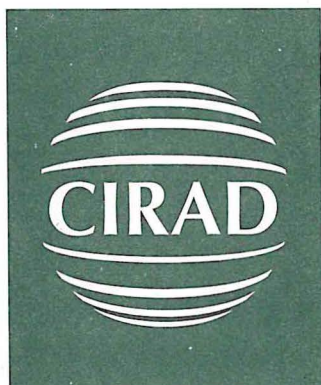


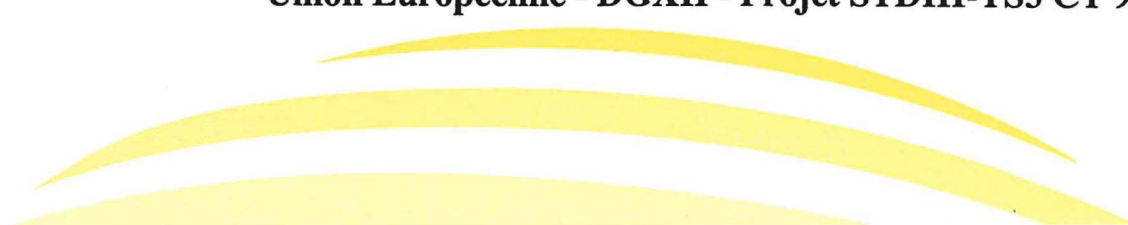


**EVALUATION ET CONTROLE DES
MALADIES VIRALES DU MAIS
EN AFRIQUE**

RAPPORT DE SYNTHESE

Juillet 1996

Union Européenne - DGXII - Projet STDIII-TS3 CT 920150



**EVALUATION ET CONTROLE DES
MALADIES VIRALES DU MAIS
EN AFRIQUE**

RAPPORT DE SYNTHESE

Juillet 1996

Union Européenne - DGXII - Projet STDIII-TS3 CT 920150

RAPPORT FINAL
FINAL REPORT

Numéro de contrat :

Contract number : **TS - 3CT920150**

▶ TITRE :	<i>EVALUATION ET CONTRÔLE DES MALADIES VIRALES DU MAIS EN AFRIQUE</i>
Title :	<i>ASSESSMENT AND CONTROL OF VIRAL DISEASES OF MAIZE IN AFRICA</i>
▶ CHEF DE PROJET : <i>Project leader :</i>	J. L. MARCHAND
▶ INSTITUTION-HOTE : <i>Host institution :</i>	Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement. Département des Cultures Annuelles (CIRAD-CA)
▶ ADRESSE : <i>Address :</i>	2477, avenue du Val de Montferrand BP 5035 34032 MONTPELLIER CEDEX 01, FRANCE
▶ TELEPHONE :	(33) 67.61.59.29
▶ FAX :	(33) 67.61.71.60
▶ PAYS/ INSTITUTIONS ASSOCIEES : <i>Associated countries/ Institutions :</i>	- Burkina/Institut d'Etudes et de Recherches Agricoles (INERA) - Cameroun/Institut de Recherches Agronomique (IRA) - Grande Bretagne/John Innes Center (J. I. C.)
▶ MOTS-CLES :	maïs ; viroses ; Afrique ; virologie ; épidémiologie ; amélioration des plantes ; résistance ; MSV ; MMV ; MStpV ; interactions virus-vecteurs-plante.
<i>Key-words :</i>	maize ; viral diseases ; Africa ; virology ; epidemiology ; plant breeding ; resistance ; MSV ; MMV ; MStpV ; MDMV ; virus-vector-plant interactions.

Résumé

L'objectif de ce projet, qui a été l'occasion de constituer une équipe de chercheurs du Burkina, du Cameroun, de France et de Grande Bretagne, était de contribuer à réduire les risques de perte de récolte liés aux maladies virales du maïs en Afrique. La présence dans cette équipe de virologues, d'entomologiste et de sélectionneur a permis de réaliser un ensemble cohérent de recherches sur les virus, les vecteurs et les résistances et sur les interactions entre ces trois protagonistes.

Des résultats importants ont été obtenus :

en terme de **méthodes**, avec un kit de diagnostic, l'amélioration de la technique d'électropénétrographie, les techniques d'élevage, d'infestations artificielles et de notations de symptômes.

en terme de **connaissances scientifiques**, avec notamment

- une étude poussée de la variabilité de la striure, des variations entre isolats provenant de différentes graminées jusqu'à celles existant dans un isolat provenant d'une seule plante de maïs,
- des travaux très complets sur l'épidémiologie, les plantes hôtes et les vecteurs du MSV qui met en évidence le rôle prépondérant des populations migrantes de cicadelles dans le déclenchement des épidémies de MSV malgré l'existence d'une population résiduelle en saison sèche, et précise les facteurs climatiques influant sur le déclenchement et le déroulement des épidémies,
- des résultats très nouveaux sur le comportement alimentaire des vecteurs par EPG. Les différents signaux ont été caractérisés de façon très précise, et la répartition en temps de l'activité alimentaire de *C. mbila* fourni une explication à la résistance à la transmission du virus,
- le déterminisme génétique de la résistance au MSV obtenue à La Réunion a été précisé, et celui de la résistance au MSV approché. Des lignées à résistance totale au MSV ont été obtenues pour la première fois. Cette résistance a été transférée dans une large gamme de variété et s'est révélée à la fois très forte et stable vis à vis des isolats de MSV d'Afrique et de l'Océan indien.

Certains de ces résultats sont déjà utilisables par le **développement**, comme le kit de diagnostic, la prévision de l'importance des épidémies de striure et l'utilisation des variétés résistantes.

Enfin, et c'est là une des conséquences majeures de ce projet, les partenaires souhaitent maintenir les liens qu'il a permis de créer.

1. INTRODUCTION

L'objectif ultime de ce projet était de contribuer à réduire les menaces de pertes de récolte liées aux maladies virales du maïs en Afrique de l'Ouest et du Centre. Deux approches complémentaires peuvent y concourir, les techniques agronomiques (à l'exclusion de la lutte chimique, peu efficace et coûteuse) et la résistance variétale.

Dans ces deux approches, une connaissance plus fine des virus à l'origine de ces maladies est nécessaire. Cette étude constitue l'une des voies de recherches majeures de ce projet, car elle fournit les données indispensables à une programmation efficace des recherches, en particulier variétale.

Le raisonnement de la lutte agronomique demande que soit mieux connue l'épidémiologie des viroses, ce qui nécessite d'analyser les composantes (virus, plantes hôtes, vecteurs, conditions climatiques) intervenant dans le déclenchement et l'extension d'une épidémie.

L'amélioration variétale se donne pour objectif de proposer des variétés résistantes à une ou plusieurs viroses. Pour y parvenir, des études sur les mécanismes de résistances, la génétique et l'hérédité des résistances, le mode de transmission des virus de l'insecte à la plante et la variabilité des virus sont nécessaires.

Les études sur la striure causée par le maïze streak virus (MSV) ont été privilégiées, en raison de l'importance économique de cette maladie en Afrique. Mais d'autres viroses, en particulier le maïze mosaïc virus (MMV) et le maïze stripe virus (MStpV), qui constituent une menace, devaient également être prises en compte.

Les partenaires de ce projet étaient :

l'INERA-Burkina, qui s'intéressait à l'épidémiologie de la striure sous ses différents aspects (virus, plantes hôtes, vecteurs, facteurs climatiques) et à la recherche, à la caractérisation et la répartition géographique des différentes viroses présentes en Afrique de l'Ouest.

l'IRA-Cameroun, qui participait aux études d'épidémiologie (avec l'INERA) et assurait le transfert de la résistance au MSV dans certaines variétés (avec le CIRAD-La Réunion).

le John Innes Center-Grande Bretagne se chargeait de la variabilité moléculaire des isolats de MSV, participait à des tests comparatifs de leur pathogénie (avec le CIRAD-LPRC) et étudiait le comportement alimentaire des vecteurs du MSV.

le CIRAD-LPRC à Montpellier avait la responsabilité de la mise au point d'un kit de diagnostic des viroses, menait l'étude des séquences nucléotidiques qui interviennent dans la virulence et des tests comparatifs de pathogénie des isolats de MSV (avec le J. I. C.) participait aux recherches sur les mécanismes de résistance de la plante au virus et à l'étude du comportement alimentaire de *C. mbila* (avec le CIRAD-La Réunion).

le CIRAD-la Réunion s'intéressait à tous les aspects concernant les résistances aux virus et aux insectes vecteurs et au transfert de ces résistances.

C'est donc un ensemble cohérent de recherches, couvrant les différents aspects du problème des viroses du maïs en Afrique de l'Ouest et du Centre, qui a été mis en oeuvre dans un projet à la fois inter-organismes et multidisciplinaire, puisqu'il rassemblait des virologues, des entomologistes et des généticiens sélectionneurs. Cette équipe à compétences multiples est une première sur ce sujet. Elle a permis d'étudier les virus, les insectes vecteurs et les résistances de la plante, mais aussi, et c'est là le plus original, les interactions entre ces trois protagonistes des épidémies de viroses.

Les recherches prévues ont pu, dans l'ensemble, être menées à bien, et les principaux objectifs ont été atteints.

2. MATERIEL ET MÉTHODES

21. VIROLOGIE

211. Méthodes biologiques

Prospections : Les prospections des différentes maladies dans les différents pays ont été réalisées dans les cultures de maïs, de sorgho et dans la flore graminéenne autour des champs et en pleine brousse. Les échantillons de plantes présentant des symptômes ont été collectés sous forme de plants entiers en pots ou de feuilles conservées dans la glace avant leur acheminement au laboratoire pour être analysés.

Evaluation de l'incidence des maladies : L'incidence des différentes maladies a été évaluée par sondage dans les champs inspectés. Dans chaque champ, le nombre de plants présentant des symptômes et le nombre total de plants ont été relevés dans cinq carrés de sondage de 10 m x 10 m chacun, situés aux quatre points cardinaux et au centre du champ. Dans le cas de la striure, le comptage des plants a été effectué sous arbres et à découvert. Dans les localités où les champs étaient de faible étendue, (champs de case en particulier), 1000 plants ont été inspectés. L'incidence dans le champ a été déterminée en calculant le rapport exprimé en % entre le nombre de plants malades et le nombre total de plants inspectés. Dans chaque localité cinq champs séparés d'au moins 500 m ont été inspectés.

Estimation de la densité des réservoirs du MSV : La densité des réservoirs a été relevée par comptage des différentes espèces infectées dans des carrés de sondage de 5 m x 5 m. Dans une même localité, les relevés ont été effectués dans dix carrés situés sous les arbres et à découvert.

Tests de transmission

-Transmission mécanique : Les feuilles portant les symptômes ont été broyées dans différentes solutions (tampon phosphate de potassium 0,01M pH 7,5 contenant 1 % de mercaptoéthanol pour l'inoculation du MStpV et du MMV et tampon phosphate de potassium 0,01M pH 7,4 pour l'inoculation du MDMV). Les extraits obtenus ont été filtrés sur une double couche de gaze et additionnés de carborundum. Ils ont été ensuite appliqués sur les feuilles de jeunes plants de différentes espèces (maïs, sorgho, mil, fonio et poacées). Les plants inoculés ont été gardés pendant un mois pour l'observation des symptômes.

-Transmission par insectes vecteurs : Trois espèces d'insectes ont été utilisés selon les cas: *Peregrinus maidis* pour les transmissions du MStpV et du MMV ; *Cicadulina triangula* et *Rhopalosiphum maidis* respectivement pour les transmissions du MSV et du MDMV. Les insectes ont été placés sur les plants présentant des symptômes pour une période d'acquisition de 3 min, 48 h, et 4 jours respectivement pour *R. maidis*, *C. triangula* et *P. maidis*. Les insectes ont ensuite été transférés sur de jeunes plants de maïs sensible (cv. Jaune Flint de Saria ou lignée M162W) par lots de 10 individus.

-Transmission par graines : Les graines récoltées de plants infectés ont été semées. Les plants issus de la germination ont été gardés à l'abri des insectes pendant un mois pour l'observation des symptômes.

Collecte des données climatiques et analyses de régressions : Au Burkina les données de plusieurs facteurs climatiques relevées pendant plusieurs années dans différentes localités ont été collectées au centre national de l'agrométéorologie. Il s'agissait de données mensuelles mais dans le cas de la pluviométrie, d'autres types de données (plurimensuelles, annuelles) ont été aussi testées. Pour chaque facteur climatique, les relevés ont été analysés par calcul de régression simple pour déterminer la dépendance de l'incidence de la maladie vis-a-vis de ce facteur. Les données collectées dans les différentes localités ont été testées parallèlement à celles collectées dans la seule localité de Bobo-Dioulasso située au coeur de la zone maïsicole. Les facteurs qui ont présenté des liaisons significatives avec l'incidence de la maladie ont été ensuite utilisés dans les calculs de régressions multiples. A La Réunion, les relevés proviennent de notre station météorologique.

Conservation d'isolats et création de souches hypervirulentes :

Pour limiter la variabilité des isolats de MSV, on effectue des acquisitions en temps limite : on dépose sous loupe binoculaire 1 adulte de *C. mbila* sur un fragment de feuille présentant un spot chlorotique d'origine virale et on le retire quelques secondes après l'insertion de ses stylets dans le tissu végétal.

Pour créer des souches hypervirulentes, on effectue des passages successifs (acquisition /inoculation) sur des lignées présentant un très haut niveau de résistance partielle comme A211 ou B651. L'isolat N2A, par exemple, a été obtenu après 6 passages sur des géotypes résistants.

Comparaison d'isolats et de clones Africains et Réunionnais de MSV sur une gamme de variétés de maïs

Cette expérimentation a été réalisée au John Innes Center car c'est le seul endroit où des conditions de confinement suffisantes étaient disponibles pour comparer des inoculums de MSV de différentes origines géographiques.

Les sources d'inoculums sont soit des plantes agroinfectées dans le cas des clones, soit des plantes préalablement infectées par *C. mbila* dans le cas des isolats. Les cicadelles sont soumises à une AAP de 2 ou 3 jours. L'inoculation dure 1 jour à raison de 2 insectes par plantes. Les inoculums sont testés sur des variétés sensibles, Golden Bantam (maïs sucré) et H511 (hybride kenyan) ; sur des variétés à résistance partielle, TZI4 (variété de l'IITA pour laquelle un gène de résistance au MSV a été cartographié), Pan 6393 (hybride sud-africain), et les lignées de La Réunion D212 et B651 ; et sur une lignée de La Réunion à résistance totale L61.

Les plantes inoculées sont ensuite traitées avec de l'insecticide avant d'être placées en serre. L'apparition des symptômes est notée quotidiennement. En se basant sur l'échelle de notation de 1 à 9 calibrée par analyse d'image, la sévérité des symptômes est notée pour chaque étage foliaire, 4 semaines après l'inoculation.

212. Méthodes immunologiques

Kit de diagnostic : Une technique de détection immunoenzymatique de trois virus tropicaux du maïs (MSV, MMV, MStpV) a été mise au point pour une application de terrain. Des feuilles présentant des symptômes chlorotiques dont la cause doit être déterminée sont broyées dans un mortier avec un tampon phosphate PBS standard. Après filtration sur un tissu de nylon les extraits sont déposés sur des membranes de nitrocellulose avec des cotons tiges. Les membranes sont successivement trempées dans les réactifs immunologiques (anticorps, anti-virus, conjugué phosphatase). Les réactions sont révélées de façon colorimétrique dans un substrat de type NBT/BCIP.

Analyse sérologique : Le diagnostic sérologique des différentes maladies et l'étude de la variabilité sérologique du MSV au Burkina ont été réalisés à l'aide de la technique ELISA. Les anticorps de détection sont des anticorps polyclonaux dirigés respectivement contre le MSV, le MStpV, le MMV, et le MDMV. Pour la détection des variants sérologiques du MSV, des anticorps monoclonaux ont été utilisés. Les anticorps polyclonaux anti-MSV et MStpV (protéine non capsidiaire) ont été produits chez le lapin après purification des antigènes. D'autres anticorps ont été fournis par un partenaire du projet M. Peterschmitt (Laboratoire de Phytovirologie des Régions Chaudes, France) pour les anticorps polyclonaux anti MSV, MMV, MStpV et monoclonaux anti MSV et le Dr. G. Tottappilly (Institut international d'agriculture tropicale, Nigéria) pour l'anticorps polyclonal anti MDMV.

Au J. I. C. des anticorps monoclonaux avaient été préparés à partir du rat, par purification de différents virus de la striure. Le criblage de ces anticorps a été conduit sur des extraits bruts et purifiés des virus par ELISA simple sandwich (ACP-ELISA) (Pinner, 1988) et ELISA double sandwich (DAS ELISA) (Dekker et al, 1988). Tous les anticorps avaient été déterminés grâce au Serotic Isotyping Kit pour anticorps monoclonaux de rat.

Des hybridomes montrant une production d'anticorps spécifiques à des géminivirus ont été cultivés dans 500 ml de milieu DMEM (GIBCO) contenant du rouge phénol, 20 % de sérum de foetus de veau, de la pénicilline et de la streptomycine. Le volume des surnageants de cultures cellulaires est réduit à environ 500 ml, puis conservé. La présence des anticorps est vérifiée par ELISA.

Les surnageants concentrés sont précipités puis redilués dans 10 ml de PBS. Les immunoglobines M sont alors purifiées, et remises en suspension puis, après contrôle par ELISA, stockées à - 70°C. Les immunoglobines G sont purifiées une fois de plus avant stockage. Le rendement a été d'environ 70 ml pour chaque anticorps monoclonal.

Diagnostic basé sur la protéine non capsidiale : Ce test a été utilisé pour le diagnostic des infections causées par le MStpV. Les feuilles présentant les symptômes de bandes chlorotiques ont été broyées dans du tampon phosphate-citrate 0,01M pH 5,5. Les extraits obtenus ont été filtrés puis gardés à 4°C toute la nuit avant d'être centrifugés à 12000 rpm pendant 10 min. Le culot a été resuspendu dans le tampon phosphate 0,01M pH 7,0 puis centrifugé comme précédemment et le surnageant a été collecté. De l'acide citrique 0,1M y a été ajouté goutte à goutte jusqu'au changement de coloration par passage de l'aspect limpide à un aspect nuageux.

213. Méthodes moléculaires

Comparaison d'isolats de MSV par comparaison des séquences de DNA

Des isolats ont été obtenus du Ghana, de Maurice, du Mozambique, du Nigéria, de La Réunion, de l'Ouganda, du Zaïre et du Zimbabwe. La plupart de ces isolats proviennent de maïs infectés au champ et maintenus au J. I. C. par des transmissions, via des cicadelles, sur le maïs Golden Bantam, sauf l'isolat de Maurice qui provenait de *Coix lacrima jobi*. Deux autres isolats, provenant du Zimbabwe sur *Eleusine corocona* et du Nigéria, sur *Coix*, ont été inclus. Un clone infectieux d'un isolat du Zaïre a été fourni par le Dr. M. I. Boulton, et un autre, d'un isolat du Zimbabwe, par R. W. Briddon.

Des échantillons d'acide nucléique ont été préparés selon la technique déjà décrite (Briddon et *al*, 1992). Les amplifications par PCR ont été conduites selon la méthode de Saiki et *al* (1988), en utilisant un Techne PHC-3 Thermal Cycler.

Les séquences utilisées pour la comparaison sont celles du gène V2 de la protéine de capside. Les amorces ont été choisies dans la région 3' des ORF V1 et C2 du MSV (séquences publiées par Mullineaux et *al*, 1984 et Boulton et *al*, 1991). Des changements de bases ont été introduits dans ces séquences pour créer des sites de restriction pour l'enzyme de Eco I dans l'amorce du brin viral et Xba I dans l'amorce du brin complémentaire.

Des colonnes Magic PCR Prep (Promega) ont été utilisées pour purifier les produits d'amplification qui furent alors digérés avec Eco I et Xba I.

L'ADN a été cloné directement dans M13p18 et M13p19 linéarisés (Norrand et *al*, 1983). La séquence des produits clonés a été analysée dans deux directions en utilisant la séquence Version II (USB) et du ³⁵S d ATP (New England Nuclear).

Clonage de la forme répliquative du MSV

La forme répliquative du MSV est extraite à partir de feuilles de maïs soit par la technique de Sunter et *al* (1984) soit par la technique du CTAB. Cette dernière est une technique douce qui vise à préserver l'intégrité de l'ADN de la plante afin de le séparer plus aisément de l'ADN viral. Le clonage des formes répliquatives est décrit dans Peterschmitt et *al* (sous presse).

Analyse par RFLP et par séquençage

Des analyses ont été menées sur 40 clones issus de l'isolat N2A, 120 clones issus de SP1 et 36 clones issus de SP2. Le polymorphisme moléculaire des clones a été évalué avec 11 enzymes de restriction : *AccI*, *AflIII*, *BglII*, *EcoRI*, *EcoRV*, *HincII*, *HindIII*, *HinfI*, *SmaI*, *SstI*, *XhoI*. Les fragments de restriction sont observés sur des gels d'agarose à 1 % après coloration au bromure d'éthidium.

Des séquençages partiels ou de la totalité des ADN clonés ont été effectués soit manuellement avec du ^{35}S soit par séquençage automatique.

Agroinfection des clones de MSV

Afin d'établir une relation entre les variations moléculaires des clones et le pouvoir pathogène, certains clones, représentatifs de groupes RFLP ou représentant des variations de séquences déterminées par séquençage, sont inoculés à des plantes par la technique d'agroinfection (Peterschmitt et *al* sous presse).

214. Méthodes histologiques et microscopiques

Des techniques de microscopie ont été utilisées d'une part pour corréler des signaux électriques obtenus par EPG (voir partie entomologie ci-dessous 224.) avec les sites d'alimentation de l'insecte au niveau cellulaire, et d'autre part pour évaluer les effets de la résistance sur la densité et la répartition des virions dans les tissus foliaires ainsi que sur les modifications ultra structurales qu'ils engendrent.

Pour corréler les signaux EPG émis par *P. maidis*, des coupes histologiques de fragments de feuilles de maïs ont été réalisées. Les échantillons sont fixés dans une solution 0.2 M (pH : 7.2) de phosphate de sodium contenant du glutaraldéhyde à 25 % et du paraformaldéhyde à 10 %. Après déshydratation à l'alcool éthylique, ils sont inclus dans la paraffine. Des coupes sériées de 14 μ sont effectuées au microtome (Wetzlar-Leitz). Après déparaffinage, réhydratation et coloration safranine vert lumière, elles sont observées au microscope photonique (Zeiss).

L'analyse de la résistance au niveau histologique et cytologique a été menée par comparaison de la variété sensible Sabrina et de la lignée partiellement résistante D212, sur échantillons de feuilles et de gaines foliaires. Pour les observations ultrastructurales, les échantillons sont fixés avec du glutaraldéhyde suivi d'une postfixation au tétroxyde d'osmium et inclus dans l'Epon. Pour l'immunocytochimie, ils sont fixés avec un mélange de glutaraldéhyde-paraformaldéhyde et inclus dans du LR White. Les coupes semi-fines destinées à l'observation en microscopie photonique sont colorées au Bleu de Toluidine. Les coupes ultra-fines pour la microscopie électronique sont contrastées avec de l'acétate d'uranyl et du citrate de plomb.

La protéine de capsid a été détectée par immunomarquage à l'aide d'un anticorps polyclonal de lapin épuisé avec un extrait de plante saine. La réaction immunologique est révélée par un anticorps anti-lapin couplé à de l'or colloïdal visible en microscopie électronique. La même technique a pu être utilisée en microscopie optique en utilisant un sel d'argent qui précipite au contact de l'or et amplifie ainsi le marquage.

Des anticorps anti β -1, 3-glucanes ont été utilisés pour confirmer la présence de callose dans les tubes criblés, par immunomarquage à l'or colloïdal.

