing, as well as from a healthy control palm in an uncontaminated zone. The inflorescences had the characteristic symptoms associated with the presence of MLO as we defined them in our previous research. The samples were tested against antisera of the following strains : *Acholeplasma axanthum* S 743, *A. oculi*, *A. modicum*, *A. granularum*, *A. laidlawii* PG 8 and *Spiroplasma citri* (R8 A2), the plant control being periwinkles (*Vinca rosea*) infected by *Spiroplasma citri* and healthy periwinkles. Only the periwinkles infected by *S. citri* gave a positive Elisa test with the corresponding antiserum. Checks for a possible inhibition of the serological reactions by phenomena of oxidation of the ground coconut tissue were made, adding grindings of healthy or diseased coconuts to : 1 — sub-cultures of *A. axanthum* and *A. laidlawii* cultures, and 2 — purified antigens of the different strains of mycoplasma tested against their antiserum. The results are discussed. Electron microscope examination of samples of these same inflorescences fixed and included reveals the presence of low concentrations of intraphloemic MLO.

Les acholéplasmes et la maladie du jaunissement mortel. I. — Situation actuelle (*Acholeplasmas and Lethal Yellowing disease I. — Present status*).

S. J. EDEN-GREEN (Coconut Industry Board, P. O. B. 204, Kingston 10, Jamaica), J. G. TULLY (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20014, U. S. A.), R. TOWNSEND (John Innes Institute, Colney Lane, Norwich NR4 7UH, England).

Depuis l'isolement d'*Acholeplasma axanthum* dans la sève du cocotier [3^e Réunion de l'I. C. L. Y., p. 20], plus de 30 isolats semblables ont été obtenus à partir des tissus de la couronne de cocotiers affectés par le jaunissement mortel. Le taux d'isolement le plus élevé, 33 p. 100 des échantillons des deux cocotiers a été obtenu en filtrant des tissus de palmier macérés à travers des membranes filtrantes 0,65 µm dans des milieux standards pour mycoplasmes auxquels on a ajouté 10 p. 100 de sérum, 0,01 p. 100 de Tween 80 et 0,1 p. 100 de bovalbumine. Aucun isolat n'a été récupéré des mêmes lots de milieux inoculés à travers une membrane 0,22 µm. La plupart des isolats provenaient de tissus pourris ou en décomposition prélevés à la base des feuilles et d'inflorescences déployées et des tissus foliaires internes pourrissants, avant maturité ; plusieurs ont été récupérés dans les tissus de l'épiderme grattés à la base des feuilles ou des spathe déployées et deux venaient de tissus apparemment sains. Les essais métaboliques et sérologiques sur les isolats non clonés ont montré qu'environ les deux tiers étaient des souches de *A. axanthum*, et que la plupart des autres étaient apparentés à *A. oculi*. Les étales-

ments des bandes protéiques en électrophorèse sur gel s'accordaient globalement à ces résultats, mais indiquaient une variation considérable au sein des groupes sérologiques. Ces résultats montrent qu'au moins deux espèces de *Acholeplasma* sont associées à des palmiers souffrant du jaunissement mortel, soit comme épiphytes, saprophytes ou comme pathogènes.

Since the isolation of *Acholeplasma axanthum* from coconut phloem sap [I. C. L. Y. 3 proceedings, p. 20] more than thirty similar isolates have been recovered from crown tissues of coconut palms affected by lethal yellowing. The highest isolation rate, 13 p. 100 of samples from two palms, was obtained by filtering macerated palm tissues via 0,65 µm pore filters into conventional mycoplasma media supplemented with 10 p. 100 serum, 0,01 p. 100 Tween 80 and 0,1 p. 100 bovalbumin. No isolate was recovered from the same batches of media inoculated via 0,22 µm filters. Most isolates derived from rotten or decaying tissues at the base of expanded leaves and inflorescences and from rotting internal immature leaf tissues ; several were also recovered from epidermal tissues scraped off the bases of expanded leaves or spathe, and two were from apparently healthy tissues. Metabolic and serological tests on the uncloned isolates indicated that about two thirds were strains of *A. axanthum* and most of the remainder were related to *A. oculi*. Gel electrophoresis protein banding patterns showed general agreement with these results, but suggested considerable variation within the serological groups. These results demonstrate that at least two *Acholeplasma* spp. are associated with lethal yellowing diseased palms, either as epiphytes, saprophytes or pathogens.