22. ENTOMOLOGIE

221. Piégeages et déterminations

Au Burkina, les captures de *Cicadulina* spp. sont effectuées avec un piège à émergence selon le modèle mis au point par Dabrowski (1983) et légèrement modifié. Pour le suivi des populations sur les poacées sauvages, 15 poses de pièges (15 x 1 m² de surface échantillonnée) sont effectuées sur le tapis herbacé par tranche horaire (6-9 h, 11-14 h, 16-18 h) et par strate (clairière, ombrage des arbres, bas-fonds) dans chaque localité toutes les décades pendant la saison de culture du maïs. Pour la recherche des populations résiduelles, le nombre de poses est de 90, ou parfois moins, selon l'état de déshydratation des poacées.

Pour suivre les activités de vol, des pièges de Moericke (bacs jaunes à eau) ont été placés au sol et à 0.7 et 2.5 m de hauteur à Saria (zone soudanienne) et à Yendéré (zone soudanienne méridionale). Ils sont espacés de 10 m et alignés perpendiculairement à la direction des vents dominants. Les cicadelles sont récoltées quotidiennement et conservées dans l'alcool éthylique à 70 %.

Les identifications des espèces sont faites par la reconnaissance des genitalia mâle. Après 24 h dans l'hydroxyde de potassium à 10 % et 10 mn à l'alcool éthylique à 70 %, le dernier segment abdominal est disséqué sous loupe binoculaire dans de la glycérine. La clé de détermination de Webb (1987) est utilisée.

222. Elevages de masse

Pour réaliser les infestations artificielles, un élevage de masse performant est nécessaire. Ces élevages ont été mis en place au Burkina, au Togo et au Cameroun en profitant largement de l'expérience acquise à La Réunion.

A La Réunion, l'élevage de masse est réalisé dans des serres chapelles de 20 m de long sur 6.4 m de large en polyester semi-rigide munies d'une couverture en film polyéthylène double paroi gonflable. Pour réguler la température entre 25 et 30°C, elles sont équipées d'un cooling système, d'une ventilation dynamique et d'un chauffage à air pulsé. Les cages d'élevage sont de structure métallique d'1 m² à la base et d'1,5 m de haut, elles sont recouvertes d'un tissu en polyester présentant une ouverture de maille de 0.35 mm. Chaque cage contient 25 pots de 5 l irrigués individuellement par le système central d'irrigation fertilisante.

Cicadulina mbila a été l'espèce élevée en plus grand nombre au cours de ce projet. La souche d'élevage est une population 100 % infectieuse qui avait été sélectionnée à partir de différentes populations naturelles de La Réunion au cours du projet STD2. Elle est élevée sur IRAT 20, cultivar de mil (*Pennisetum typhoides*). De 1992 à 1996, en moyenne 80 000 insectes ont été produits mensuellement dans 18 cages d'élevage.

L'élevage de masse de *P. maidis* a été opérationnel pour la transmission du MMV (production mensuelle de 30 000 insectes) fin 1992 et progressivement augmenté à plus de 50 000 insectes par mois en 1996 dans 15 cages d'élevage pour la recherche et la sélection de matériel végétal résistant au MMV ou à sa transmission. L'élevage est réalisé sur maïs hybride (Sabrina, France Maïs) sensible au MMV, pour permettre la réalisation du cycle infectieux (acquisition et latence) au cours du développement larvaire sur plants infectés.

La mise au point de l'élevage de *P. maidis* pour la transmission du MStpV n'a été réellement opérationnelle qu'en 1996. Nous avons d'abord sélectionné une lignée de *P. maidis* ayant un pouvoir infectieux élevé et stable. Celle-ci a été obtenue en 1994. Sa transmission ovarienne est génétiquement fixée et son taux d'insectes infectieux élevé. Lors des premières générations de multiplication dans l'élevage de masse, on a observé une transmission préférentielle du MMV lorsque les 2 élevages étaient dans la même serre, confirmant le blocage de la transmission du MStpV en présence de MMV. Pour éviter ces surinfections, nous avons élevé les 2 colonies dans 2 serres différentes. Cela étant insuffisant pour éviter quelques contaminations accidentelles lors de l'entretien des cages, nous avons décidé de faire l'élevage sur un génotype de maïs totalement résistant au MMV mais sensible au MStpV. Hi 31 et Hi 40 étant les seules lignées totalement résistantes disponibles et cette résistance étant *à priori* à déterminisme génétique récessif, un hybride entre ces 2 lignées a été produit début 1996. L'hybride est bien virosé à 100 % par le MStpV dans l'élevage de masse et la première génération produite sur celui-ci (4 cages) en avril 1996 a permis une réussite à 100 % de l'inoculation de notre variété témoin Sabrina.

Au Burkina, l'élevage est réalisé selon des modalités très proches de celles de La Réunion dans un local dont les côtés sont recouverts de tissu étanche aux insectes. Pour maintenir une humidité relative assez élevée en saison chaude, des sacs de jute mouillés sont disposés au sol. Pour minimiser l'effet de l'harmattan, un brise-vent en chaumes d'*Andropogon gayanus* entoure le local. *C. triangularis*, *C. mbila* et *C. arachidis* sont élevées sur la variété de mil (*P. typhoides*) P8 et *C. similis* sur maïs (Jaune Flint de Saria ou IRAT 171).

Au Togo¹ les élevages sont faits dans des cages sur plants de mil en pots, avec *Cicadulina mbila* (populations naturelles transmettant à environ 40 %). Les plants de mil sont produits à l'abri des insectes dans des cages identiques aux cages d'élevage conçues selon le même principe que celles utilisées à La Réunion. Les pontes se font en cage de ponte sur des mils de deux à trois semaines. Les plants de mil sont changés, si nécessaire, au cours des cycles nymphaux. Quarante cages sont utilisées pour l'élevage au sens large (18 pour la production de plants de mil, 2 pour la ponte, 8 pour l'inoculation et 2 en réserve). Deux cages d'élevage produisent 20 à 26000 insectes, ce qui est suffisant pour infester 10-20000 plants/semaine.

Au Cameroun, l'élevage de *C. mbila* est mené comme à La Réunion, suite à une mission de l'entomologiste du CIRAD/La Réunion.

223. Techniques d'infestations

Les infestations artificielles sont nécessaires pour garantir une infestation virale homogène, indispensable pour les criblages sur la résistance. Différentes techniques ont été employées :

A La Réunion, pour la plupart des tests de résistance au MSV, en particulier l'étude du déterminisme génétique, et les transferts, les jeunes adultes de *C. mbila* sont mis en acquisition pendant 48 h sur du maïs virosé (prélèvement au champ sur la parcelle infectée précédemment) et déposés ensuite au champ à raison de 2 à 3 individus dans le cornet foliaire des jeunes plants au stade 2 feuilles (7 à 10 jours après semis).

Pour les tests de résistances au MMV et au MStpV mais aussi pour certaines études sur le MSV (isolats clonés, niveau d'infestation) des essais sont menés en tunnels étanches aux insectes. Précédemment, ces infestations étaient réalisées sous un grand tunnel (60 m x 8 m) fixe recouvert d'un tissu polyéthylène d'ouverture de maille de 0,3 mm. Depuis 1993, des tunnels mobiles (4.5 m x 10 m) disposant d'une couverture amovible étanche aux insectes (tissu toujours de maille de 0,3 mm) sont posés sur le sol au semis et déplacés sur le semis suivant 35 jours après

¹

Bien que non partenaire de ce projet, l'INCV/Togo a poursuivi, sur d'autres financements, une collaboration déjà ancienne sur ce thème.

inoculation. L'intérêt de ce système est l'absence de surinfection par le MSV, une libération rapide du tunnel, la possibilité d'effectuer différentes modalités d'inoculation sur de petites surfaces indépendantes et la très bonne répartition des insectes. Au cours de ce projet, nous nous sommes équipés de 15 tunnels de ce type.

Plusieurs modes d'infestation ont été utilisés dans ces tunnels. Pour les études nécessitant la maîtrise du nombre d'insectes infectieux les insectes sont soit capturés dans les cages d'élevage et déposés dans les cornets grâce à des distributeurs munis de doseurs, soit répartis préalablement dans des eppendorf par lots comptés et ensuite déposés sur chaque plante. Cette dernière technique est très longue mais beaucoup plus précise. L'infestation dans le tunnel se fait alors soit sur des plants découverts soit sur des plants recouverts individuellement par une bonnette empêchant les insectes de quitter le plant.

La mise en évidence d'une résistance à *P. maidis* affectant la transmission du MMV et du MStpV nous a obligé à rechercher une autre méthode d'inoculation pour étudier la résistance au virus "*sensu stricto*". La résistance à la transmission s'est avérée contournable par l'augmentation du niveau d'infestation. Pour avoir un niveau d'infestation maximum, nous avons donc effectué des semis en barquettes puis l'infestation directement en cage (400 plants pour 4000 à 7000 insectes) en y déposant les barquettes pendant 3 jours. Les plants sont ensuite repiqués sous les tunnels mobiles. Cette technique, adaptée de celle utilisée par E. Yovo (INCV/Togo) pour le MSV, s'est avérée très efficace pour l'inoculation du MMV et du MStpV.

Au Togo, nous utilisons une technique d'infestation que nous avons élaborée, l'infestation en cage et la transplantation des plants virosés au champ.

Les plantules saines semées en pots sont placées dans une cage contenant des insectes virulifères. Après une période de 48 heures, ces plantules sont repiquées au champ. L'inoculation a lieu 2 jours après la levée (soit 5 jours après semis). Un équivalent de 3 insectes/plant constitue la dose d'insectes dans chaque cage.

Suivant une étude menée sur notre station à Ativémé, le taux d'infestation des plantules suivant cette technique est systématiquement de 100 %.

La même technique est employée **au Cameroun**.

Au Burkina, pour l'évaluation du taux d'individus infectieux dans les populations capturées au champ, les insectes sont maintenus individuellement sous bonnettes sur plant de maïs de 7 jours (variété Jaune Flint de Saria) pendant 48 heures. Après traitement insecticide (cyperméthrine à 50 g/l), les plants sont placés dans un abri étanche aux insectes et l'apparition des symptômes est notée quotidiennement.

Pour l'étude de la capacité intrinsèque de transmission des différentes espèces de *Cicadulina*, les insectes (jeunes adultes et larves) sont prélevés dans les élevages du laboratoire d'entomologie de Saria. Ils sont mis en acquisition pendant 48 h sur maïs (var. JFS) infecté par un isolat de MSV (SK_F) provenant du laboratoire de virologie de Kamboinsé. Ils sont ensuite transférés individuellement sur plant de maïs (var. JFS) et, après une période d'inoculation de 48 h, les plants sont traités à la cyperméthrine (50 g/l). L'apparition des symptômes est notée quotidiennement. L'essai est mené à 28°C, 65 % HR et 12 h de jour en 4 répétitions de 60 individus (20 femelles, 20 mâles et 20 larves) par espèce.

224. Electrophysiologie

La connaissance des modalités de l'alimentation des insectes sur leurs plantes hôtes est primordiale pour déterminer les techniques de lutte adéquates en particulier pour l'utilisation de la résistance variétale. Dans le cas des insectes piqueurs suceurs comme les cicadelles et les delphacides, les pièces buccales étant insérées dans les tissus végétaux lors de l'alimentation, l'étude du comportement alimentaire ne peut se faire que par des méthodes d'observations indirectes. Mclean et Kinsey (1964) ont été les premiers à mettre au point une technique intégrant l'insecte et sa plante hôte dans un circuit électrique. Ils ont distingué 4 signaux électriques, caractérisés visuellement en temporel, et les ont corrélés à des phases de salivation et d'ingestion par localisation histologique de la gaine sétale dans les différents tissus (mésophylle, phloème

et xylème) (McClean et Kinsey, 1967). Ce système original d'électrophysiologie fonctionnant avec une source de courant alternatif (AC system) a été amélioré principalement en réduisant le voltage appliqué au circuit (jusqu'à 25 mV). Il est utilisé par la plupart des chercheurs américains et par P. Markham dans ce projet pour étudier le comportement alimentaire de *C. mbila* sur différentes plantes hôtes et génotypes de maïs.

Schaeffers (1966) a également décrit une variante de la technique originale qui fonctionne en courant continu (DC). Dix ans plus tard Tjallingii (1978) améliore ce système en élaborant un amplificateur à haute impédance d'entrée (10^9 ohms). Le faible voltage appliqué et la sensibilité du système oblige à isoler le dispositif dans une cage de Faraday mais permet d'enregistrer les variations de résistance dans ou à proximité des canaux alimentaires et salivaires de l'insecte (composante résistive R du signal) ainsi que les activités électriques endogènes comme les forces électromotrices et électrochimiques générées respectivement par l'insecte et par la plante. Cette double composante du signal a permis de distinguer plus de signaux différents. Pour les pucerons, à titre d'exemple, 9 signaux ont été décrits et corrélés par différentes techniques (microscopie électronique, suivi d'alimentation d'éléments marqués, myogrammes de la pompe salivaire...) avec l'activité de l'insecte et la localisation cellulaire de l'extrémité de ses stylets.

L'électropénétrographie (Electrical Penetration Graph) pouvant fournir plus de détails que le système AC, nous l'avons choisi à **La Réunion** pour étudier le comportement alimentaire de *P. maidis* et *C. mbila* principalement pour caractériser les mécanismes de résistances pouvant influencer sur la transmission des virus. L'EPG, choisie par la plupart des chercheurs européens travaillant sur les pucerons, n'a été que récemment appliquée à d'autres groupes d'homoptères (Kimmins, 1989 ; Catalayud, 1993). Notre premier objectif était donc la mise au point de l'EPG pour *P. maidis* et *C. mbila*. L'informatisation de la chaîne de mesure rendant possible une numérisation et un traitement du signal, nous avons appliqué, en collaboration avec les physiciens de l'Université de La Réunion, différentes méthodes de traitement du signal permettant à terme une reconnaissance automatique des signaux basée sur des variables quantitatives.

Le dispositif utilisé est identique à celui employé par Tjallingii (1985). Les insectes testés sont de jeunes femelles adultes prélevées dans les cages d'élevage de masse. Un fil d'or (17,5 µm de diamètre, 5 cm de long) est fixé sur le pronotum avec une colle conductrice à l'argent (Demetron). L'insecte est relié par le fil d'or à l'amplificateur EPG giga 4 (Wageningen Agricultural University). Il est déposé sur la seconde feuille de la plante de maïs. Le dispositif est situé dans une cage de Faraday (maillage de cuivre d'1 mm) pour l'isoler des courants électriques parasites.

L'amplificateur est relié à un enregistreur papier (WR 7400, Graphtec) pour un suivi en temps réel de l'activité de l'insecte ainsi qu'à un micro ordinateur 486/25 (AST) équipé d'une carte DAS 16 (Kheitley Metrabyte Corporation) qui convertit le signal analogique amplifié en valeurs numériques. Le logiciel Viewdac (Kheitley) permet le pilotage de la carte d'acquisition et le traitement des données. Le logiciel TFVIEW sous MatLab est utilisé pour les analyses temps fréquence (spectrogramme).

Pour pouvoir suivre précisément le trajet du stylet dans la plante, il est nécessaire de le sectionner en position d'alimentation. La stylectomie est réalisée à l'aide d'un microcautérisateur à hautes fréquences (CA-50, Syntech). L'énergie de hautes fréquences (40 MHz, environ 30 watts) est transmise par une aiguille en tungstène montée sur un micromanipulateur (Prior). L'ablation des stylets est faite sous une loupe binoculaire munie d'un éclairage annulaire (Wild Leitz) et la plante est disposée sur un support mobile.

Le système EPG a été modifié **au J. I. C.** à partir d'un système en courant alternatif utilisant des circuits imprimés (Kimsey et Mac Lean 1987). En utilisant un convertisseur Analogique/Digital, les données ont été enregistrées sur ordinateur. L'évaluation de l'activité a été faite par comparaison des différents types de signaux et par évaluation des différences entre variétés et entre plantes infectées et non infestées. La variété de maïs sucré Golden Bantam a été utilisée comme référence.

225. Capacité de transmission

Ces études ont été réalisées au Burkina, sur différentes espèces de cicadelles mais aussi sur mâles, femelles et larves, et au J. I. C., sur cicadelles adultes, en distinguant la capacité à acquérir et la capacité à transmettre.

Au Burkina les cicadelles testées proviennent de l'élevage de masse entretenu au laboratoire d'entomologie de Saria. Il s'agit de *Cicadulina mbila*, *C. similis*, *C. triangula* et *C. arachidis*. La souche du virus de la striure est obtenue au laboratoire de virologie de Kamboinsé et entretenue sur la variété sensible de maïs "Jaune Flint de Saria " (JFS). Cette variété est également utilisée comme plante test. Les expériences ont été réalisées avec les mâles adultes, les femelles adultes et enfin les larves des différentes espèces. La séparation de sexe au niveau des larves n'a pas été possible, le début de la différenciation de l'appareil génital n'ayant été observé qu'au quatrième stade larvaire.

Les cicadelles sont mises pour acquisition, sur la plante source débarrassée des feuilles ou parties de feuilles ne présentant de symptômes, pendant 48 heures dans une cagette confectionnée à partir d'emballage d'eau minérale. Elles sont ensuite individuellement transférées sur des plantules de maïs âgées de 7 jours. Après 48 heures d'inoculation, les plantules sont traitées à la cyperméthrine 50 g/l afin d'éviter toute émergence de larves issues d'éventuelle ponte pendant l'inoculation. 960 plantules de maïs ont fait l'objet de test individuel avec les 4 espèces du vecteur soit 60 par espèce (20 pour les mâles, 20 pour les femelles et 20 pour les larves en 4 répétitions). Les cicadelles ayant pu transmettre la maladie ont été dénombrées et la durée d'incubation de la maladie relevée.

L'essai a été conduit dans une salle d'élevage aux conditions contrôlées avec une température de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, une humidité relative de $67 \pm 3 \%$ et une durée d'éclairement de 12 heures.

L'efficacité à acquérir le MSV a été testée au J. I. C. sur des populations de *Cicadulina* élevées soit sur maïs (Golden Bantam, maïs doux) soit sur *Digitaria sanguinalis*. Un grand nombre d'insectes ont été placés sur des plantes de Golden Bantam infectées par MSV-N (souche sévère provenant du Nigéria) pour une acquisition de 3 jours. Des groupes de 30 insectes ont été récoltés à l'aide d'un aspirateur et placés individuellement sur des maïs (variété Golden Bantam) âgés de 1 à 3 jours. Chaque test a été répété au moins deux fois.

Pour tester la capacité à transmettre, on a injecté du virus purifié dans les insectes qui ont été placés ensuite sur des plants de maïs (variété Golden Bantam). Les insectes ont été anesthésiés au CO₂ par groupe de 20. Ils sont placés sur le dos dans un support. Les aiguilles ont été préparées par étirement de tubes capillaires sur une résistance électrique. L'extrémité des aiguilles a été coupées avec un scalpel. Les aspirations ont été effectuées à l'aide d'une pompe péristaltique.

23. SÉLECTION ET GÉNÉTIQUE

231. Evaluation des symptômes

Des échelles visuelles d'évaluation des symptômes de 0 à 5 étaient utilisées en début de projet pour les 3 viroses. Les études sur le déterminisme génétique du MSV et sur la variabilité des isolats ont montré que cette échelle à 6 notes n'était pas assez discriminante. L'utilisation d'une échelle de 1 à 9 a été décidée en 1994 et celle-ci a été étalonnée par analyse d'image pour faire correspondre à chaque note une classe de surface foliaire chlorosée connue.

La chaîne de mesure comprend un négatoscope (Ella), une caméra CCD monochrome (MACC-77, Sony) fixée sur un statif, un moniteur vidéo couleur (PVM 1444QM trinitron, Sony), un micro ordinateur PC 486/33 (Arche) équipé du logiciel d'analyse d'image Visilog 4.1.1 (Noésis) qui pilote la carte d'acquisition MVP/AT (Matrox). Les feuilles, prélevées au champ, sont filmées au laboratoire sous un éclairage par transmittance et les images sont traitées avec un exécutable

programmé par F. Borne (CIRAD Montpellier) sous Visilog. Celui-ci calcule la surface totale de la feuille et la surface totale des stries chlorotiques, dont le seuillage se fait avec un contrôle visuel interactif sur l'écran vidéo.

Après analyse d'une centaine de feuilles virosées, nous avons choisi 7 images représentatives correspondant aux valeurs seuils de passage entre 2 notes (tous les 10 % de surface chlorotique pour le MSV) pour réaliser une gamme étalon de notes utilisable au champ. Celle-ci sert à toutes les notations depuis 1994 tant à La Réunion que pour les essais multilocaux (Togo, Cameroun).

Par contre, la surface chlorotique due à l'infection par le MMV ne dépassant pas 60 %, les seuils ont été fixés tous les 7 % pour cette virose.

232. Méthode d'analyse génétique

L'analyse génétique de la résistance au MSV est faite selon le modèle d'analyse des moyennes de générations ("*generation mean analysis*", Mather & Jinks, 1982), modèle permettant la décomposition des effets génétiques en étudiant les générations obtenues à partir d'une lignée résistante et d'une lignée sensible bien distinctes. Ce modèle s'applique bien à l'analyse d'un caractère quantitatif et permet un certain contrôle de la variabilité due à l'environnement. Dans notre étude, nous avons testé l'adéquation au modèle additivité - dominance, avec ou sans interaction non-alléliques, selon la méthode des "*joint scaling tests*".

233. Techniques de transfert de résistance

A La Réunion, le transfert de la résistance au MSV dans les **variétés** se fait par le croisement de départ de la variété sensible par le donneur de résistance CVR3-C3 suivi de deux rétrocroisements ; 2 ou 3 cycles d'autofécondation sont ensuite réalisés de façon à mieux récupérer les caractères de couleur et de type de grain de la variété receveuse. Les lignées sélectionnées sont interfécondées de façon à constituer la forme finale résistante qui entre ensuite dans un schéma de sélection conservatrice . A chaque cycle les criblages se font sous infestation artificielle en F1 et en F2; puis, à partir du 2ème rétrocroisement, sur les descendances

autofécondées jusqu'au brassage final (Marchand et *al.*, 1995). Le schéma de transfert de la résistance au MSV dans les **lignées** constitue une application pratique de l'étude du déterminisme génétique de la résistance (Rodier, 1995) et est exposé dans le paragraphe 3322. Dans ce cas, le donneur de résistance est la lignée à résistance totale CIRAD 390.

Au Togo, le schéma retenu est légèrement différent.

Briggs et Allard (1953) avaient recommandé le schéma de rétrocroisement pour transférer un caractère mono ou oligénique. Brewbaker (1974) fit remarquer que l'introduction de génération autofécondées ou endogamiques durant le processus de rétrocroisements est un moyen pratique pour repérer et éliminer les gènes récessifs qui seraient liés aux gènes en cours de transfert.

Le présent programme d'amélioration pour la résistance au MSV utilise avec quelques modifications, le schéma de rétrocroisement pour convertir les variétés de maïs locales sensibles au MSV en variétés tolérantes.

Le processus de sélection comprend des choix, sous infestations artificielles, de plants résistants en F1-SO, F2-S1, F3-S2 et F4-S3. Les croisements de retour se font en même temps que le criblage en F2-S1 en utilisant les variétés récurrentes sensibles comme parents femelles et les plants résistants de la génération F2-S1, comme parents mâles. Ces mêmes plants sont avancés à la génération F4-S3 où la sélection et le brassage se font sous infestation artificielle.

Au Cameroun, pour ne pas perdre de temps en attendant la construction de la serre d'élevage, les F1 et les BC1 F1 ont été faits sans infestation artificielle. Puis au moins 200 familles BC1 F1 de chaque variétés ont été infestées artificiellement en cages et transplantées au champ. L'évaluation des familles est réalisée un mois après transplantation. Les plantes retenues sont autofécondées pour produire les BC1 F1 S1. Lors de la deuxième campagne de 1994 les familles BC1 F1 S1 ont été avancées à la génération BC1 F1 S2 par autofécondation sous infestation artificielle. En 1995, les familles BC1 F1 S2 retenues ont été brassées pour former les populations BC1 F1 pour essai. La formation des BC2 pour la poursuite des transferts s'est faite en utilisant les familles retenues, maintenues séparées. Ainsi, la méthodologie de transfert retenue est le backcross avec 2 autofécondations entre chaque génération.

$P_1 \times \text{donneur}$
 $\downarrow$
 $F_1 \times P_1$
 $\downarrow$
 $BC_1 F_1$
 $\times \text{Autofecondation}$
 $\downarrow$
 $BC_1 F_1 S_1$
 $\times \text{Autofecondation}$
 $\downarrow$
 $BC_1 F_1 S_2$
 $\# \text{ brassage}$
 $\downarrow$
 $BC_2 F_1$

Tableau 1: Identification des plantes hôtes du MStpV dans différents pays.

Plantes hôtes	Origine ^a	Détection du NCP ^b	ELISA
Maïs	Yaoundé/C	+	+
Maïs	Abidjan/CI	+	+
Maïs	M'Bé/CI	+	+
Maïs	Sinématiali/CI	+	+
Maïs	Péni/B	+	+
Maïs	Kamboinsé/B	+	+
<i>Rottboellia exaltata</i>	N'Tui/C	+	+
<i>Rottboellia exaltata</i>	Cécéti/CI	+	+
<i>Rottboellia exaltata</i>	Péni/B	+	+
<i>Rottboellia exaltata</i>	Sabou/B	+	+
<i>Setaria barbata</i>	Foumbot/C	NT	+
<i>Setaria barbata</i>	Ferkessédougou/CI	NT	+
<i>Setaria barbata</i>	Léraba	+	+
<i>Setaria pallide-fusca</i>	Kamboinsé/B	+	+
<i>Setaria verticillata</i>	Ouagadougou/B	+	+
<i>Sorghum bicolor</i>	Ouagadougou/B	+	+
<i>Brachiaria xantholeuca</i>	Kamboinsé/B	+	+
<i>Echinochloa colona</i>	Kamboinsé/B	+	+
<i>Echinochloa colona</i>	Kamboinsé/B	+	-
<i>Pennisetum pedicellatum</i>	Bérégadougou/B	+	+
<i>Pennisetum pedicellatum</i>	Bérégadougou/B	+	-
<i>Digitaria horizontalis</i>	Kamboinsé/B	+	+
<i>Digitaria horizontalis</i>	Kamboinsé/B	+	-
<i>Panicum maximum</i>	Ebolowa/C	-	-
<i>Panicum maximum</i>	Yaoundé/C	-	-

^aLocalité/pays: C, Cameroun; CI, Côte d'Ivoire; B, Burkina

^bNCP, protéine non capsidiale

^c+, résultat positif; -, résultats négatif; NT, non testé.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

31. CARACTÉRISATION DES VIRUS

La gamme des virus susceptibles d'infester le maïs est assez large. Il convenait donc d'abord de vérifier leur présence en Afrique.

311. Identification des viroses du maïs

Des prospections des viroses du maïs ont pu être menées dans sept pays d'Afrique de l'Ouest et du Centre, Bénin, Burkina, Cameroun, Côte d'Ivoire, Mali, Sénégal et Togo.

Quatre virus ont été identifiés chez le maïs et chez d'autres graminées (sorgho et poacées sauvages).

Le Maize Streak Virus (MSV), déjà connu depuis longtemps, est présent dans les 7 pays.

Le Maize Stripe Virus (MStpV) a pu être rapporté dans trois pays : Burkina, Cameroun et Côte d'Ivoire. Les symptômes de bandes chlorotiques observés chez le maïs, le sorgho ou les poacées sauvages ont été attribués au MStpV sur la base des différents tests de diagnostic (tableau 1). Huit poacées sauvages ont été identifiées comme hôtes du virus. Parmi ces espèces, *Rottboellia exaltata* était la plus couramment infectée. Cette espèce semble ainsi jouer un rôle important de réservoir infectieux du MStpV. Le sorgho apparaît comme le seul réservoir impliqué dans la conservation du virus en raison de sa capacité à émettre des repousses pendant la saison sèche. Chez certaines poacées, la protéine non capsidiale (NCP) a été mise en évidence mais aucune réponse positive n'a été obtenue avec la sérologie. Ce résultat suggère que ces poacées abritent sans doute un virus du groupe des Tenuivirus mais différent du MStpV. Pour d'autres poacées comme *Panicum maximum*, la NCP n'a pas été détectée et les résultats de la sérologie ont également été négatifs en dépit des symptômes de bandes chlorotiques observés.

Tableau 2: Identification du Maize Mosaic Virus chez les plantes collectées dans différents pays.

Plantes	Origine ^a	Détection du virus
Maïs	N'koemvone/C	+
Maïs	Yaokro/CI	+
Maïs	Ouagadougou/B	+
<i>Sorghum bicolor</i>	Sogoula/M	+
<i>Sorghum bicolor</i>	Ouagadougou/B	+
<i>Sorghum bicolor</i>	Banzon/B	+
<i>Sorghum sp</i>	Minta/C	+
<i>Brachiaria xantholeuca</i>	Banzon/B	+

^aLocalité/pays: C, Cameroun; CI, Côte d'Ivoire; M, Mali;
B, Burkina.

Le Maize Mosaic Virus (MMV) a été identifié au Burkina, au Cameroun, en Côte d'Ivoire et au Mali (tableau 2). Le nombre d'espèces de plantes infectées par ce virus a été trouvé très réduit. Hormis le maïs et le sorgho cultivé, seuls *Brachiaria xantholeuca* et le sorgho sauvage ont pu être répertoriés. Ces résultats suggèrent que les principaux réservoirs du virus restent les deux céréales identifiées.

Le Maize Dwarf Mosaic (MDMV) virus a été détecté dans les extraits de 11 espèces de plantes dont deux céréales (maïs et sorgho) et neuf poacées sauvages provenant de quatre pays (tableau 3). Par transmission artificielle le virus a infecté le mil (*Pennisetum glaucum*) et le fonio (*Digitaria exilis*), deux autres céréales cultivées en zone sahélienne. Ce virus n'a pas pu être transmis par graines. Aucune plante issue de la germination des 500 graines de sorgho testées n'a présenté des symptômes après un mois d'observation. Comme dans le cas du MStpV, *Rottboellia exaltata* apparaît comme un important réservoir pour le virus. Cette espèce a été rencontrée dans tous les pays où le virus a été identifié.

La présence du MMV, du MStpV et du MDMV, bien que probable en Afrique de l'Ouest puisque leurs vecteurs avaient déjà été identifiés, n'avait pas été prouvée jusqu'à présent.

312. Variabilité des virus responsables de striure

La variabilité du MSV a été étudiée sur des isolats prélevés sur différentes espèces, sur des isolats de maïs de différentes origines géographiques ou entre isolats de maïs d'une même origine. Ces trois aspects ont été abordés en faisant appel à différentes techniques.

3121. Variabilité des isolats provenant de différentes graminées

Sur 18 anticorps monoclonaux, cinq reconnaissent le MSV seul, 2 le "chloris striate mosaic virus" uniquement, 4 reconnaissent le PSV et le "digitaria streak virus", 1 à la fois MSV, PSV et DSV, et 6 d'autres combinaisons.

Tableau 3: Identification du Maize Dwarf Mosaic Virus chez des plantes collectées dans les différents pays.

Plantes	Origine ^a	Détection du virus
Maïs	Mbo Plain/C	+
Maïs	Sinématiali/CI	+
Maïs	Sidéradougou/B	+
Maïs	Loropéni/B	+
Maïs	Léraba/B	+
Sorgho	Sougoula/M	+
Sorgho	Ouagadougou/B	+
Sorgho	Gaoua/B	+
Sorgho	Sabou/B	+
Sorgho	Koumbia/B	+
<i>Rottboellia exaltata</i>	N'Tui/C	+
<i>Rottboellia exaltata</i>	Sinématiali/CI	+
<i>Rottboellia exaltata</i>	Ferkessédougou/CI	+
<i>Rottboellia exaltata</i>	Kafono/M	+
<i>Rottboellia exaltata</i>	Kamboinsé/B	+
<i>Rottboellia exaltata</i>	Banfora/B	+
<i>Paspalum scrobiculatum</i>	Nkolbisson/C	+
<i>Setaria barbata</i>	Yaoundé/C	+
<i>Setaria sp</i>	Nkoemvone/C	+
<i>Rhynchelytrum repens</i>	Mbo plain/C	+
<i>Digitaria horizontalis</i>	Nkolbisson/C	+
<i>Digitaria sp</i>	Soa/C	+
<i>Cynodon dactylon</i>	Ouagadougou/B	+
<i>Andropogon sp</i>	Gaoua/B	+

^aLocalité/pays: C, Cameroun; CI, Côte d'Ivoire; M, Mali; B, Burkina.

La gamme d'anticorps obtenue détecte plusieurs geminivirus différents infestant des monocotylédones. Malheureusement, aucun ne détecte le SSV. Ce virus semble avoir un pouvoir antigénique faible. Un anticorps demande à être mieux caractérisé, car il semble reconnaître tous les virus testés.

Ces résultats mettent en évidence à la fois la parenté entre les différents virus testés, mais aussi la variabilité qui existe au sein des virus de la striure.

3122. Séquence du millet streak virus

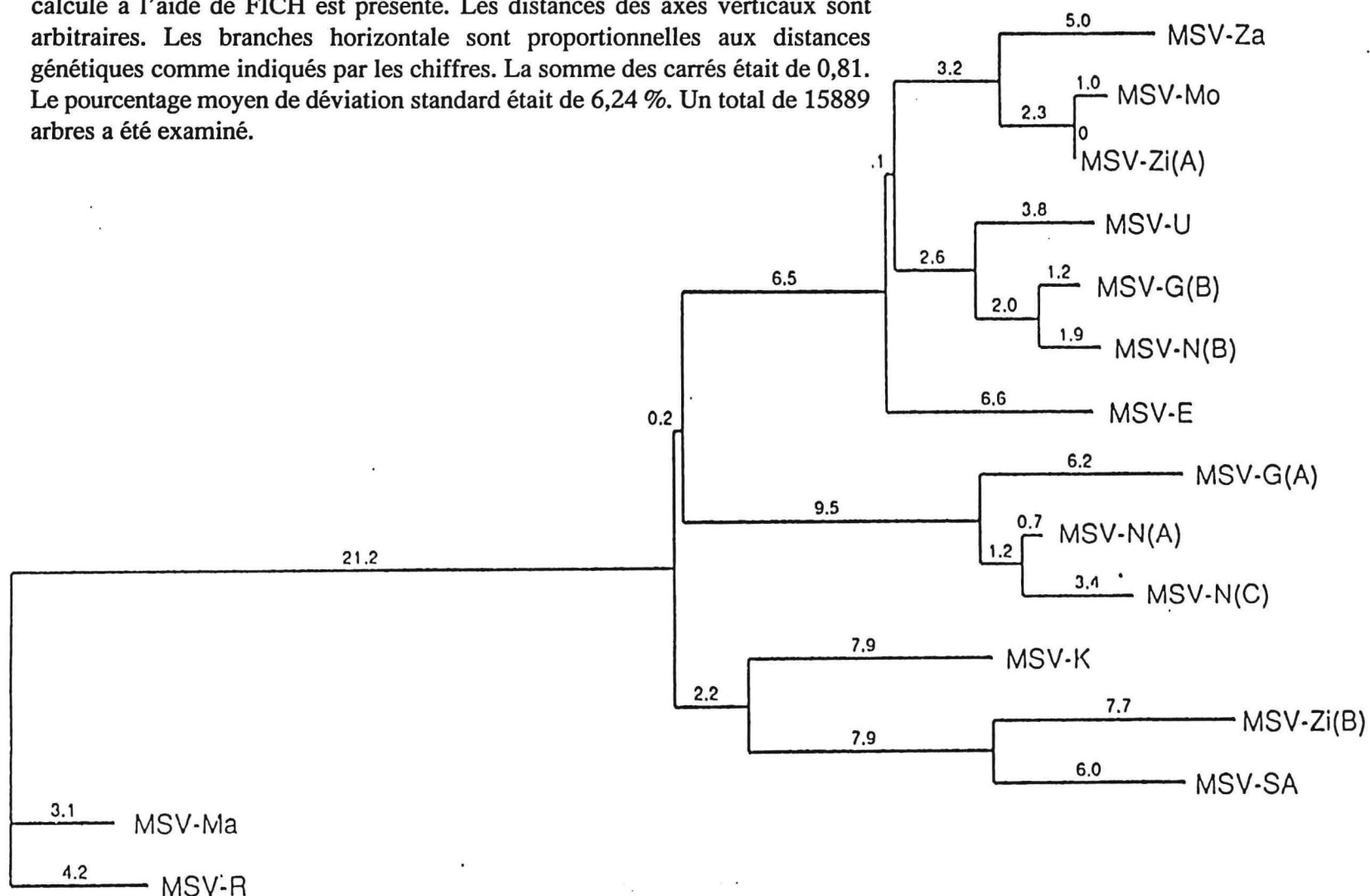
Une maladie à striure du mil (*Pennisetum glaucum*), originaire du Nigéria, a été attribuée à un geminivirus appartenant au groupe "African streak virus". Un clone infectieux constitué d'un génome complet et transmissible par l'insecte vecteur *Cicadulina mbila* (Naudé) a été obtenu. L'analyse de la séquence nucléotidique complète du gène de la protéine de capsid montre qu'il est le plus fortement relié avec le sugarcane streak virus. Aussi il a été convenu de l'appeler sugarcane streak virus, souche mil (SSV-Mil). Cette découverte apporte un nouvel éclairage sur les questions d'évolution du groupe des "African streak virus" et notamment sur l'adaptation du virus soit à des espèces récemment introduites en Afrique (maïs et canne à sucre), soit à des espèces africaines sélectionnées telles que le mil.

313. Variabilité d'isolats de MSV d'origine géographiques différentes

3131. Comparaison d'isolats de MSV par analyse de produit PCR du génome viral

Le produit caractéristique de l'amplification PCR comprend environ 900 paires de base (pb) sauf pour l'isolat du Zimbabwe sur le mil, qui donne un produit plus court. La spécificité des amorces vis à vis du MSV est prouvée par l'absence d'amplification d'extraits de DNA de tissus infectés avec le SSV ou le PSV. Les séquences nucléotidiques de 10 produits clonés ont été obtenues et comparées entre elles et par rapport à 3 séquences de MSV déjà publiées. Toutes les délétions et insertions dans la séquence se produisent dans la petite région intergénique, sauf pour les

Figure 1 : Arbre phylogénétique calculé sur la base de comparaisons par paire de séquences de nucléotides. L'arbre le plus court (arbre avec la plus petite somme des carrés) calculé à l'aide de FICH est présenté. Les distances des axes verticaux sont arbitraires. Les branches horizontales sont proportionnelles aux distances génétiques comme indiqués par les chiffres. La somme des carrés était de 0,81. Le pourcentage moyen de déviation standard était de 6,24 %. Un total de 15889 arbres a été examiné.



isolats d'Afrique du Sud (séquences publiées) et celui du Zimbabwe sur mil. L'isolat d'Afrique du Sud a une seule insertion par rapport à l'isolat du Nigéria, et l'isolat sur mil du Zimbabwe montre une délétion de 76 pb. Les séquences d'acides aminés prévues pour tous les isolats montrent que l'isolat sur mil a la plus forte variation (10,9 % au niveau des nucléotides et 2 % à celui des acides aminés). Les isolats du Ghana (B), du Mozambique, de l'Ouganda et du Zimbabwe (maïs) ne montrent pas de changement d'acides aminés dans la protéine de capsid par rapport au MSV du Nigéria. Les isolats de la protéine de capsid de La Réunion et de Maurice sont identiques mais contiennent des substitutions sur 32 nucléotides, dont 30 dans la région de la protéine de capsid (toujours par rapport au MSV du Nigéria) mais seulement 2 changements d'acides aminés dont aucun ne se situe dans la région de la protéine de capsid.

La figure 1 présente le meilleur arbre obtenu à partir des distances calculées par le programme Fich sur les données des séquences de nucléotides.

Les amorces utilisées pour l'amplification PCR montre une spécificité vis à vis des isolats de MSV, et ne donnent aucun produit avec le PSV et le SSV. La séquence obtenue, quand on la compare à des séquences connues de MSV, le confirme. Le produit obtenu à partir de l'isolat mil est significativement plus court que les autres, qui comptent environ 900 pb, et il est possible que quelques erreurs de fixation d'amorce se soient produites, car cette délétion est proche du site de fixation de l'amorce.

Ces conclusions sont en accord avec des comparaisons antérieures, par tests sérologiques. Cependant, pour ces derniers, on avait noté certaines anomalies sans doute dues à des infections par plusieurs génotypes viraux. Notre étude ne peut confirmer cette hypothèse, car les amorces utilisées, spécifiques du MSV, ne révèlent pas les autres virus.

L'analyse phylogénétique suggère que les isolats de La Réunion et Maurice, îles de l'océan indien, ont pu évoluer différemment des autres isolats africains. Cependant, comme la protéine de capsid a d'autres fonctions que la simple préservation de l'acide nucléique, par exemple la reconnaissance par l'insecte vecteur, il y a une sélection en faveur de la conservation des acides aminés.

Table 4 Homologies de séquences (%) entre des génomes de clones de MSV provenant de La Reunion (R), du Nigeria (N), du Kenya (K), et d' Afrique du Sud (S) et entre leurs protéines potentielles. Les homologies de séquences nucléotidiques ont été calculées avec le logiciel Clustal de DNASTAR avec un tableau de pondération. Les homologies de séquences peptidiques ont été calculées avec le logiciel Clustal de DNASTAR avec le tableau de pondération PAM 250.

	S	K	N		N	K	S	
Genome entier	94.5	94.4	95.3	R	87.4	83.4	87.4	Grande région intergénique
		97.2	97.3	S	95.5	92.7		
			97.0	K	93.4			
C1			98.2	K	99.0			V1
		97.8	99.3	S	98.0	98.0		
	96.7	97.1	97.1	R	96.1	96.1	95.1	
	S	K	N		N	K	S	
C2a	95.3	95.5	96.1	R	98.8	97.6	97.6	V2
		97.3	98.0	S	98.0	98.4		
			98.7	K	98.4			

^a Pour MSV-K, l'ORF C2 a été obtenu par déletion d'un C supplémentaire situé à 137 nucleotides en aval de la séquence acceptrice du site d'épissage, étant donné que la présence de ce nucléotide est considérée comme une erreur de séquençage (Howell, comm. pers.)

3132. Analyse d'un clone réunionnais de MSV (R1)

Le génome d'un isolat de maïze streak virus provenant de l'Ile de La Réunion (MSV-R) a été cloné et séquencé. Son pouvoir infectieux a été démontré sur des plantes de maïs à l'aide d'*Agrobacterium tumefaciens* par la technique d'agroinoculation. A partir de ces plantes, le virus est transmissible par cicadelle, *Cicadulina mbila*. Il provoque des symptômes graves, comparables à ceux causés par l'isolat SP1 qui a servi pour le clonage.

D'après la séquence de ce génome de 2685 nucléotides et des séquences peptidiques qui en sont déduites, le MSV-R diffère des trois isolats africains de MSV dont les séquences génomiques sont connues : l'isolat du Nigéria (MSV-N), celui du Kenya (MSV-K), et l'isolat d'Afrique du Sud (MSV-S). Le génome de MSV-R est plus long que celui de MSV-K de 4 nucléotides mais plus court que celui de MSV-N et celui de MSV-S de 2 et 5 nucléotides respectivement. Les cadres ouverts de lecture (ORFs) sont portés par les deux brins de l'ADN génomique. Les ORFs du brin viral sont identiques en position et en taille avec ceux des trois souches africaines. Par homologie de séquence avec MSV-N, l'ORF qui code potentiellement pour une protéine de 27,0 kDa correspond au gène de la protéine de capsid. Les ORFs du brin complémentaire sont identiques en taille et en position avec ceux de l'isolat MSV-N mais différents de ceux des deux autres isolats. MSV-R contient deux régions intergéniques comparables à celles des isolats africains.

Les homologies de séquences nucléotidiques calculées entre les génomes des différents isolats révèlent que l'isolat réunionnais (MSV-R) diffère des isolats africains qui forment entre eux un groupe distinct (tableau 4). Les homologies de séquences nucléotidiques déterminées sur les génomes entiers sont plus grandes entre les clones africains (97,0 et 97,3) qu'entre ceux-ci et le clone MSV-R (94,4-95,3). Les substitutions de nucléotides sont fréquentes en début de l'ORF MP et dans la grande région intergénique notamment dans la région de la TATAbox des gènes complémentaires. La comparaison des séquences peptidiques déduites des séquences nucléotidiques des ORFs MP, RepA et RepB confirme la plus grande homologie entre les clones africains (97,8-99,3) que celle entre ceux-ci et le clone MSV-R (95,1-97,1). Par contre la séquence peptidique de l'ORF CP est très conservée entre les 4 clones, ce qui suggère une forte pression de sélection sur cet ORF.

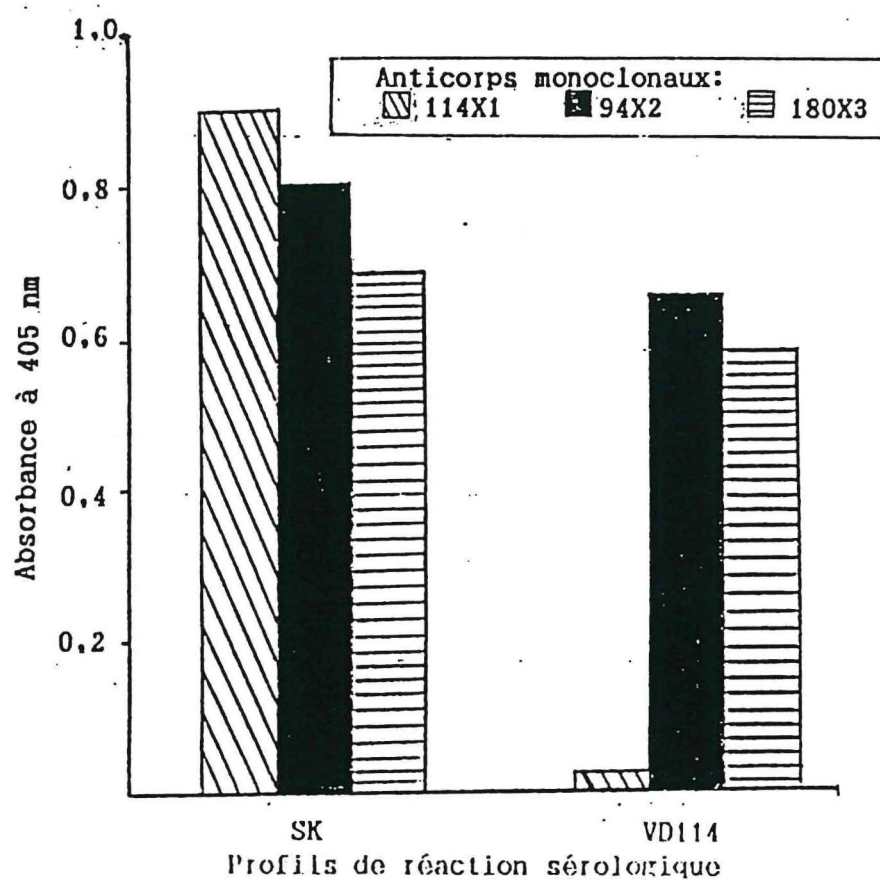


Figure 2 : Réactivité de différents isolats de MSV vis-à-vis des anticorps monoclonaux.