Les acholéplasmes et la maladie du jaunissement mortel. II. — Essais de transmission (*Acholeplasmas and Lethal Yellowing disease II. — Transmission experiments*).

S. J. EDEN-GREEN (Coconut Industry Board, P. O. B. 204, Kingston 10, Jamaica), P. G. MARKHAM et R. TOWNSEND (John Innes Institute, Colney Lane, Norwich NR4 7UH, England).

La possibilité d'une éventuelle transmission d'acholéplasmes à des plantes a été étudiée en contrôlant la multiplication d'isolats injectés dans des vecteurs de maladie à jaunissement. Dans des essais préalables avec *Dalbulus maidis*, deux isolats ont atteint des titres de 10⁸ cfu par insecte pour tous les insectes échantillonnés dans les 7 jours suivant l'injection, mais trois autres cultures n'ont subsisté ou ne se sont multipliées que dans peu d'individus. Par la suite, 25 isolats ont été testés après injection dans *Euscelidius variegatus*, et environ un tiers s'est multiplié jusqu'à des titres de ± 10⁸ cfu par insecte. Ils comprennent des représentants des groupes d'*axanthum* et d'*oculi*. D'autres isolats ont vu leur croissance diminuée ou stoppée chez la plupart des cicadelles, mais quelquefois ils ont persisté ou se sont multipliés dans quelques individus ; dans certains de ces cas, la multiplication ou le déclin semblait être en rapport avec la dose d'organismes injectée. La répétition des essais avec des isolats clonés et non clonés représentatifs a donné des résultats stables. Il ne semble pas que les acholéplasmes aient été transmis aux plantes sur lesquelles les insectes contaminés se sont nourris ; un cas de transmission a été enregistré à la suite de l'alimentation sur membrane sur une solution de saccharose, mais il n'a pas été possible de reproduire ce phénomène. Des cicadelles qui se nourrissent de suspensions d'acholéplasmes à travers une membrane n'ont pas acquis ces organismes de façon systématique. Les résultats suggèrent que les acholéplasmes sont bien adaptés à la multiplication dans des cicadelles, probablement dans l'hémolymphe, mais qu'ils ne sont pas facilement acquis ou transmis par eux.

Potential transmission of acholéplasmas to plants was examined by monitoring the multiplication of isolates injected into « Yellow » disease-vectors. In preliminary tests using *Dalbulus maidis*, two isolates attained titres of 10⁸ cfu per insect in all insects sampled within 7 days of injection but three other cultures persisted or multiplied in only a few individuals. Twenty-five isolates were subsequently tested following injection into *Euscelidius variegatus* and about a third multiplied to titres of ca. 10⁸ cfu per insect. These included representatives of both the *axanthum* and *oculi* groups. Other isolates declined and died out in most leafhoppers but sometimes persisted or multiplied in a few individuals ; in some of these instances multiplication or decline appeared to be related to the dose of organisms injected. Repeated experiments with representative cloned and uncloned isolates gave consistent results. There was no evidence that acholéplasmas were transmitted to plants on which injected insects had fed ; one transmission was noted following membrane feeding on sucrose solution but this could not be repeated. Leafhoppers allowed to feed through membranes on acholéplasma suspensions did not acquire these organisms in a persistent manner. The results suggest that acholéplasmas are well adapted to multiplication in leafhoppers, probably in the haemolymph, but are not readily acquired or transmitted by them.