314. Variabilité d'isolats de MSV provenant d'une même origine géographique

3141. Variabilité inter-isolats sur maïs et poacées sauvages en Afrique (Burkina et Cameroun)

L'utilisation des anticorps monoclonaux dans l'étude de la variabilité du MSV a conduit à l'identification de trois variants sérologiques du virus au Burkina (Konaté et Traoré, 1994).

Cette étude, conduite en 1995 au Cameroun, a montré que, parmi les espèces de plantes échantillonnées et présentant les symptômes de striure, on distingue le maïs ainsi que plusieurs poacées sauvages. Les échantillons testés en ELISA à l'aide des anticorps monoclonaux 114 x 1, 94 x 2 et 180 x 3 ont été comparés à deux échantillons témoins de Kamboinsé (Burkina). Ces deux échantillons, des isolats de maïs et de *Pennisetum glaucum*, renfermaient respectivement les variants SKF et VD114 du MSV. Les résultats des tests ont permis de distinguer deux profils de réaction sérologique (Figure 2). Le premier profil, identique à celui de l'extrait témoin SK de maïs, a été mis en évidence dans la plupart des extraits analysés. Le deuxième profil, VD114 qui est celui de l'extrait de *P. glaucum*, n'a été retrouvé que chez *Brachiaria deflexa* et *Rottboellia exaltata*. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus au Burkina.

Les tests de transmission au maïs réalisés à partir des différents échantillons de plantes ont permis d'identifier trois pathotypes du virus (tableau 5). Les deux premiers ont été trouvés associés au même sérotype SK. Cependant, ils se sont caractérisés d'une part par des symptômes sévères et d'autre part par des symptômes atténués et provisoires. Le troisième pathotype associé au sérotype VD114 s'est caractérisé par des symptômes atténués mais permanents. Là encore, ces résultats sont en accord avec ceux obtenus au Burkina.

L'étude de la pathogénie de ces variants sérologiques a montré qu'une même expression symptomatique pouvait être attribuée à plusieurs variants et vice versa. En prenant en compte à la fois les variations sérologiques et pathogéniques, il ressort qu'un seul variant nommé SK_F induit des symptômes sévères chez le maïs et est responsables des épidémies dévastatrices de striure. Cette similitude suggère une certaine homogénéité dans les variants du MSV entre

Tableau 5 : Identification des variants du Maize streak virus dans différents échantillons de maïs et de poacées.

Echantillon	Origine	Sérotype	Symptômes@	Variant
Maïs	Yaoundé	SK	S,P	<i>SKF</i>
Maïs	Yooundé	SK	A,E	<i>SKf</i>
<i>Brachiaria deflexa</i>	Ebombo	VD114	A,P	<i>VD114</i>
<i>Digitaria horizontalis</i>	Nkolbisson	SK	A,E	<i>SKf</i>
<i>Digitaria sp 1</i>	Mbo Plain	SK	A,E	<i>SKf</i>
<i>Digitaria sp 2</i>	Soa	SK	A,E	<i>SKf</i>
<i>Paspalum scrobiculatum</i>	Mbo Plain	SK	A,E	<i>SKf</i>
<i>Rottboellia exatata</i>	Foumbot	VD114	A,P	<i>VD114</i>
<i>Setaria barbata</i>	Foumbot	SK	A,E	<i>SKf</i>
<i>Setaria barbata</i>	Foumbot	SK	S,P	<i>SKf</i>

@ : S = sévère : P = permanent; A = atténué; E = éphémère.

Tableau 6: Espèces de plants réservoirs abritant le variant SKF responsable des épidémies de striure.^a

Espèces	Nombre d'échantillons
<i>Brachiaria lata</i>	1
<i>Brachiaria xantholeuca</i>	27
<i>Cymbopogon citratus</i>	1
<i>Digitaria exilis</i>	2
<i>Digitaria gayana</i>	10
<i>Digitaria velutina</i>	1
<i>Digitaria sp</i>	62
<i>Diheteropogon hagerupii</i>	23
<i>Echinochloa colona</i>	1
<i>Eleusine indica</i>	128
<i>Euclasta condylotrica</i>	9
<i>Eragrostis aspera</i>	18
<i>E.tremula</i>	2
<i>E.tenella</i>	1
<i>Setaria barbata</i>	43
<i>Rynchelytrum repens</i>	5

^aLes échantillons ont été collectés en Août (pendant la saison pluvieuse)

Tableau 7: Plantes réservoirs du MSV collectées en saison sèche.

Espèces	Nombre d'échantillons
<i>Andropogon gayanus</i>	66
<i>Digitaria horizontalis</i>	28
<i>Paspalum scrobiculatum</i>	4
<i>Paspalum sp</i>	7
<i>Digitaria debilis</i>	8
<i>Brachiaria disticophylla</i>	8
<i>Brachiaria sp</i>	2
<i>Sorghum sp</i>	1
<i>Oryza longistaminata</i>	3
<i>Cymbopogon giganteus</i>	2

l'Afrique de l'Ouest et l'Afrique Centrale. Le tableau 6 indique la fréquence du variant SK_F chez les poacées sauvages hôtes du MSV. 47 % des échantillons (334 sur un total de 713 collectés), ont été trouvés infectés par ce variant. Ces échantillons sont répartis en 16 espèces de poacées. En raison de la fréquence assez élevée du variant SK_F chez les poacées, les hôtes sauvages du MSV peuvent jouer un rôle important dans le déclenchement et la propagation de la maladie au champ.

L'étude du rôle des poacées hôtes du MSV dans la conservation du virus et la contamination des cultures de maïs a conduit à la collecte de différents échantillons de plantes en saison sèche (tableau 7). Tous les échantillons collectés ont induit chez le maïs des symptômes atténués. Aucun échantillon abritant le variant SK_F n'a pu être collecté. Ce résultat suggère que les plantes réservoirs jouent un rôle peu important dans la conservation de ce variant ainsi que dans la contamination des cultures de maïs en début de saison humide. Par contre, après la mise en place des cultures de maïs ce variant peut être retrouvé dans de nombreux échantillons (tableau 6). Ainsi le rôle des plantes hôte apparaît plutôt important dans la propagation de la maladie en raison du fait qu'elles augmentent la quantité de l'inoculum viral.

3142. Variabilité intra-isolats, à La Réunion

La variabilité a été étudiée selon deux techniques :

Par RFLP

Les 42 clones obtenus pour l'isolat N2A peuvent être répartis en 6 groupes de restriction :

	I	II	III	IV	V	VI
(+)	25	7	0	2	1	0
(-)	3	2	1	0	0	1

TABLEAU 8 : Groupes de restriction des clones MSV, issus de l'isolat N2A.

Pour chaque enzyme, A et B correspondent aux profils de restriction obtenus avec le clone 19, respectivement inséré dans un sens (+) ou (-) à l'intérieur de pBC. Les clones et les groupes se distinguant du clone 19 sont en gras.

Clones	Hinc II	Bgl I	Hinf I	AccI / AflIII / EcoRV HindIII / NaeI / PvuII SmaI / SstI / XhoI	GROUPE
2	A	A	A	A	I (+)
7	A	A	A	A	I (+)
11	A	A	A	A	I (+)
13	C	B	B	B	II (-)
14	A	A	A	A	I (+)
15	B	B	B	B	I (-)
17	E	A	A	A	II (+)
21	E	A	A	A	II (+)
22	A	A	A	A	I (+)
28	A	A	A	A	I (+)
32	D	B	B	B	III (-)
34	B	B	D	B	VI (-)
37	A	A	A	A	I (+)
38	E	A	A	A	II (+)
41	A	A	A	A	I (+)
44	A	A	A	A	I (+)
46	A	A	A	A	I (+)
47	B	B	B	B	I (-)
49	A	A	A	A	I (+)
53	A	A	A	A	I (+)
56	A	A	A	A	I (+)
57	A	A	A	A	I (+)
59	A	A	A	A	I (+)
63	A	A	A	A	I (+)
65	E	A	A	A	II (+)
68	E	A	A	A	II (+)
79	A	A	A	A	I (+)
80	A	A	C	A	IV (+)
83	A	A	A	A	I (+)
86	A	C	A	A	V (+)
87	A	A	A	A	I (+)
88	E	A	A	A	II (+)
93	A	A	A	A	I (+)
103	A	A	A	A	I (+)
104	A	A	C	A	IV (+)
105	C	B	B	B	II (-)
106	A	A	A	A	I (+)
107	A	A	A	A	I (+)
108	B	B	B	B	I (-)
109	A	A	A	A	I (+)
110	A	A	A	A	I (+)
112	E	A	A	A	II (+)

Dans le groupe majoritaire (28/42 clones) on constate qu'un des deux sens d'insertion de la forme répliquative dans le vecteur est favorisé (25 clones A et seulement 3 clones B). Les 5 autres groupes comportent des clones qui diffèrent du groupe majoritaire par une seule enzyme. Le détail du polymorphisme par rapport aux différents enzymes utilisés est donné dans le tableau 8.

Le polymorphisme des isolats SP1 et SP2 (voir paragraphe 3261 isolats de La Réunion) évalué avec les mêmes enzymes de restriction est beaucoup plus réduit. En effet, pour SP1, seuls 2 clones sur 120 sont différents d'un groupe majoritaire homogène, alors que pour SP2, 1 seul clone est différent sur 36.

Par séquençage nucléotidique du génome viral

Pour 20 clones issus de N2A, des séquences partielles ont été obtenues autour du site de clonage *Bam*HI sur la grande région intergénique et le début de V1.

Des séquences entières ont été obtenues pour 4 clones de N2A (R2, R3, R4, R5) testés au champ et représentatifs de 4 groupes RFLP. Les différences nucléotidiques sont ponctuelles et réparties sur l'ensemble du génome à l'exception du gène V2 et des 3/4 3' terminal du gène V1. Leur nombre est faible, variant de 1 à 7 substitutions. Deux clones (R2 et R4) présentant des différences de pouvoir pathogènes sur une gamme de variétés différentielles de maïs ont été choisis pour confirmer quelles sont, parmi les 3 différences nucléotidiques qui les distinguent, celles qui sont responsables de la différence de pouvoir pathogène.

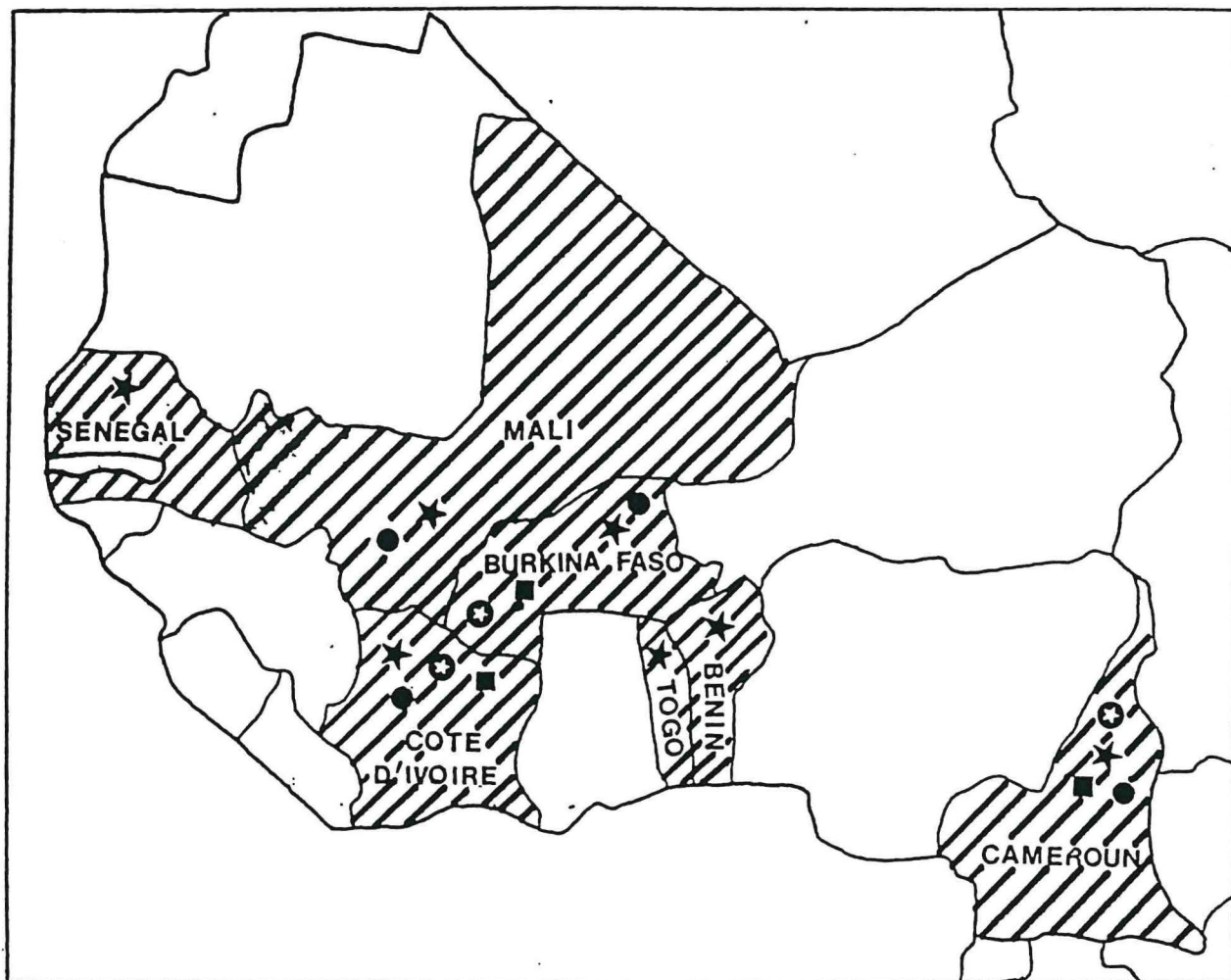


Figure 3 : Répartition géographique des maladies virales du maïs dans différents pays.

- ★ Maize streak virus
- ⊛ Maize stripe virus
- Maize mosaic virus
- Maize dwarf mosaic virus

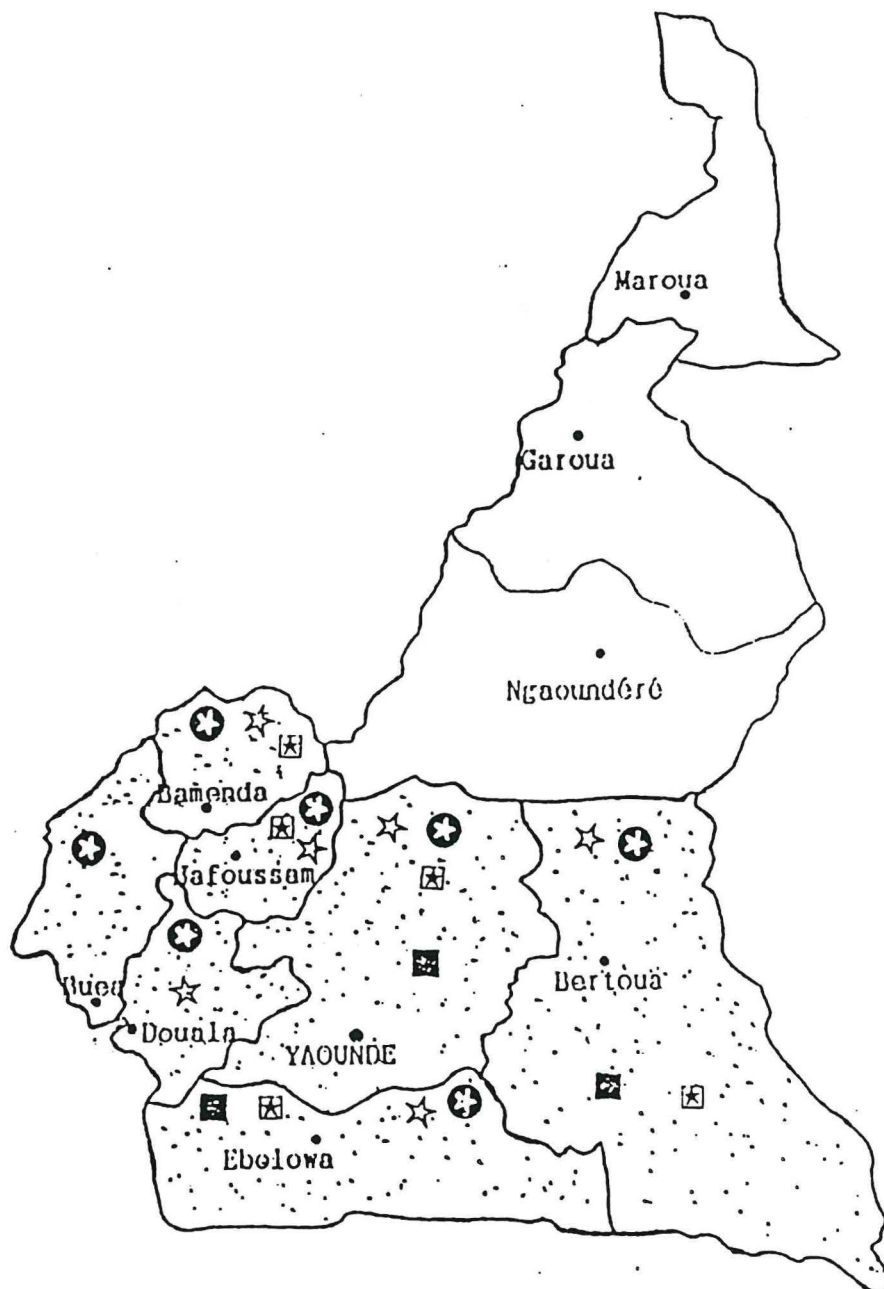


Figure 4 : Répartition géographique des viroses du maïs.

- Zone de prospection
- ⊙ Striure du maïs causée par le MSV
- ☆ Maladie des bandes chlorotiques causée par le MStpV
- ⊠ Mosaïque nanisante du maïs causée par le MDMV
- Mosaïque du maïs causée par le MMV

PAYS	MSV	MSt _e V	MMV	MDMV
BENIN				
BURKINA FASO				
CAMEROUN				
COTE D'IVOIRE				
MALI				
SENEGAL				
TOGO				

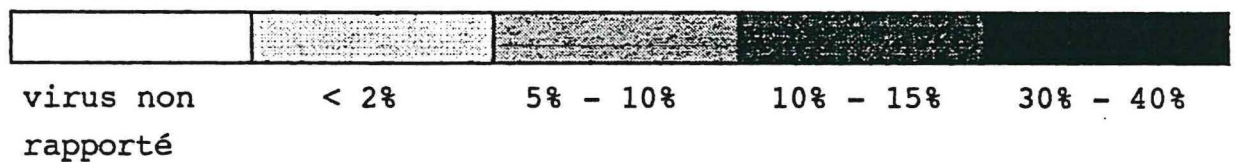


Figure 5 : Incidence des maladies virales du maïs dans différents pays.

32. ÉPIDÉMIOLOGIE

321. Incidence des viroses sur le maïs

3211. Répartition géographique et importance de maladies virales

La figure 3 indique la répartition géographique des différents virus dans les pays prospectés. La figure 4 présente la répartition régionale de ces virus au Cameroun. Le MSV est le seul virus rencontré dans tous les pays. Le MStpV n'a été identifié qu'au Burkina, au Cameroun et en Côte d'Ivoire. Dans tous ces pays les plants malades ont été observés dans les zones les plus humides. Le MMV a été observé dans les trois pays précédents et au Mali. Dans les pays de la zone soudano-sahélienne (Burkina et Mali) ce virus a le plus souvent été détecté dans les échantillons de sorgho plutôt que de maïs. Le MDMV a été identifié dans les mêmes pays que le MMV. Par contre, il est autant observé chez le maïs que le sorgho. Cependant, chez le maïs il semble être localisé dans les zones les plus humides comme observé dans le cas du MStpV.

La figure 5 présente l'incidence des maladies causées par les différents virus. Les résultats indiquent que le plus important des virus reste le MSV. Son incidence a été trouvée très variable selon les pays, l'incidence la plus élevée ayant été observée au Bénin (environ 40 %) et la plus faible au Sénégal (moins de 3 %). Les trois autres maladies virales ont présenté des incidences très faibles (inférieures à 2 %). Chez le maïs, le MDMV et le MStpV sont plus importants que le MMV. Ces moyennes recouvrent d'importantes variations à l'intérieur d'un pays.

Pour le Cameroun, le tableau 9 présente l'incidence des différentes maladies dans les sept provinces visitées. Avec une incidence moyenne de 12 %, comparée à 11 % observé en 1994, la striure du maïs a été la plus importante des maladies prospectées. Des incidences inférieures à 2 % ont été enregistrées pour le stripe, la mosaïque et la mosaïque nanisante. S'agissant de la striure, une importante variation des taux d'infection a été observée aussi bien entre les champs qu'entre les localités. En général, les taux d'infection ont été faibles, plus de la moitié des champs étant infestés à moins de 5 %. Cependant, des incidences très élevées ont été observées

Tableau 9 : Incidence des viroses du maïs dans les différentes provinces du pays.

Province	Nombre de sites	Nombre de champs	Incidence des virus (%)			
			MSV	MStpV	MDMV	MMV
Centre	14	26	7,40	0,75	0,77	0,01
Est	3	8	4,47	0,02	2,69	0,04
Littoral	5	10	12,48	0,05	0,00	0,00
Nord-Ouest	1	3	29,05	0,85	4,42	0,00
Ouest	5	14	29,51	0,00	2,11	0,00
Sud	3	6	0,81	2,76	0,95	1,25
Sud-Ouest	1	2	3,39	0,00	0,00	0,00
Région	32	69	12,44	0,63	1,56	0,19

Tableau 10 : Incidence (%) de la striure dans les parcelles expérimentales

Temps après semis (semaines)								
parcelle n°	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0	0,013	0,09	0,29	0,38	0,64	1,04	1,18
2	0	0,26	0,57	0,74	0,95	1,32	1,44	1,65
3	0	0,05	0,21	0,57	0,88	1,18	1,31	1,42
4	0	0,23	0,49	0,73	1,08	2,43	2,91	3,32
5	0	0,34	0,79	1,32	2,09	3,38	4,39	4,96

Tableau 11 : Influence du nombre d'arbre sur l'incidence de la striure

Parcelle n°	Nombres d'arbres	Incidence de la striure (%)
1	1	1,18
2	4	1,65
3	2	1,42
4	6	3,32
5	5	4,96

dans plusieurs cas. Ainsi, le quart des champs inspectés présentaient des incidences variant entre 20 % et plus de 98 %. La variation des incidences entre les différents champs peut s'expliquer en partie par le stade de développement des plants de maïs. En effet, les champs dont les plants étaient les plus jeunes ont généralement présenter les plus fortes incidences.

3212. Incidence de la striure dans des essais au Burkina

L'incidence de la maladie a été relevée dans cinq parcelles qui différaient par le nombre d'arbres ainsi que leur emplacement (proche ou éloigné des habitations).

Les relevés de l'incidence de la maladie ont été effectués de une semaine à huit semaines après le semis. Les résultats consignés dans le tableau 10 indiquent que les premiers symptômes sont observés deux semaines après semis. L'incidence augmente progressivement et se poursuit jusqu'à la floraison des plants. Cependant, le taux d'augmentation qui est de 58 % en moyenne entre le deuxième et la troisième semaine après semis baisse avec l'âge des plants. Entre le septième et la huitième semaine il n'est que de 11,5 %.

L'incidence de la maladie augmente avec le nombre d'arbres présents dans la parcelle (tableau 11). Cependant, cette augmentation de l'incidence n'est pas proportionnelle au nombre d'arbres. Au niveau des parcelles de brousse, la variation de l'incidence se fait graduellement. La parcelle n° 5 présente une incidence plus élevée malgré un nombre d'arbre plus réduit par rapport à la parcelle n° 4. Cette différence peut être due à la position des différentes parcelles. En effet, la parcelle n° 5 est un champ de case.

Aucune relation n'a pu être mise en évidence entre la présence des arbres et le point de démarrage des premières infection. En dehors des parcelles n° 2 et 5, les infections ont débuté en zones dépourvues d'arbres, soit en bordure, soit à l'intérieur même de la parcelle. Le rôle joué par les arbres dans l'épidémie semble se situer au niveau de l'augmentation du taux de contamination et serait lié à une présence plus forte des vecteurs sous les arbres (Cf. 3235).

Tableau 12 Détection et transmission du MSV à partir de *Poaceae* portant les symptômes de la striure

Espèce de <i>Poaceae</i>	Test ELISA	Transmission au maïs	Sévérité des symptômes sur le maïs
<i>Andropogoneae</i>			
<i>Andropogon gyanus</i> Kunth	^a +	^a +	4 ^b
<i>Andropogon pseudapricus</i> Stapf	+	+	1-2
<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf	+	+	4
<i>Cymbopogon giganteus</i> Chiov.	-	NT	NT
<i>Diheteropogon hagerupii</i> Hitch	+	+	3-4
<i>Imperata cylindrica</i> (L.)			
<i>P.Beauv</i> var. <i>africana</i> (Anderss) Hubb.	+	-	0
<i>Rottboellia exaltata</i> L.f.	+	+	2
<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench	-	NT	NT
<i>Euclasta condylotrica</i> (Hochst. ex Steud.) Stapf	+	+	4
<i>Eragrostideae</i>			
<i>Dactyloctenium aegyptium</i> (L.) P.Beauv.	+	+	3
<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn.	+	+	4
<i>Eragrostis aspera</i> (Jacq.) Nees	+	+	4
<i>Eragrostis ciliaris</i> (L.) R. Br.	+	+	1-2
<i>Eragrostis megastachya</i> (Koel.) Link	+	+	3
<i>Eragrostis tenella</i> (L.) P. Beauv. ex. Roem et Schult.	+	+	5
<i>Eragrostis tremula</i> Hoechst. ex Steud.	+	+	5
<i>Chlorideae</i>			
<i>Chloris pilosa</i> (L.) P. Beauv.	-	NT	NT
<i>Shoenefeldia gracilis</i> Kunth	+	+	3
<i>Sporoboleae</i>			
<i>Sporobolus microprotus</i> Stapf	+	+	2
<i>Oryzeae</i>			
<i>Oryza longistaminata</i> A. Chev. et Roehr.	-	NT	NT
<i>Oryza sativa</i> L.	+	+	1
<i>Paniceae</i>			
<i>Brachiaria deflexa</i> (Schumach.) ex Robbyns	+	+	2-3
<i>Brachiaria disticophylla</i> (Trin.) Stapf	+	+	2
<i>Brachiaria lata</i> (Schumach.) Hubb.	+	+	5
<i>Brachiaria xantholeuca</i> (Hack. ex Schinz) Stapf	+	+	2-3
<i>Digitaria debilis</i> Willd.	+	+	2
<i>Digitaria exilis</i> Stapf	+	+	5
<i>Digitaria horizontalis</i> Willd.	+	+	1-2
<i>Digitaria gayana</i> (Kunth) Stapf ex A.Chev.	+	+	4
<i>Digitaria velutina</i> P. Beauv.	+	+	4
<i>Digitaria</i> sp	+	+	1-2
<i>Echinochloa colona</i> (L.) Link	+	+	4
<i>Panicum laetum</i> Kunth	-	NT	NT
<i>Panicum repens</i> L.	+	+	3
<i>Panicum subalbidum</i> Kunth	+	+	3
<i>Paspalum scrobiculatum</i> L.	+	+	3
<i>Pennisetum pedicellatum</i> Trin.	+	-	0
<i>Rhynchelytrum repens</i> (Willd.) Hubb.	+	+	5
<i>Setaria barbata</i> Kunth	+	+	3
<i>Setaria pallide-fusca</i> (Schumach.) Stapf et Hubb.	+	-	0
<i>Setaria verticillata</i> (L.) P. Beauv.	-	NT	NT

^a (+) = positif; (-) = négatif; NT = non testé.

^b La notation de la sévérité des symptômes a été faite selon une échelle proposée par Bak (1987) où: 0 = sans symptômes; 1-2 = symptômes faibles; 3 = symptômes moyens; 4-5 = symptômes très sévères.

Tableau 13 : Détection sérologique par ELISA et transmission du MSV au maïs par *Cicadulina triangula* à partir de poacées.

Espèces de poacées	ELISA	Transmission ^a
<i>Cenchrus biflorus</i> Roxb.	+	+(2) *
<i>Oryza longistaminata</i> A.Chev.et Roerh.	+	+(1)
<i>Cymbopogon giganteus</i> Chiov.	+	+(2)
<i>Setaria verticillata</i> (L.)P.Beauv.	+	+(2)
<i>Chloris pilosa</i> (L.)P.Beauv.	+	+(2)
<i>Paspalum sp</i>	+	+(3)
<i>Sorghum sp</i>	+	+(2)
<i>Ischaemum sp</i>	+	+(2)
<i>Brachiaria sp</i>	+	+(2)
Espèce indéterminée 1	+	+(2)
Espèce indéterminée 2	+	+(2)

^a Les chiffres entre parenthèses indiquent la note-symptômes attribuée sur une échelle de 1 à 5 où: 1-2=symptômes atténués; 3=symptômes moyens; 4-5=symptômes très sévères.

Tableau 14 : espèces de *Cicadulina* inventoriées au Burkina de 1989 à 1993

Espèces/Année	1989	1990	1991	1992	1993	Totaux
C. similis	5	559	4019	4421	2606	11610
C. mbila	15	330	933	1624	1423	4325
C. arachidis	23	76	360	474	295	1238
C. triangula	211	95	93	181	153	733
C. hartmansii	3	0	0	0	0	3
Totaux	267	1060	5405	6700	4477	17909

322. Identification des hôtes du MSV

L'utilisation de la sérologie et de la transmission par vecteur avait déjà permis d'identifier 32 espèces de poacées sauvages comme hôtes réservoirs du MSV (tableau 12) (Konaté et Traoré, 1992). Des études complémentaires au cours de ce projet ont permis d'identifier 11 espèces supplémentaires (tableau 13). Ces résultats portent à 43 le nombre total d'espèces de plantes hôtes réservoirs infectieux du MSV. Parmi ces espèces, 28 n'avaient encore jamais été rapportées.

323. Dynamique des populations de vecteurs

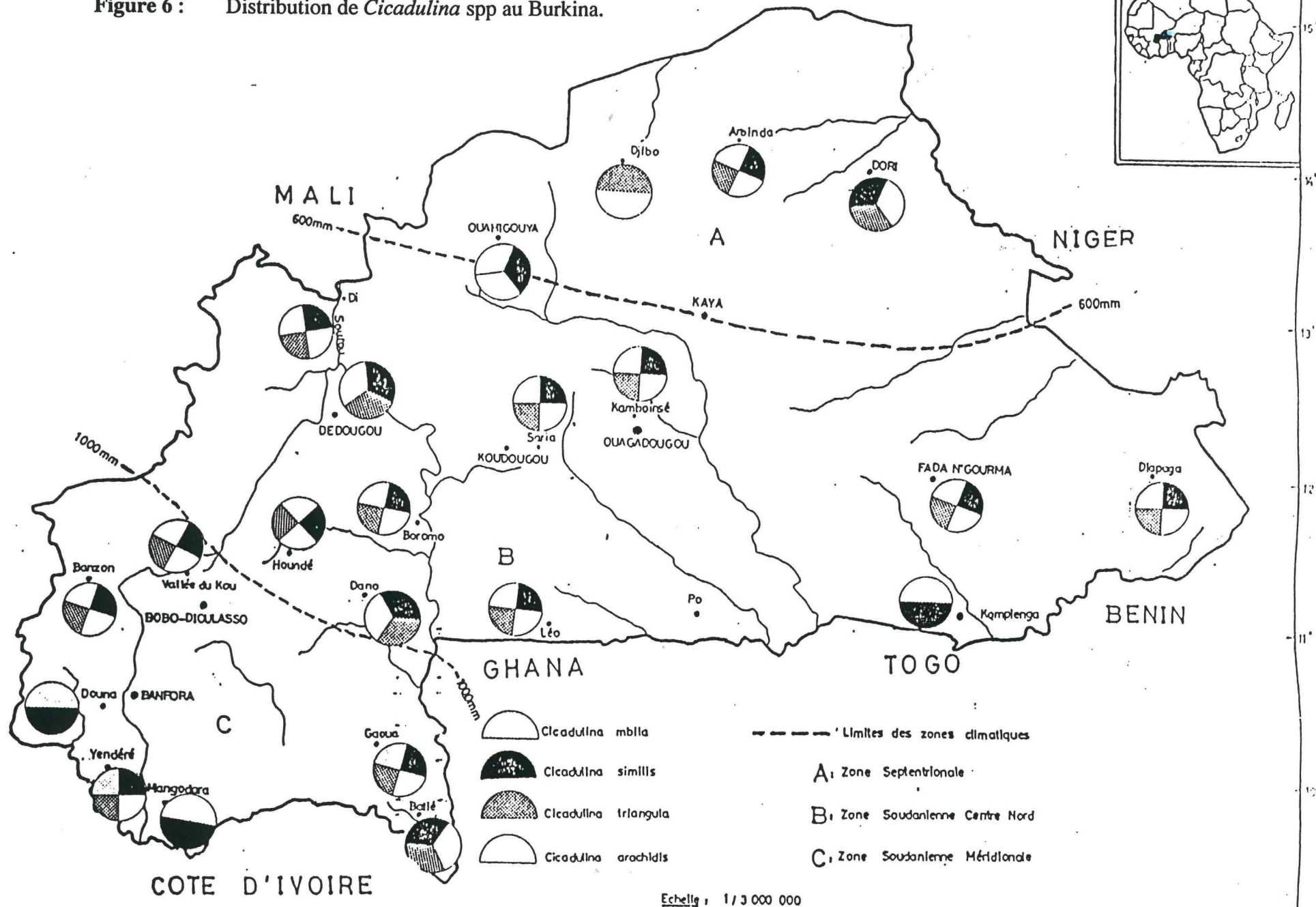
3231. Identification des cicadelles au Burkina

Au cours de l'inventaire 17909 mâles de *Cicadulina* ont été capturés et identifiés. Les résultats sont consignés sur le tableau 14. Quatre espèces ont été régulièrement recensées, ce sont *C. similis*, *C. mbila*, *C. triangula* et *C. arachidis*. Cependant *C. hartmansii* a été capturée en 1989 et identifiée à partir de 3 spécimens. Cette espèce n'a plus été rencontrée au cours des captures des années suivantes. *C. similis* a été l'espèce dominante avec 65 % des captures suivie de *C. mbila* (24 %). *C. arachidis* et *C. triangula* ont été les espèces les plus faibles numériquement au sein de la population du vecteur avec respectivement 7 % et 4 %.

3232. Distribution géographique des vecteurs au Burkina

La carte de la figure 6 présente les 22 sites qui ont été sondés par piège à émergence à la recherche du vecteur. Les résultats ont établi la présence de *Cicadulina* spp dans toutes les zones écologiques du pays. En effet, de la zone soudanienne méridionale jusqu'à la zone septentrionale, suivant les années 2 à 4 espèces ont été inventoriées à la fois dans le même biotope au cours des différentes captures au piège à émergence. Ces résultats ont permis de remarquer qu'en zone sahélienne, *C. triangula* a été l'espèce dominante au sein de la population du vecteur avec un taux de 62 % suivie de *C. arachidis* (24 %), *C. mbila* (9 %) enfin *C. similis* (6 %). Dans les zones soudanienne centre nord et méridionale *C. similis* a été l'espèce dominante avec 43 % et 74 % suivie de *C. mbila* (32 % et 22 %) puis *C. arachidis* (17 % et 3 %) et enfin *C. triangula* (9 % et 1 %).

Figure 6 : Distribution de *Cicadulina* spp au Burkina.



La diversité des espèces rencontrées reste notable avec quatre espèces régulièrement recensées dans tous les biotopes sondés eu égard à leur implication dans l'épidémiologie de la maladie (tableau 14). En effet les quatre espèces sont toutes vectrices du virus de la striure du maïs. La capture ponctuelle de *C. hartmansi* en 1989 peut être due à une migration accidentelle de quelques individus qui ont suivi le courant d'air de la mousson qui s'installe progressivement du sud (Côte d'Ivoire, Ghana, Togo, Bénin) vers le nord (Burkina). En effet *C. hartmansi* a été signalée en Côte d'Ivoire (Webb, 1987) et dans les forêts marécageuses du Nigéria (Dabrowski et al., 1991). Sa présence est fortement probable au Ghana, Togo et Bénin. Son absence durant quatre années est certainement due à son inadaptation dans les écologies qu'offre le Burkina et qui lui sont défavorables. Des quatre espèces recensées, trois avaient été signalées par Webb (1987), la quatrième *C. mbila* a été rapportée par Traore (1990) qui a couvert toutes les zones écologiques du pays.

Les résultats ont montré que l'aire de répartition de *Cicadulina* spp couvre l'ensemble du Burkina. La distribution géographique illustrée par la figure 6 montre qu'il y a présence de deux espèces au moins par localité. Dans la plupart des biotopes visités, les quatre espèces ont été recensées. Des observations similaires ont été faites par Dabrowski (1983 ; 1987) et Mesfin et al., (1991) qui ont rapporté avoir capturé, au Nigéria, deux à quatre espèces par biotope prospecté. Les variations constatées dans la répartition géographique des espèces entre les différentes zones écologiques reflètent la diversité du contexte climatique. Cette variation du contexte climatique, d'une zone à une autre, influence la distribution des plantes hôtes qui, à leur tour, jouent un rôle essentiel dans la répartition du vecteur. Ce phénomène a été décrit par Reynaud (1988) qui a montré qu'à l'Ile de La Réunion, les conditions climatiques spécifiques de chaque zone influencent la répartition de *Cicadulina*. La présence de toutes les espèces dans chaque zone écologique notamment dans le Sahel montre les possibilités qu'offrent les vents de mousson à ces insectes pour coloniser des espaces lointains. A l'installation du régime de mousson, et à la fin de la campagne agricole, des captures ont permis d'observer des individus ayant une morphologie caractérisée par un abdomen plus petit, que Rose (1987) a décrit sous le nom de voiliers. Ces voiliers adaptés au vol à longue distance assurent la colonisation de nouveaux biotopes par le vecteur.

3233. Activité de vol du vecteur

La détermination de la période d'arrivée des premiers migrants dans un biotope est importante dans la dynamique des population du vecteur au cours de la campagne. Ces premiers migrants selon Reynaud (1988) sont responsables des infections virales primaires dont dépend l'évolution de la maladie. L'efficacité des premières pluies détermine l'immigration dans le biotope considéré. En effet les résultats acquis à Saria et Yendéré de 1989 à 1993 ont montré que l'arrivée des premiers migrants se situait immédiatement après le début de reconstitution du couvert herbacé dans la zone. L'installation du régime des moussons, en favorisant la régénération des poacées, crée des conditions plus favorables pour le développement des populations du vecteur qui se déplace des poacées plus âgées vers des poacées plus jeunes donc plus tendres. Il existe un délai de trois semaines à un mois entre la pluie permettant la régénération du couvert végétal et les premières captures dans les pièges jaunes. L'analyse des résultats de capture dans les bacs a toujours montré une prédominance des mâles par rapport aux femelles, dominance due à la plus grande mobilité des mâles. Ainsi en 1989, sur 270 cicadelles capturées, 239 étaient des mâles et 31 seulement des femelles.

A mesure que la campagne hivernale avançait, les captures des cicadelle augmentaient notamment dans les bacs au sol et à 0,70 m. L'évolution des pics de vol des populations a varié d'une année à l'autre et d'une zone écologique à une autre. Ainsi, à Saria de 1989 à 1993 les pics se sont déplacés de juillet à septembre. A Yendéré, on a observé les mêmes phénomènes et les pics se sont situés entre fin septembre et mi-octobre avec une exception en 1992 où les pics les plus importants ont été observés au mois de juillet. Les captures aux pièges ont été toujours plus importantes à Saria qu'à Yendéré à cause de la température plus élevée à Saria, stimulant plus les cicadelles au vol.

L'efficacité des pièges s'apprécie par rapport à l'importance des captures mais surtout par rapport à la précocité des captures en début de saison pluvieuse. Le piège situé à 0,70 m et celui au sol ont toujours capturé plus de cicadelles, le piège à 0,70 m est le plus précoce et quelques fois celui de 2,50 m. Le régime de mousson semble avoir été le facteur déterminant dans la régulation des

Tableau 15 : densité au m² de *Cicadulina* dans les deux zones écologiques

Mois	Zone S. centre nord			Zone S. méridionale		
	1991	1992	1993	1991	1992	1993
Mai	-	-	-	-	-	0,10
Juin	-	0,49	-	4,65	4,65	0,29
Juillet	0,50	0,26	1,39	4,36	4,36	1,28
Août	0,44	1,71	2,01	2,86	2,86	1,66
Septembre	1,08	1,04	6,44	2,91	2,91	2,05
Octobre	0,35	0,24	4,24	2,47	2,47	1,76
Novembre	0,15	0	1,05	1,34	1,34	0,93
Décembre	-	-	-	-	-	-

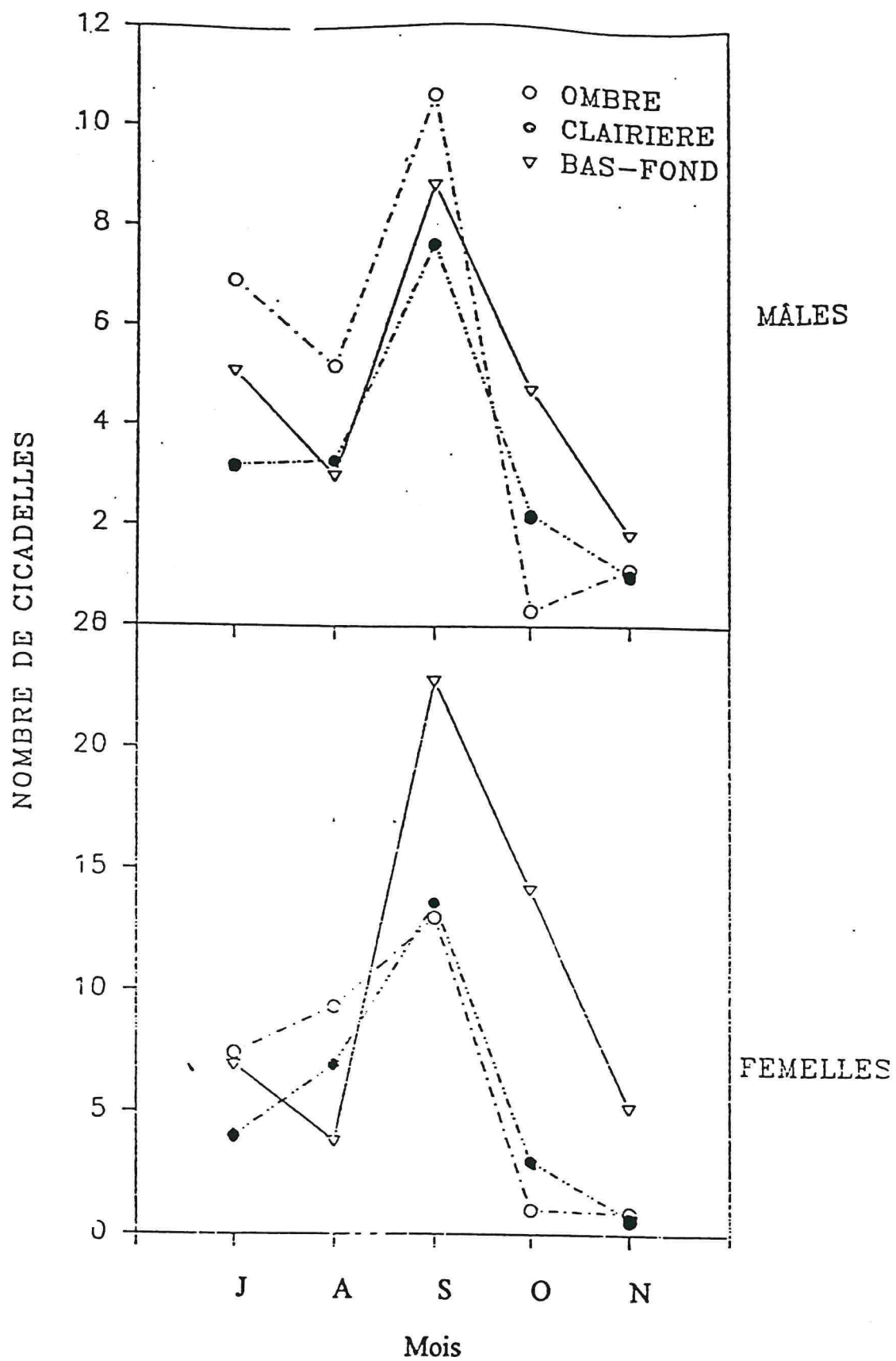


Figure 7 : Evolution de la population de cicadelles à Saria.

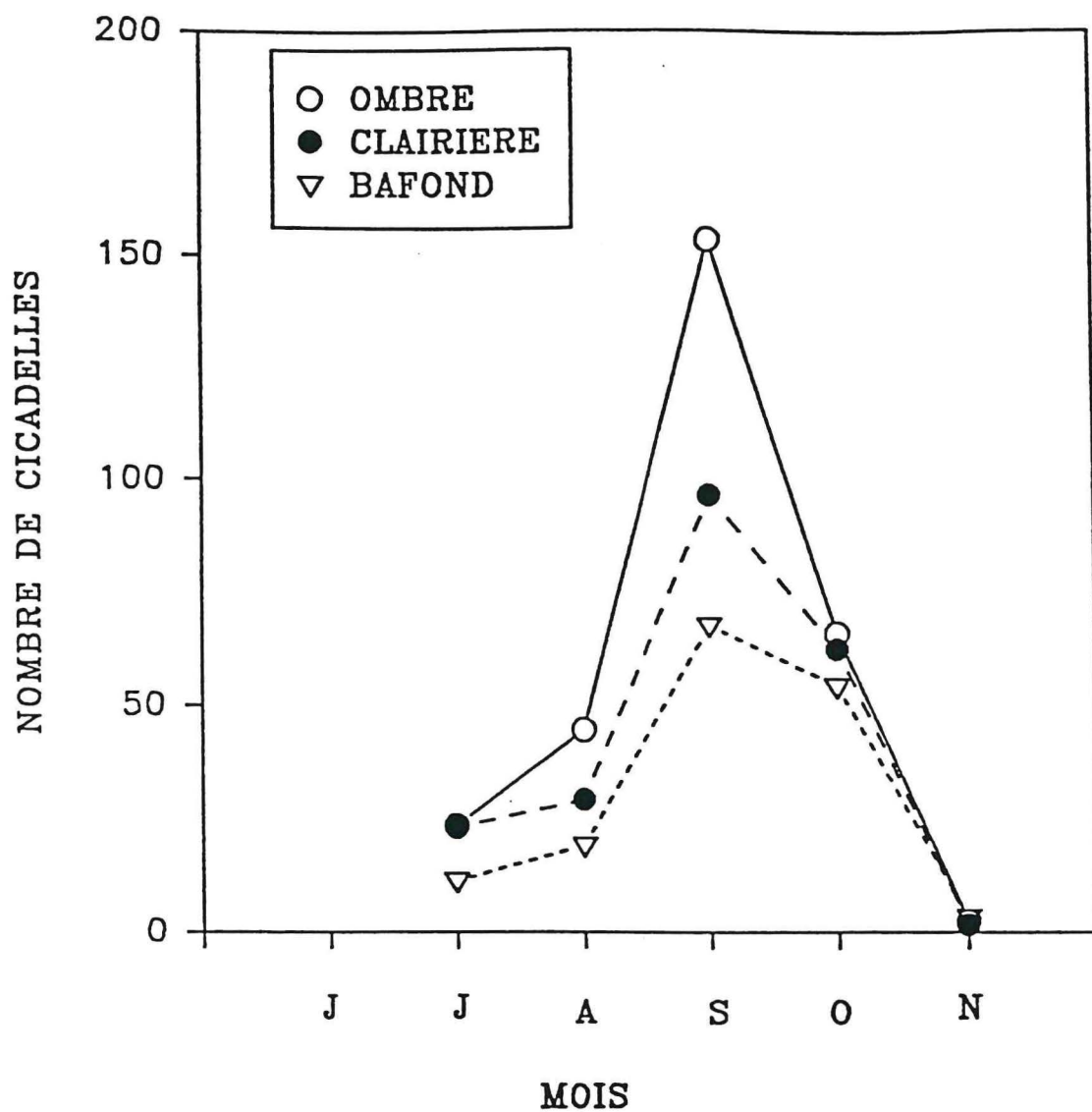


Figure 8 : Evolution de la population de cicadelles femelles en fonction des strates d'échantillonnage dans la zone de Yendéré.

populations de *Cicadulina*. De façon relative, les pièges jaunes peuvent servir de moyen d'avertissement permettant d'évaluer les risques qu'un agriculteur court, à défaut de variétés résistantes, en voulant installer sa culture à un moment donné de la campagne agricole. L'évaluation des individus virulifères au sein de la population immigrante pourrait permettre de mieux mesurer les risques d'épidémie du MSV avant l'installation de la culture.

3234. Evolution de la densité de *Cicadulina* spp

La densité des populations du vecteur présentée au tableau 15 montre un accroissement progressif de la population qui atteint son pic principal en septembre dans les deux zones écologiques. Cette croissance progressive de la population est liée à une disponibilité croissante en quantité et en qualité des plantes hôtes qui augmentent avec l'installation progressive du régime de la mousson et la levée de la dormance de graines des poacées. Reynaud (1988) identifie la pluie comme étant le facteur essentiel qui influence la dynamique de la population de *Cicadulina* par la régulation du cycle biologique des plantes hôtes.

Le tableau 15 montre par ailleurs que les densités de cicadelles ont été plus fortes en zone soudanienne méridionale qu'en zone soudanienne centre nord. Cette importance de la population dans la zone soudanienne méridionale peut être due à la présence précoce et plus importante de plantes hôtes dans cette zone. Le recensement des plantes hôtes a montré que c'est en zone soudanienne méridionale qu'elles sont les plus nombreuses. Le climat plus doux et la pluviométrie plus importante, prévalant en zone soudanienne méridionale, entraînent donc une disponibilité accrue de plante hôtes, qui explique les différences de densités constatées entre les deux zones.

3235. Influence des différents biotopes sur l'évolution de la population de cicadelles

L'influence des différents biotopes (ombre des arbres, clairière, bas-fond) sur la dynamique de la population du vecteur (Figures 7 et 8) a été globalement faible. L'évolution des population a été identique dans les zones de Saria et Yendéré. Cependant il convient de noter que la population du vecteur a été relativement plus importante à l'ombre des arbres que dans les autres biotopes dans les deux zones écologiques.

Les résultats représentés par les figures 7 et 8 font ressortir une évolution croissante dans les deux zones dès la formation du couvert végétal. Les microclimats spécifiques à chaque biotope (ombrage, clairière et bas-fond) expliquent les variations de captures entre elles. Durant la majeure partie de la campagne agricole, le maximum d'individus a été capturé à l'ombre des arbres à cause des conditions favorables mais aussi à cause de la concentration plus élevée en azote dans les poacées qui poussent à ces endroits. A cela il faut ajouter également l'immobilisme des femelles qui constituent plus de la moitié des captures avec une capacité intrinsèque de transmission du virus plus élevée que chez les mâles très mobiles et la présence plus prolongée des poacées telles *Pennisetum pedicelatum* (Saria) ou *P.polystachion* (Yendéré) à l'ombrage, très favorables au développement de la plupart des espèces de la cicadelle vectrice, par rapport au bas-fonds, tandis que dans les clairières, la forte température qui y règne ne favorise pas la concentration des cicadelles. Cette présence importante des cicadelles à l'ombrage des arbres permet d'expliquer la forte concentration de la maladie qu'on observe habituellement sous les arbres.

Il ressort de cette étude que la population du vecteur est plus importante sous les arbres durant toute la campagne. Ce comportement du vecteur allié aux pratiques culturales constituant à conserver les arbres "utiles" tels que *Vittelaria paradoxa* Gaert (karité), *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth (Néré) etc.. offrent un cadre favorable au développement de la population du vecteur.

3236. Population résiduelle de *Cicadulina* pendant la saison sèche autour de points d'eau permanents

Une prospection a été entreprise dans les périmètres irrigués de Savilly et du Sourou en 1993-94 et 94-95, et à Niangoloko (hors zone irriguée) en 94-95 seulement, en vue de vérifier, d'une part, la présence d'une population capable de passer la saison sèche sur place et pouvant servir de base pour les premières colonisations du biotope et, d'autre part, l'influence des espèces présentes sur l'incidence de la maladie. Les échantillonnages commencés en 1993 ont été poursuivis durant les intersaisons 1994 et 95. Dans chacune de ces zones des captures mensuelles au piège à émergence ont été réalisées à partir de janvier.

Tableau 16 : *Cicadulina* spp capturée dans les zones aménagées (1994).

Mois	C. triangula			C. arachidis			C. similis			C. mbila		
	Sav.	Di	Lanf	Sav.	Di	Lanf	Sav.	Di	Lanf	Sav.	Di	Lanf
Janvier	5	1	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Février	23	32	56	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mars	3	75	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Avril	0	120	-	0	0	-	0	0	-	0	0	0
Mai	0	46	-	0	5	-	0	0	-	0	1	-
Juin	0	0	-	0	4	-	0	9	-	0	4	-
Juillet	0	0	-	0	1	-	16	25	-	1	6	-
Août	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Septembre	-	0	-	-	23	-	-	7	-	-	0	-

Les sondages effectués dans les différents périmètres irrigués ont permis d'inventorier en 1993 deux espèces de *Cicadulina* qui sont *C. triangula* (67 individus dont 34 mâles) et *C. similis* (1 mâle) en avril dans la seule localité de Diedougou-Lanphiera. Plusieurs autres sites ont été prospectés sans succès.

En 1994, les prospections ont commencées depuis le mois de janvier. Les résultats obtenus ont permis de montrer la présence du vecteur dans les plaines aménagées de Di, Lanfiera au Sourou et celui de Savilly au Bulkiemdé (tableau 16).

En 1995 (tableau 17), le vecteur est également présent, mais en quantité plus faible qu'en 94. On notera que *C. mbila* n'a été capturé qu'en un seul exemplaire, hors zone irriguée.

La capture des cicadelles durant les mois de janvier, février, mars et avril atteste bien de l'existence d'une population résiduelle dans les zones irriguées. Le rôle de l'homme est à prendre en compte dans l'explication de ce phénomène, en effet les activités de contre saison à Savilly et au Sourou entraînent le renouvellement du couvert végétal permettant la disponibilité de jeunes plantes plus favorables à l'insecte. Dans la région de Niangoloko où les activités agricoles en saison sèche sont faibles, les captures de cicadelles vectrices sont très faibles. C'est pourtant dans cette zone que la densité de populations est la plus forte dès que le tapis graminéen se reconstitue. La faiblesse des captures au mois de juin se justifie par l'échantillonnage sur les mêmes espaces dont les graminées bien que vertes, sont très âgées donc moins favorables aux insectes. La présence de *C. similis* en avril et mai dans la plaine de Savilly donc en zone soudanienne centre nord est une donnée nouvelle par rapport aux résultats des années antérieures. Les spécimens de *C. similis* n'étaient pas des voiliers. Ils n'ont donc pu être là par le fait du vol d'autant que le front intertropical en ce moment est au Sud (en Côte d'Ivoire). Sa présence ne peut se justifier que par le maintien d'une population résiduelle issue des individus de la saison hivernale avec des conditions favorables exceptionnelles pour la période. La relative prédominance de l'espèce *C. triangula* et la quasi absence des autres espèces pendant cette période sont liées à l'adaptation de cette espèce aux conditions assez difficiles comme l'observe Dabrowski (1987) qui a rapporté que *C. triangula* évoluait sous des températures excédant 28°C

Tableau 17 : Différentes espèces de *Cicadulina* spp capturées dans les zones aménagées durant la saison sèche (1995)

Mois	C. triangula			C. arachidis			C. similis			C. mbila		
	Savil	Sourou	Ngko	Savil	Sourou	Ngko	Savil	Sourou	Ngko	Savil	Sourou	Ngko
Janvier	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Février	0	5	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-
Mars	5	8	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-
Avril	19	0	0	0	0	6	3	0	0	0	0	1
Mai	0	0	-	0	0	-	3	0	-	0	0	-
Juin	0	1	-	0	1	0	0	8	-	0	2	-
TOTAL	24	10	0	0	1	6	6	8	0	0	2	1

tandis que les températures inférieure à 28°C étaient plutôt favorables à *C. mbila*. Il faut relever la présence de *C. arachidis* en avril avec 6 spécimens à Niangoloko dans la zone soudanienne méridionale. Cette relative abondance de la population de cette espèce à Niangoloko en avril peut se justifier par sa capacité à survivre dans des conditions plus défavorables pour les espèces telles que *C. mbila* et *C. similis*, espèces plus sensibles aux températures plus élevées avec une hygrométrie assez basse (10-20 %).

La présence de *Cicadulina* spp dans les périmètres aménagés a été établi, et il ressort des résultats une présence importante de *C. triangula* dans la zone soudanienne centre nord. Ce qui confirme les résultats de 1993 et 1994.

Les plantes hôtes sur lesquelles les cicadelles ont été le plus souvent capturées sont : *Setaria pallide fusca*, *Paspalum orbiculare*, *Digitaria horizontalis* à Savilly, des repousses de *Sorghum* sp., *Brachiaria lata*, *Echinochloa colona* et *Digitaria horizontalis* au Sourou. A Niangoloko, la flore est plus riche en saison sèche, cependant c'est sur *Paspalum scrobiculatum* que les cicadelles mentionnées ont été capturées.

A Savilly et dans la vallée du Sourou l'inventaire des plantes hôtes a permis de recenser un nombre assez appréciable d'espèces auxquelles il faut ajouter les superficies non négligeables de maïs cultivé. Elles jouent un rôle essentiel dans le maintien des cicadelles en cette période. La présence permanente de l'eau serait le facteur déterminant de tout le système parce que intervenant dans la survie des plantes, mais aussi assurant le maintien d'une humidité relative assez élevée indispensable à la survie des cicadelles. Sur certains sites les captures n'ont pas pu se poursuivre à cause de l'arrêt de l'irrigation entraînant l'assèchement complet des espaces prospectés.

La présence de plants de maïs avec des symptômes de la striure sur les périmètres aménagés montre les possibilités de la conservation de l'inoculum sur place. La reproduction de la population résiduelle et l'arrivée progressive des quatre espèces de cicadelles migrantes (en juin) va favoriser la dispersion de l'inoculum avant l'implantation du maïs.

Tableau 18 : Densité de *Cicadulina* spp durant la saison sèche (toutes espèces confondues).

Mois	Densité de cicadelles au m ²		
	Savilly	Sourou	Yendéré
Janvier	-	-	-
Février	0	0,04	-
Mars	0,11	0,04	-
Avril	0,20	0	0,07
Mai	0,16	0,02	-
Juin	0	0,11	-

Les densités de captures (tableau 18) quoique faibles traduisent l'existence de conditions minimales favorables au maintien et à la multiplication du vecteur. En effet, le désherbage non soutenu dans les différentes parcelles de cultures de contre saison et l'irrigation par gravité ou aspersion observée au niveau de ces parcelles créent un microclimat favorable au développement des cicadelles ce qui explique en partie la relative importance des captures enregistrées en avril à Savilly.

Les résultats acquis au cours de ces trois années montrent qu'une population résiduelle de la cicadelle vectrice du MSV passe la mauvaise saison dans les périmètres irrigués au Burkina. Cette population peut jouer un rôle important dans l'épidémiologie de la striure car elle permet le maintien de l'inoculum sur place et favorise ainsi la dissémination de la maladie dès que les conditions favorables interviennent. Cependant la capacité intrinsèque de transmission des espèces passant la mauvaise saison est à prendre en compte dans leur rôle futur dans la propagation de la maladie de la striure du maïs dans le biotope considéré, ainsi que l'isolat de MSV présent en saison sèche (Cf. 3141).

L'immigration des cicadelles vectrices des pays du sud vers les différentes zones du Burkina à l'installation du régime de mousson est réelle, tout comme leur émigration vers le sud avec les vents de l'harmattan en fin de campagne agricole. La présence des voiliers en début de campagne et en fin du régime de mousson confirment ces observations. Cependant, il existe une population autochtone qui se reproduit dès que les conditions redeviennent favorables et colonise ainsi les différents biotopes.

3237. Evaluation du taux d'individus infectieux au sein des populations naturelles de cicadelles

Si le risque d'une explosion de la virose est lié à l'importance de la population du vecteur, la présence de l'inoculum est indispensable pour que le processus de transmission puisse se réaliser dans la nature. Dans la plupart des cas ce sont quelques individus des premiers migrants, porteurs du virus, qui sont responsables des infections virales primaires dont dépendra l'évolution de la maladie. L'évaluation du taux d'individus porteurs du MSV dans la nature et capables de le

transmettre soit au maïs soit à d'autres poacées sauvages permet de mesurer le risque de propagation de la virose dans un biotope donné. Cette étude a été entreprise dans les localités de Saria et Yendéré. Aussi, dans la localité de Saria, en 1992, le taux a été de 0 % durant toute la campagne et en 1993, 0 % en juillet, 3,5 % en août et 4 % en septembre. A Yendéré ce taux était déjà de 3 % en juin, 4 % en juillet, 6 % en août, 4 % en septembre et 0 % en octobre et novembre 1992 alors qu'en 1993, de juin à octobre, les taux étaient respectivement de 3 %, 10 %, 13 %, 6 % et 0 %. L'évolution de ces taux a suivi assez bien l'évolution de la pression de la maladie sur les poacées pendant la saison pluvieuse. La baisse observée au niveau des poacées peut être attribuée au cycle des végétaux dont la plupart meurent très tôt sous la pression de la maladie. La variabilité de ces taux d'une année à l'autre et d'une localité à l'autre peuvent expliquer le caractère erratique de la maladie. Comme on l'observe, le taux d'individus porteurs du virus et présents dans la nature varie constamment d'une année à l'autre ce qui constitue un facteur non négligeable dans les variations de la transmission et de la propagation de la maladie. L'utilisation généralisée des cultivars résistants au MSV ralentit énormément la contamination secondaire qui joue un rôle très important dans l'évolution de la maladie au cours de la campagne.

3238. Dynamique et impact des Dryinides sur les populations de *Cicadulina* spp

Au cours de l'inventaire et des études sur la dynamique des populations de *Cicadulina* spp, il a été découvert pour la première fois au Burkina deux micro-hyménoptères de la famille des *Dryinidae*, parasitoïdes de la cicadelle vectrice du MSV. Il s'agit de *Anteon traorei* OLM et de *Gonatopus incognitus* OLM. L'étude de l'impact de ces deux parasitoïdes sur la dynamique des populations du vecteur a été conduite au cours de la présente campagne dans la seule localité de Saria.

32381. Densité de capture et évolution des populations de *A. traorei* dans les différents biotopes prospectés

La recherche de ce parasitoïde entamée dans les différentes localités simultanément avec l'inventaire des cicadelles a montré qu'il est présent en zone soudanienne centre nord (Saria, Fada, Ngourma, Sourou) tandis qu'en zone soudanienne méridionale on le retrouve mais en nombre très faible (Yendéré, Oradara).

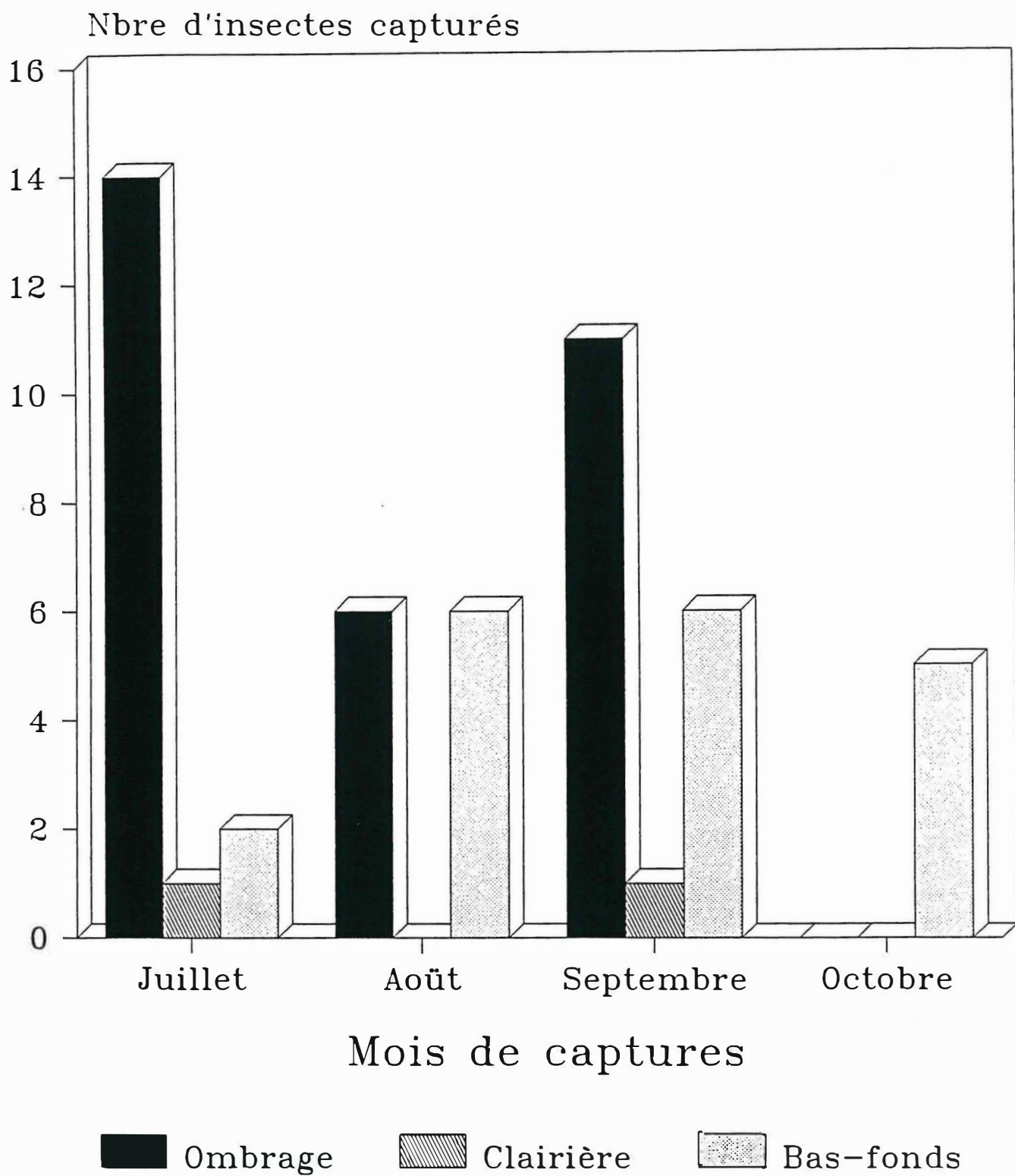


Figure 9 : Evolution d' *Anteon traorei* OLMi dans les trois biotopes dans la localité de Saria en 1995.

L'importance relative des populations du parasitoïde aux mois de juillet et octobre correspond à la période d'abondance des populations des vecteurs du MSV. En effet nous avons constaté en suivant les activités de vol dans la région de Saria qu'un pic précoce se situait en juin et habituellement l'évaluation de la densité de populations sur le couvert végétal a toujours montré que la population de *Cicadulina* croît à mesure que la campagne avance et atteint son maximum au mois de septembre ou octobre selon les années. Les cicadelles constituant le support indispensable pour ces parasitoïdes, la logique de leur développement se trouve ainsi créée. Chandhra (1980) observe le même phénomène sur les populations de *Dryinidae* aux Philippines, il rapporte également que des facteurs tels que la présence d'hyperparasites, les conditions physiologiques des plantes hôtes etc. ; peuvent influencer le niveau de croissance de la population des Dryinides. D'une manière générale, les densités de *A. traorei* sont demeurées très faibles mais constantes, par rapport à celle de son hôte durant toute la campagne avec 0.06 insecte/m² aux mois de juillet, août et septembre. En octobre on a enregistré une baisse importante de la densité des captures qui est tombée à 0.01 individu au mètre carré. Cette densité observée ici peut s'expliquer soit par l'équilibre biologique établi entre ces deux groupes d'insectes aux rapports spécifiques soit par la durée de la campagne hivernale qui ne laisse pas le temps au parasitoïde de se reproduire suffisamment. Les cicadelles parasitées ont également été suivies cependant la densité de capture est restée très faible. Au cours de nos investigations nous n'avons pas rencontré un parasitoïde parasité.

L'évolution du parasitoïde a été suivi sur les différentes strates d'échantillonnage à savoir l'ombrage des arbres, la clairière et les bas-fonds.

Les captures effectuées par le piège à émergence et présentées mensuellement par biotope ont montré une présence relativement plus importante de *A. traorei* à l'ombrage dès le mois de juillet (Figure 9), préférence qui se maintient en août et septembre. Cette densité s'explique par la concentration élevée de cicadelles à cette période sous les arbres. Dès septembre, mais surtout en octobre, la densité de parasitoïdes devient importante dans le bas-fonds, car des plantes hôtes encore turgescentes y favorisent la concentration des cicadelles.

Les travaux, qui ne sont qu'à leur première année, ont permis d'évaluer la pression de *A. Traorei* sur les populations du vecteur du MSV dans la localité de Saria (zone soudanienne). Le parasitoïde est présent durant la majeure partie de la campagne cependant sa densité reste très faible en comparaison de celle des cicadelles. La méthodologie utilisée pour cette évaluation n'a pas permis de cerner avec précision la population parasitée à cause de la paralysie des cicadelles qui ne peuvent plus voler.

32382. Eléments de la biologie de *A. traorei*

Cette étude a été conduite au laboratoire dans une salle où les conditions de température et d'éclairement sont contrôlées. La température a été réglée à $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ et la durée d'éclairement a été de 12 heures. L'humidité est maintenue à $65 \pm 5\%$. Les parasitoïdes capturés dans la nature sont introduits dans les cagettes où les cicadelles sont maintenues sur des plantules de mil (*Pennisetum typhoides* var. P8). Le comportement du micro-hyménoptère a été observé jusqu'à sa mort. Une femelle de *A. traorei* est placée avec 20 cicadelles de sexe indéterminé. Il n'a pas été possible d'évaluer la fécondité parce que les parasitoïdes sont capturés en train de pondre. C'est à partir des élevages que ces paramètres pourront être mesurés.

Les premières observations sur ce parasitoïde montrent qu'un seul insecte est en mesure de pondre sur au moins 5 cicadelles et l'insecte ne semble pas montrer de préférences de choix pour la ponte entre mâle et femelle de *Cicadulina*. Les observations faites sur les insectes ont montré que 4 ± 2 jours après la piqûre du parasitoïde, on observe l'émergence d'une poche au niveau de la structure entre la tête et le thorax. Cette poche de couleur rouge sombre à noirâtre augmente progressivement de volume. A un stade d'évolution avancée de la poche (5 à 6 jours après la pique), la cicadelle parasitée est pratiquement immobilisée. 8 ± 2 jours après l'émergence de la poche, on observe l'apparition d'une larve de couleur beige. Cette larve pénètre dans le sol et c'est après 12 ± 2 jours qu'apparaît l'adulte.

Les résultats obtenus sur la biologie de *A. traorei* restent encore fragmentaires en dépit des informations que nous avons pu obtenir. La non connaissance de plusieurs paramètres biologiques de ces insectes pour leur développement expliquent l'importante mortalité des larves dans nos élevages.

Tableau 19: Relations entre facteurs climatiques et incidence de la striure du maïs.

Facteurs climatiques	Coefficient de corrélation	
	Bobo-Dioulasso	Autres localités
Rayonnement global	- 0,88	+ 0,63
Humidité en janvier	- 0,90	+ 0,71
Humidité en février	- 0,30	+ 0,75
ETP ^a	+ 0,69	- 0,47 ^b
Température	+ 0,25 ^b	- 0,28 ^b

^aEvapotranspiration potentielle

^bCoefficient de corrélation non significatif.

Tableau 20: Régressions de l'incidence de la striure avec les facteurs climatiques (données de différentes localités).

Facteurs climatiques ^a	Variance de l'incidence expliquée
Hum février-Ray-ETP	75%
Ray-Temp-ETP	75%
Hum février-Temp-ETP	73%
Hum janvier-Ray-Temp-ETP	72%
Hum février-Ray-Temp	72%
Hum janvier-Ray-ETP	70%
Hum janvier-Temp-ETP	70%
Hum janvier-ETP	70%
Hum janvier-Temp	68%
Hum février-ETP	68%
Hum janvier-Ray-Temp	67%
Hum février-Ray	64%
Ray-ETP	64%
Hum février-Temp	62%
Ray-Temp	52%
Hum janvier-Ray	50%
Temp-ETP	33%

^aHum, humidité; Ray, rayonnement global; Temp, température; ETP, évapotranspiration potentielle; Ray, Temp et ETP ont été relevées en mai.

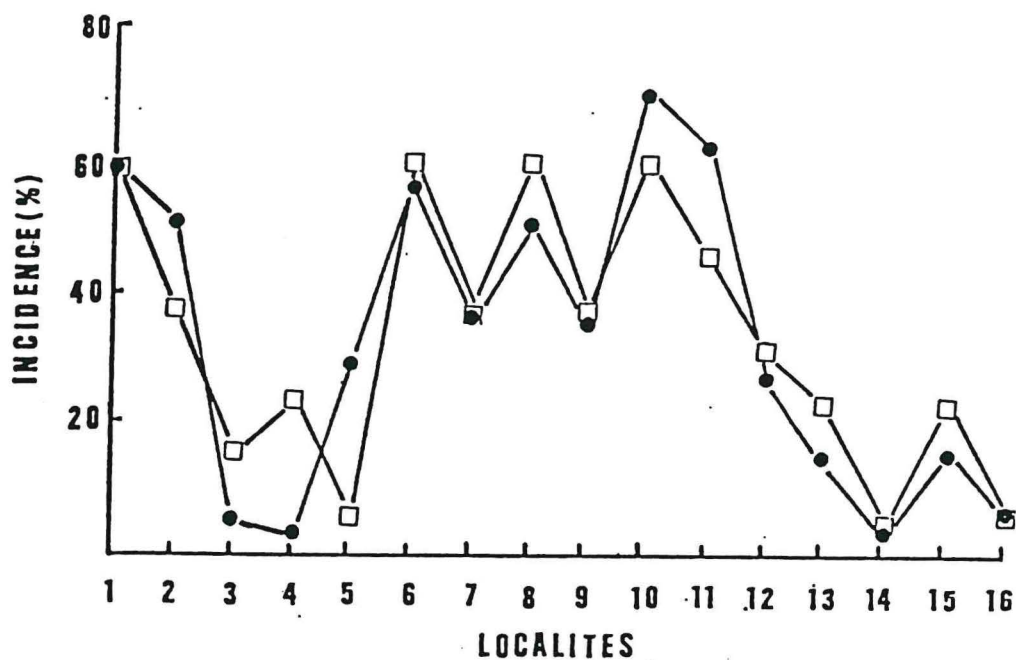


Figure 10 : Incidence de la striure observée (●-----●) et calculée (□-----□) à partir des régressions avec les facteurs climatiques (données locales).

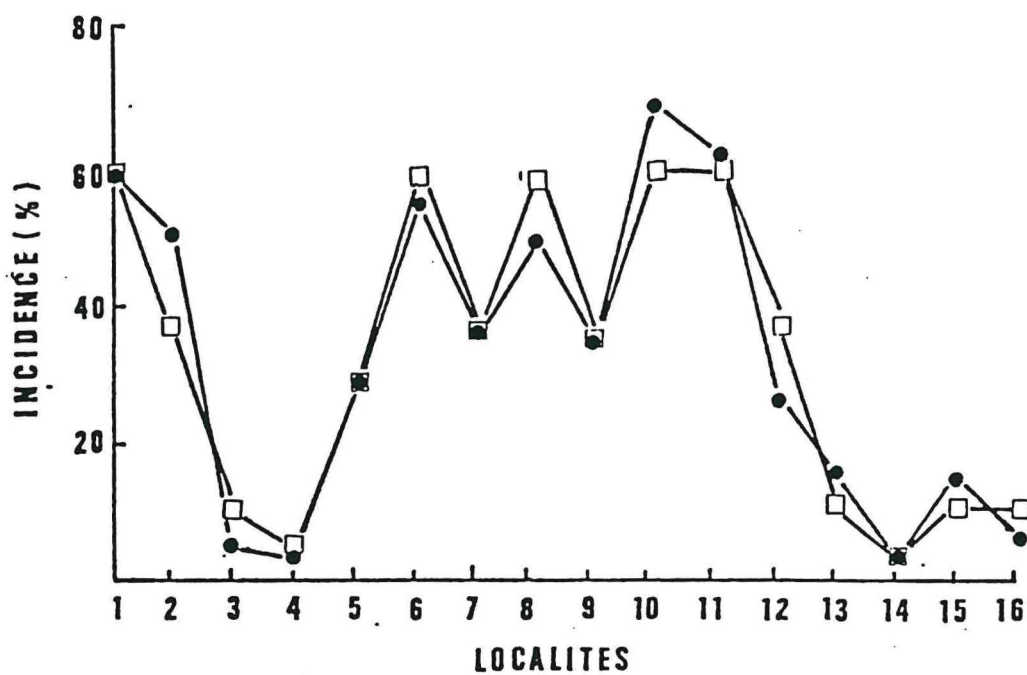


Figure 11 : Incidence de la striure observée (●-----●) et calculée (□-----□) à partir des régressions avec les facteurs climatiques (données de Bobo-Dioulasso).

Cependant l'identification d'une nouvelle espèce de parasitoïde *Gonatopus incognitus* issue de notre élevage de masse suggère la présence de plusieurs parasitoïdes dans notre écosystème. Olmi (1994) signale cette espèce en Tanzanie sur *C. china*, au Nigéria sur *C. storeyi* et au Zaïre sur *C. mbila*.

324. Relation entre facteurs climatiques et épidémies de viroses

Les études concernant les relations entre facteurs climatiques et épidémies de viroses ont été conduites au Burkina, sur des champs de maïs de paysans en 1992-93 pour la striure uniquement et à La Réunion, sur la station de Saint Pierre-Ligne Paradis, par des semis hebdomadaire pendant trois ans, pour les trois viroses.

Au Burkina, les analyses de régressions simples entre facteurs climatiques et épidémies de striure ont permis de distinguer quatre facteurs présentant des liaisons significatives avec l'incidence de la striure. Il s'agit de l'humidité relative de l'air en janvier ou en février (Hum. janvier ou Hum. février), du rayonnement global (Ray), de la température (Temp) et de l'évapotranspiration potentielle (ETP), (tableau 19). Les coefficients de corrélation obtenus indiquent l'ordre d'importance suivant : l'humidité relative de l'air en février, celle de janvier, le rayonnement global en mai, l'ETP en mai et la température en mai. Les coefficients de corrélation avec la tension en vapeur d'eau ou avec la pluviométrie (données mensuelles, plurimensuelles ou annuelles) ne sont pas significatifs. En utilisant ces facteurs dans le calcul des régressions multiples, l'équation suivante a été obtenue :

$$Y = -590,7 + 55,85 \text{ Ray} + 2,44 \text{ Hum février} + 3,6 \text{ Temp} - 1,6 \text{ ETP}$$

Le coefficient de corrélation $r = 0,87$ indique qu'une forte proportion ($r^2 = 76 \%$) de la variance de l'incidence est expliquée par cette relation. La figure 10 présente les variations de l'incidence de la striure observées sur le terrain et l'incidence calculée à partir de l'équation de régression. On constate une bonne concordance dans l'évolution de l'incidence. Des relations également fortes sont obtenues avec l'humidité en janvier ou février ou en ne prenant en compte que deux ou trois facteurs climatiques (tableau 20).

L'action de l'humidité sur l'incidence de la striure peut s'expliquer de la façon suivante : à la fin de la saison des pluies les populations d'insectes vecteurs sont importantes. La disparition progressive des plantes hôtes les oblige à migrer vers les points d'eau et les cultures irriguées qui constituent des refuges propices. L'humidité relative baisse dans le même temps pour atteindre des valeurs inférieures à 30 % en janvier-février. Cela affecte la survie et la multiplication des insectes et a pour conséquence une forte diminution des populations. La taille de la population résiduelle conditionne la disponibilité des insectes pour la saison des pluies suivante ce qui se répercute en définitive sur le développement de la maladie.

Les calculs de régressions ont indiqué que les données déterminantes en ce qui concerne l'évapotranspiration potentielle et le rayonnement sont celles de mai. L'influence de ces facteurs semble s'exercer sur la disponibilité des sources d'infection primaire qui se constituent au début de la saison des cultures de maïs en juin.

La température joue un rôle important dans la biologie des insectes vecteurs, la taille de leur population et leur distribution. Les faibles liaisons obtenues entre la température et l'incidence de la striure ne confirment pas nettement ce rôle.

Les coefficients de régressions avec les différents relevés de la pluviométrie ont tous été non significatifs. Ces résultats ne confirment pas le rôle présumé important de ce facteur dans le développement de la maladie. En effet, l'abondance des populations d'insectes vecteurs et des plantes hôtes est influencée par les précipitations. Cela suggère que d'autres types de données non pris en compte dans les calculs de régression seraient plus déterminants. On ignore par exemple l'influence de paramètres comme la répartition des pluies.

Les régressions avec les relevés effectués à Bobo-Dioulasso ont permis de distinguer les mêmes facteurs qu'avec les données locales mais les liaisons sont en sens contraire (tableau 19). Ce résultat, surprenant, signifie sans doute que des facteurs non pris en compte interviennent localement pour modifier l'influence des paramètres climatiques. Le calcul de la régression multiple a conduit à l'équation suivante :

$$Y = 12545,96 - 1114,55 \text{ Ray} - 3,62 \text{ Hum février} - 6,68 \text{ Temp} - 1,1 \text{ ETP}$$

Tableau 21 : Coefficients de régression et écart-type des régressions multiples pas à pas entre l'incidence des viroses, la densité d'émigrant (cm pour *C. Mbila* et pm pour *P. Maidis*), les variables climatiques (température (t), pluviométrie (p) et humidité relative (h)) avec le décalage temporel optimal

MSV-S	cm(-1)¹	p(-1)	t	p	Constant
Coefficients de régression	18.1	-0.096	8.45	-0.11	-134
Ecart-type	6.6	0.05	1.98	0.05	
Coefficient de détermination	43 (1)	56 (2)	68 (3)	72 (4)	69 ²
MSV-R⁴	cm(-1)	t(-1)	p		Constant
Coefficients de régression	20.7	5.97	-0.10		-114.4
Ecart-type	3.88	1.06	0.022		
Coefficient de détermination	63(1)	69(2)	82(3)		80*
MSTPV-S	t(-1)	pm(-1)			Constant
Coefficients de régression	4.64	6.3			-76.38
Ecart-type	1.92	2.61			
Coefficient de détermination	59(1)	65(2)			63*
MSTPV-R	pm(0)	h(0)			Constant
Coefficients de régression	3.66	0.26			-19.5
Ecart-type	0.41	0.10			
Coefficient de détermination	76(1)	80(2)			80*
MMV-R	pm(0)	t(-1)	p(0)		Constant
Coefficients de régression	1.88	0.99	-0.015		-18.5
Ecart-type	0.49	0.28	0.006		
Coefficient de détermination	54(1)	63(2)	68(3)		66*

1 : décalage en mois

2 : Coefficient de détermination ajusté

MSV-S : MSV sur INRA 508 hybride sensible

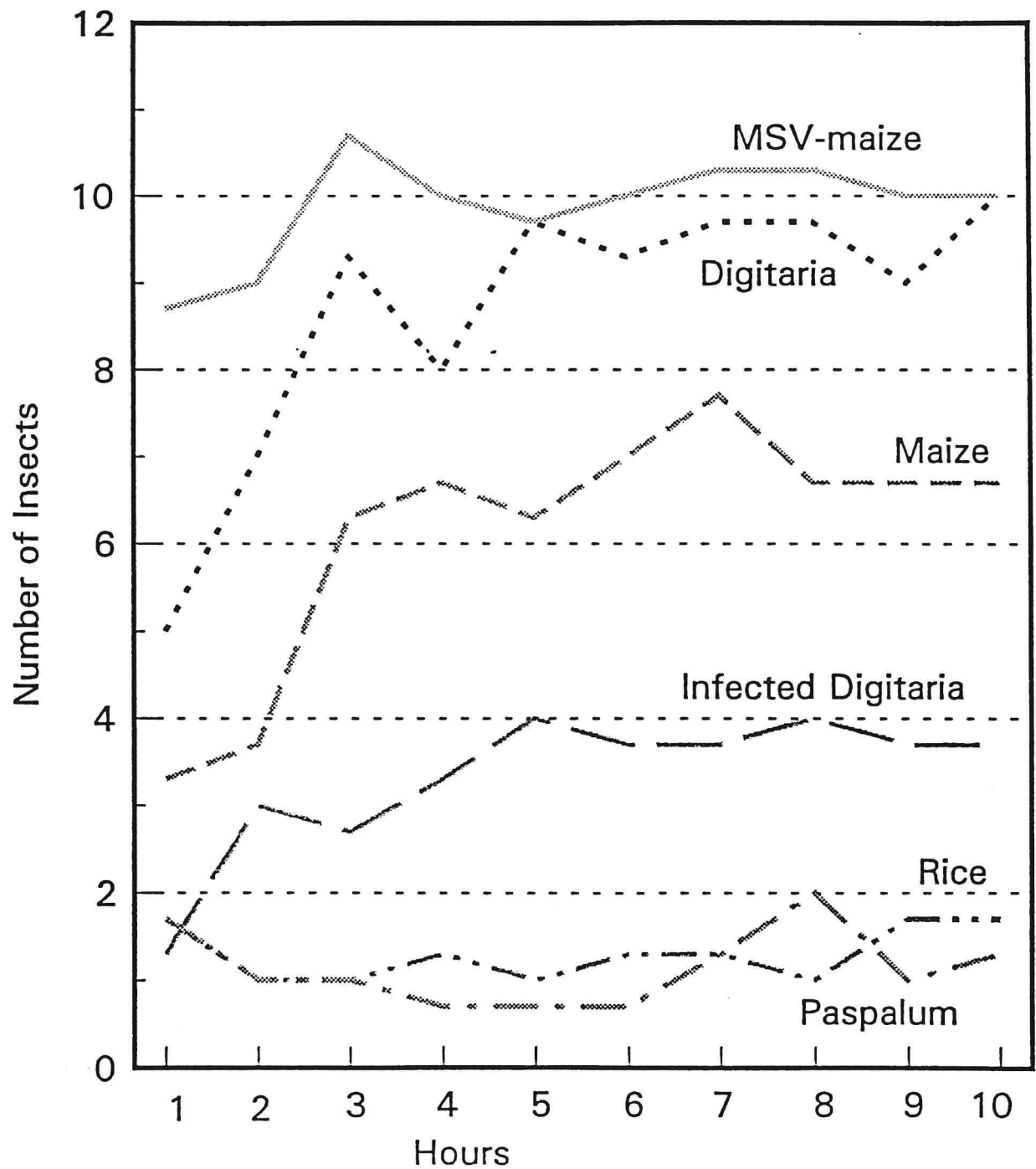
MSV-R : MSV sur IRAT 297 composite résistant

Une plus forte proportion de la variance de l'incidence ($r^2 = 0,96$) est expliquée par cette régression (Figure 11). Comme dans le cas des données locales, de fortes relations sont obtenues avec l'humidité en janvier ou en n'utilisant que deux ou trois facteurs dans les calculs de régressions (60 à 92 % de la variance expliquée).

A La Réunion, lors du projet TSD-0856-F (1984-1987), des notations symptomatologiques du MSV, du MStpV et du MMV ainsi que des captures de *C.mbila* et *P. maidis* avaient été menées sur des semis hebdomadaires de l'hybride sensible INRA 508 et du composite résistant IRAT 297 durant 3 ans à Saint-Pierre. Ces données ont été reprises en 1995 pour essayer avec l'aide d'un épidémiologiste (D. Fargette, ORSTOM/Montpellier) de modéliser ces épidémies. Les données climatiques, d'incidences et de densités d'insectes émigrants ont été analysées en séries temporelles et par régression pas à pas. La striure (MSV) est la maladie dominante alors que la mosaïque (MMV) est la moins fréquente. Les plus fortes autocorrélations sont observées avec un décalage de 12 mois, confirmant la fluctuation annuelle des épidémies. Les densités d'émigrants sont corrélées positivement avec les incidences (0.65 à 0.87). Les incidences des maladies et les densités d'émigrants augmentent très fortement au dessus de 24°C. L'influence des autres facteurs climatiques (pluviométrie et humidité relative) est plus nuancée et beaucoup moins importante.

Selon les séries, entre 63 % et 80 % des variations d'incidence des viroses sont expliquées par les régressions pas à pas avec les densités d'émigrants, la température et parfois de pluie ou d'humidité relative (tableau 21). Aussi, l'excellent ajustement entre les données observées et les données calculées par régression multiple nous permettent de proposer un modèle épidémiologique simple. Rose (1983) différencie deux situations environnementales pour les épidémies de MSV, l'une provoquée par des insectes se dispersant sur de courtes distances de plantes sources proches et l'autre par des insectes volant sur de longues distances et provenant de vastes zones de savanes. Notre modèle s'applique mieux à la première situation où la pluviométrie est rarement le facteur limitant. Celle-ci correspond à de nombreuses zones maïsicoles aussi bien insulaires que continentales particulièrement en moyenne altitude. Le modèle du Burkina s'apparenterait par contre plutôt à la seconde situation typiquement celle de

Figure 12 : Résumé de trois expériences d'alimentation avec choix, avec 40 insectes ayant accès aux plantes pendant 10 heures.



la savane soudanienne et sahélienne. L'acquisition de nombreuses données épidémiologiques, en particulier au cours de ce projet, devrait à terme nous permettre de développer un modèle général qui puisse être applicable à la majeure partie des zones maïsicoles africaines soumises aux risques d'épidémies virales.

325. Interaction plante-insecte

3251. Préférence d'hôtes

Des groupes d'insectes ont été placés dans des cages contenant différents hôtes disposés au hasard. Un comptage des insectes est effectué à plusieurs reprises sur une durée de 10 heures en lumière continue.

La figure 12 montre la distribution des insectes sur les différentes plantes. Le maïs infecté est toujours le plus attrayant pour les insectes. En situation de choix entre maïs ou *Digitaria sanguinalis*, soit sain soit infecté par le MSV, les insectes préfèrent les plantes infectées aux plantes non infectées et les plantes de *Digitaria* aux plantes de maïs. La couleur semble jouer un rôle déterminant dans le choix de l'hôte. Une plante de maïs infectée est très jaune en comparaison d'une plante de *Digitaria* infectée dont la couleur dominante est blanc. Ceci suggère que certaines plantes, bien qu'infectées par le MSV, seraient de mauvaises plantes sources, car le virus, localisé dans les cellules du mésophylle, ne pourrait être acquis que par des insectes se nourrissant dans ces cellules et pas aussi efficacement par des insectes préférant le phloème.

3252. Capacité de transmission des vecteurs

Capacité intrinsèque de transmission des différentes espèces

Les cicadelles entretenues dans l'élevage de masse **du Burkina** ont été testées par espèce, stades et sexes confondus. Les cicadelles ont été mises en acquisition pendant 48 heures sur la souche SK_F (Souche Kamboinsé forte) obtenue au laboratoire de virologie de Kamboinsé et entretenue sur la variété sensible "Jaune Flint de Saria" (JFS). Cette variété a également servi de plante test.

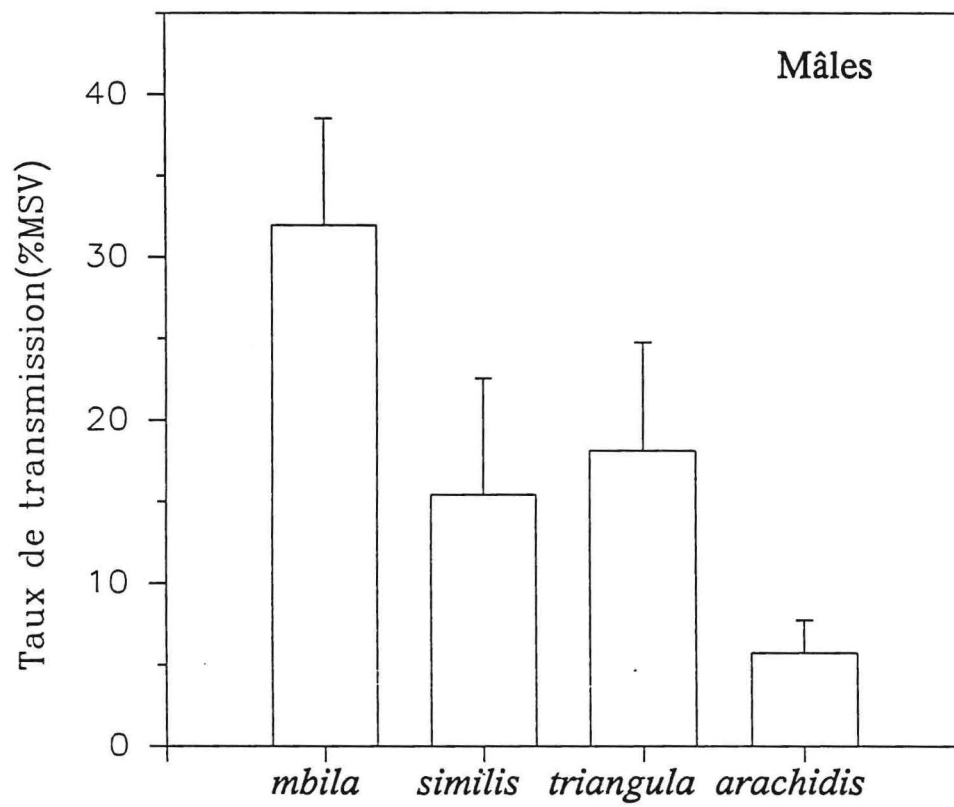


Figure 13 : Taux moyen de transmission du MSV par les mâles de quatre espèces de *Cicadulina* spp. Les barres verticales représentent les écarts types.

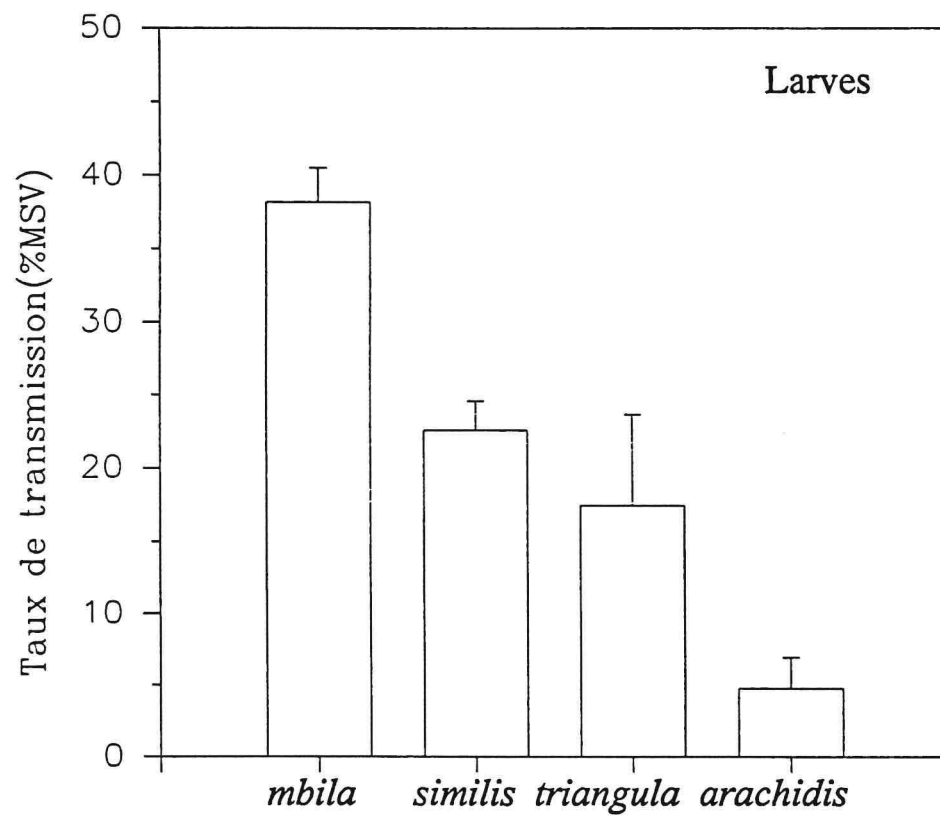


Figure 14 : Taux moyen de transmission du MSV par les larves de quatre espèces de *Cicadulina* spp.

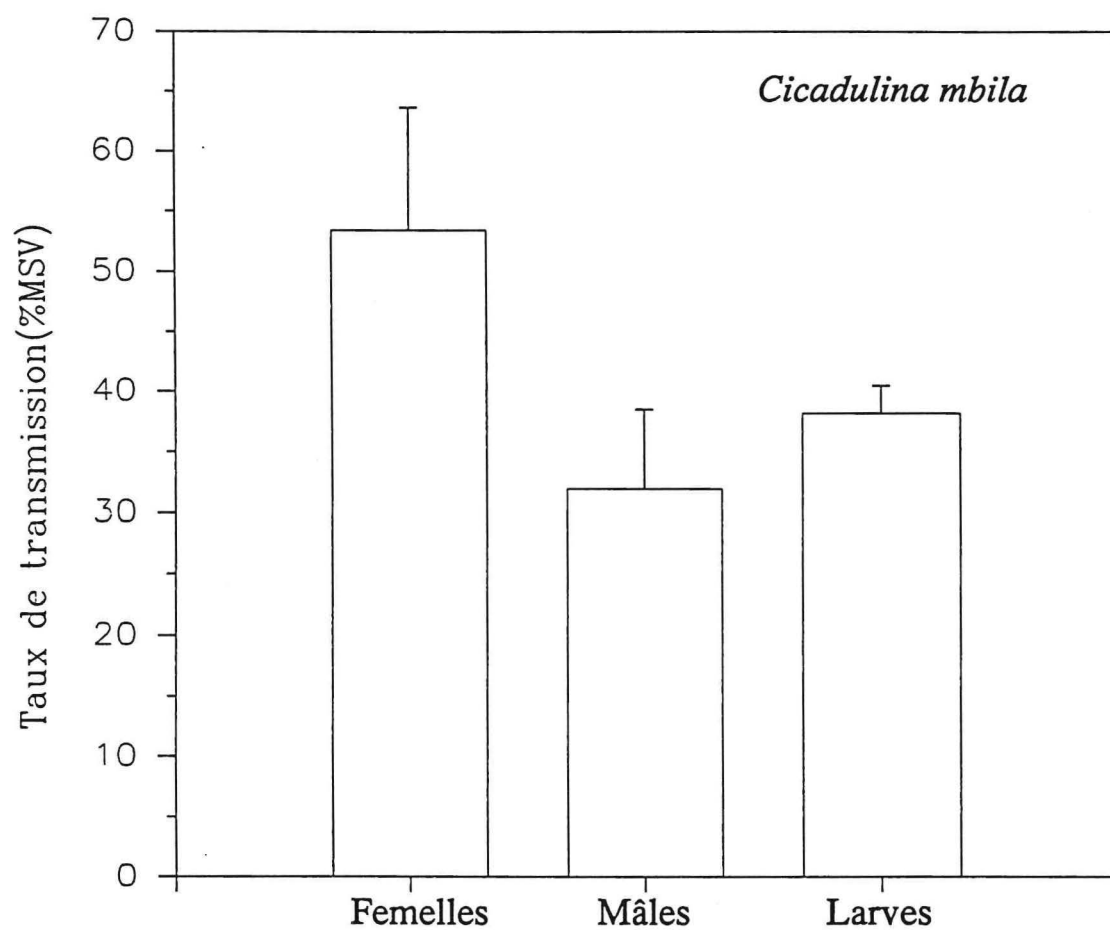


Figure 15 : Capacité de transmission des mâles, femelles et larves de *Cicadulina mbila*.

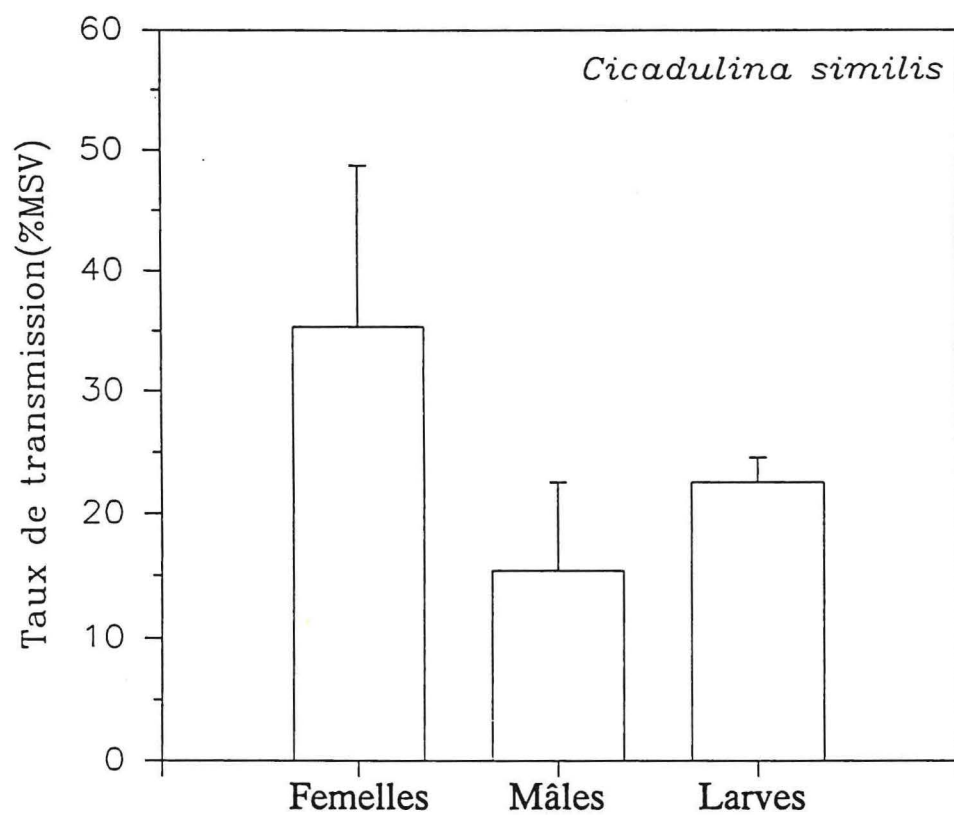


Figure 16 : Capacité de transmission des mâles, femelles et larves de *Cicadulina similis*.

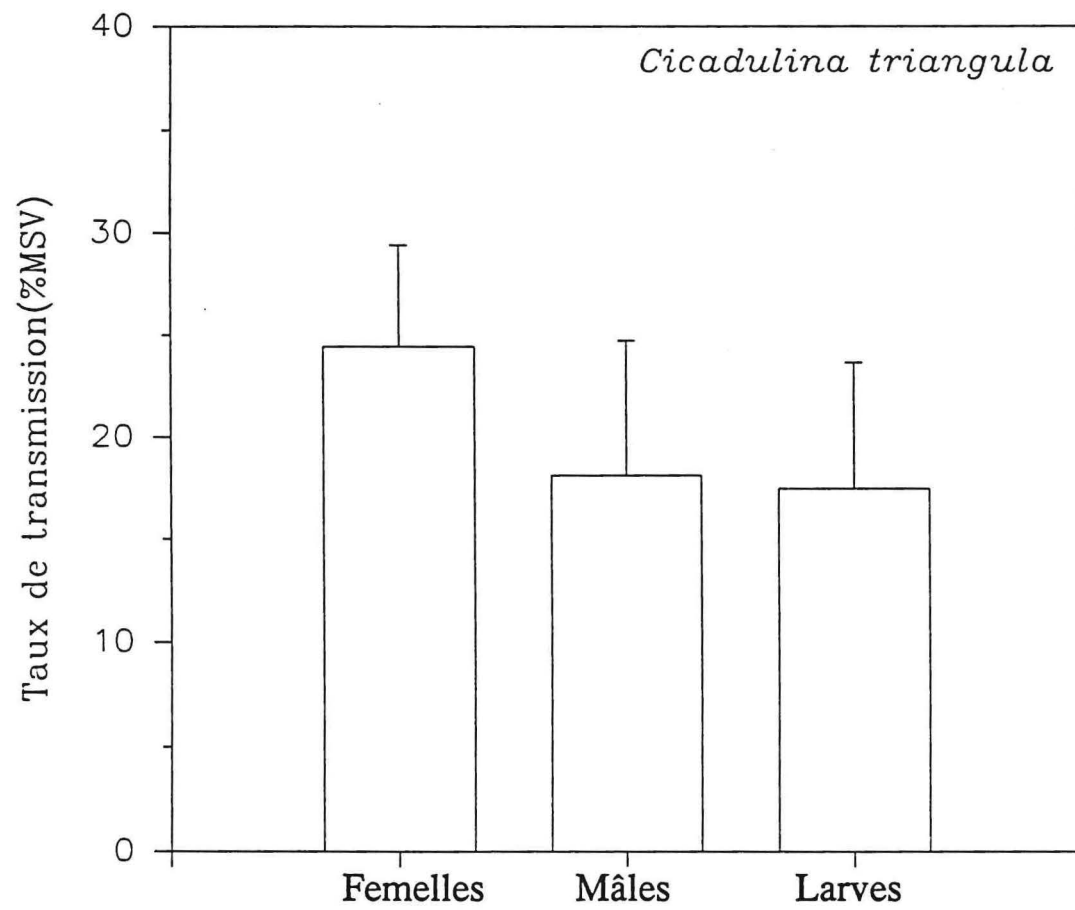


Figure 17 : Capacité de transmission des mâles, femelles et larves de *Cicadulina triangula*.

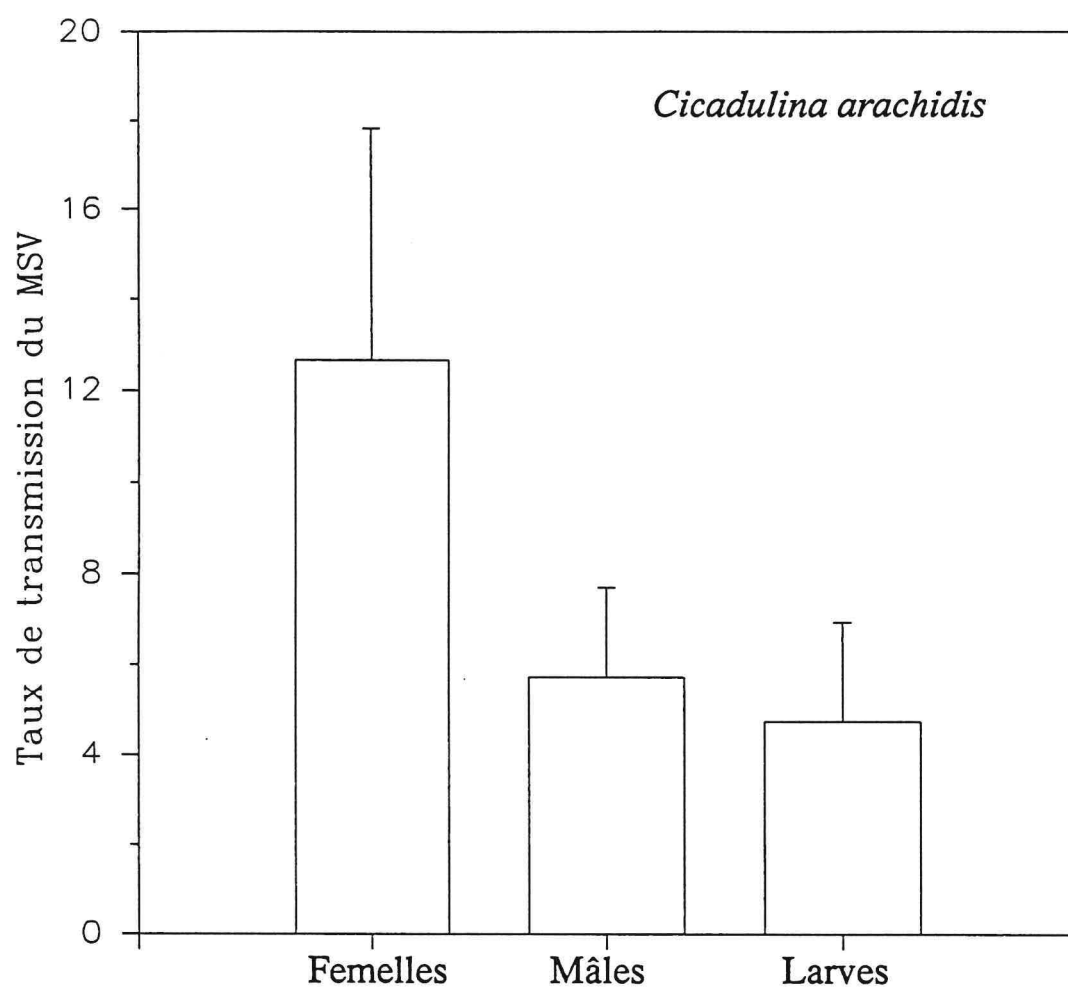


Figure 18 : Capacité de transmission des mâles, femelles et larves de *Cicadulina arachidis*.

Après l'acquisition, les cicadelles sont individuellement transférées sur des plantules âgées de sept jours et sont recouvertes d'une cagette. L'inoculation dure 48 heures, puis les plantules sont traitées à la cyperméthrine 50 g/l.

Il ressort de ces résultats que toutes les espèces recensées peuvent transmettre le virus de la striure au maïs. L'efficacité varie suivant l'espèce, ainsi *C. mbila* a été le meilleur vecteur suivi de *C. similis* et *C. triangula*, *C. arachidis* a eu la capacité de transmission la plus faible. Ces résultats montrent l'efficacité de *C. mbila* dans la transmission du MSV par rapport aux autres espèces ce qui permet d'envisager son utilisation lors de tests de criblage en vue d'identifier des variétés résistantes. Par contre, la facilité de manipulation de *C. triangula* permet d'envisager plutôt son utilisation dans la sélection pour la résistance du maïs à la striure, *C. mbila* ne supportant pas les manipulations dans cette localité entre mars et juin à cause des températures assez élevées en cette période. Les capacités rapportées ici sont relativement faibles par rapport aux résultats habituellement rapportés par d'autres auteurs. On peut penser que cela est dû au fait que les cicadelles testées sont au moins de la quinzième génération, ce qui pourrait justifier la baisse de la capacité de transmission des individus testés.

La transmission du MSV effectuée avec les adultes mâles, les adultes femelles et les larves des différentes espèces montre une variation importante entre les espèces quant à leur capacité de transmission (Figures 13 et 14). Parmi les espèces identifiées au Burkina, *C. mbila* apparaît la plus efficace aussi bien au niveau des adultes mâles et femelles que des larves. Quant à *C. similis* et *C. triangula*, quelque soit le stade (larve) ou le sexe (mâle ou femelle), elles présentent les mêmes capacités de transmission (Test de Duncan, = 0,05). Enfin, *Cicadulina arachidis* est l'espèce qui présente la plus faible capacité de transmission. (tableau 22)

Les figures 15, 16, 17 et 18 montrent la capacité intrinsèque des larves, femelles et mâles au sein de chaque espèce. La capacité de transmission varie selon le stade et le sexe chez *C. mbila*. Les femelles de *C. mbila* avec une capacité de 53 % manifestent une supériorité par rapport aux mâles (32 %) et aux larves (38 %), qui montrent une même capacité. Chez *C. arachidis*, on note la même différence de transmission entre larve, mâle et femelle, et ce sont également les femelles (13 %) qui ont été plus aptes à transmettre le virus que les mâles (6 %) et les larves (5 %) qui ne

Tableau 22 : Taux de transmission du MSV par différentes espèces de *Cicadulina*.

	<i>C. mbila</i>	<i>C. similis</i>	<i>C. triangula</i>	<i>C. arachidis</i>
Taux moyens	41.19 A	24.44 B	20.01 B	7.72 C
Femelles	53.43 a	35.33 bc	24.45 cd	12.68 de
Mâles	31.94 bc	15.42 de	18.12 de	5.73 e
Larves	38.20 b	22.58 cd	17.45 de	4.76 e

Les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes.

Les lettres en majuscules permettent de comparer les taux moyens de transmission des 4 espèces.

Tableau 23 : Efficacité de transmission de la souche MSV-N par diverses espèces de *Cicadulina* suite à une acquisition sur plantes infectées ou après injection du virus. (*) 60 individus testés sur maïs sucré.

Espèce/origine	Hôte	% moyen plante à plante	% moyen injection à plante
C. mbila Kenya-3	(Maïs)	83 a*	60-100
C. mbila Kenya-3	(Digitaria)	90 a	nd
C. mbila Kenya-2	(D)	63 a	nd
C. mbila Kenya-2	(M)	80-100 a	nd
C. mbila South Africa	(M)	86 a	88
C. mbila South Africa	(D)	80 a	nd
C. mbila Mauritius	(M)	67 a	nd
C. mbila Nigéria	(D)	43 b	nd
C. mbila Ethiopia	(D)	68 a	nd
C. triangula Nigéria	(M)	22 cd	77
C. triangula Nigéria	(M)	23 cd	nd
C. triangula Nigéria	(D)	5 de	nd
C. bipunctella Turkey	(D)	3 de	41
C. bipunctella Bali	(D)	3 de	90
C. bipunctella Ethiopia	(D)	15 fde	nd
C. bimaculata Australia	(M)	27 cd	nd
C. arachidis Nigéria	(D)	43 b	nd
C. chinai Nigéria	(M)	0 de	55
C. niger Kenya	(M)	nd	nd
Dalbulus maidis	(M)	0	< 1
Nesoclutha pallida	(M)	0	0

Tableau 24 : Délai moyen d'apparition des symptômes (en jours) après inoculation par les différentes espèces.

Espèces	Durée d'incubation (ecart-type)
<i>C. arachidis</i>	9 2,22 a
<i>C. triangulara</i>	8 1,76 a
<i>C. similis</i>	6 1,34 b
<i>C. mbila</i>	5 0,83 b

Les moyennes ayant des lettres différentes diffèrent significativement au seuil de 0,05

montrent pas de différence. Au sein de la population de *C. similis*, les mâles, les femelles et les larves n'ont pas non plus la même capacité de transmission du MSV ; les femelles sont plus efficaces (35 %) que les mâles (14 %), alors que les larves, qui présentent une capacité intermédiaire (23 %), ne sont pas significativement différentes des femelles et des mâles. Enfin, chez *C. triangula*, on ne note pas de différence de potentialité de transmission du virus du MSV entre mâles (18 %), femelles (24 %) et larves (17 %).

Une étude, très proche, a été réalisée au J. I. C. sur différentes espèces de cicadelles mais aussi, pour une même espèce, sur des cicadelles de différentes origines géographiques.

Cicadulina mbila a été plus efficace dans la transmission du MSV que *C. triangula*, *C. bipunctella*, et *C. arachidis*. *C. chinai* n'a été capable ni d'acquérir ni de transmettre le MSV à partir de plantes (tableau 23). Cependant pour toutes les espèces testées, la transmission du virus après injection a été aussi efficace (*C. mbila*) voir plus efficace que celle qui succède à une acquisition sur plante et ceci même pour *C. chinai*.

L'efficacité de transmission du MSV par *Cicadulina* varie donc suivant les espèces. *C. mbila* est toujours la plus efficace. Cependant il apparaît que les plantes hôtes ont peu d'influence sur la capacité à acquérir et à transmettre. Ces résultats montrent que les récepteurs situés à l'intérieur des insectes sont déterminés par les géotypes des insectes. Dans le cas de *C. chinai*, il semblerait qu'il y n'y ait aucun récepteur au niveau du tube digestif pour l'acquisition mais par contre qu'il y en ait au niveau des glandes salivaires qui permettent à l'insecte de transmettre le virus suite à une injection. L'efficacité de *C. mbila* semble être liée à son interaction alimentaire avec le maïs.

Durée d'incubation dans les différentes espèces

La durée d'incubation de la maladie de la striure du maïs a été étudiée au Burkina. Elle est fonction de l'espèce, du sexe et du stade de développement de la cicadelle vectrice (tableau 24). Les plantes testées développent les symptômes dans des délais variables, ainsi avec *C. arachidis*, le maïs sensible a mis en moyenne 9 jours pour le début d'expression de la maladie, avec *C.*

triangula le délai est de 8 jours. Avec *C. similis* et *C. mbila* il a fallu respectivement 6 et 5 jours pour l'apparition des symptômes. Quant aux adultes mâles, adultes femelles et larves toutes espèces confondues, on note des différences notables dans la durée d'incubation de la maladie. C'est avec les larves que les symptômes ont mis le délai le plus long pour s'exprimer avec une durée moyenne de 9 jours. Par contre, Il n' y a aucune différence significative entre mâles et femelles pour lesquels les plantes ont mis respectivement 7 et 6 jours en moyenne pour l'apparition des premiers symptômes du MSV.

Les résultats montrent que la durée d'incubation est variable selon l'espèce vectrice, elle est plus courte avec *C. mbila* et *C. similis* par rapport aux deux autres espèces. L'importance de cette caractéristique réside dans le fait que le raccourcissement de la période d'incubation accroît le risque de propagation de la maladie. Des travaux similaires conduits par Dabrowski (1987) montre que la période d'incubation à partir des transmissions réalisées avec *C. triangula* varie entre 5 et 7 jours, tandis que Reynaud (1988) rapporte une durée comprise entre 4 et 6 jours pour *C. mbila*.

3253. Electrophysiologie en AC et DC avec EPG

32531. Caractérisation des signaux EPG émis par *P. maidis* et *C. mbila*:

L'amélioration de la chaîne de mesure a été nécessaire jusqu'à mi 93 pour s'affranchir des divers parasites électriques, qui perturbaient le signal émis par l'insecte.

Les signaux de *P. maidis* ont été caractérisés prioritairement pour pouvoir analyser la résistance à la transmission du MMV qui avait déjà été observée sur certaines lignées de maïs originaires de La Réunion.

Vingt à trente jeunes femelles brachyptères ont été enregistrées pendant au moins 3 heures.

L'analyse temporelle des signaux permet de les répartir en trois classes :

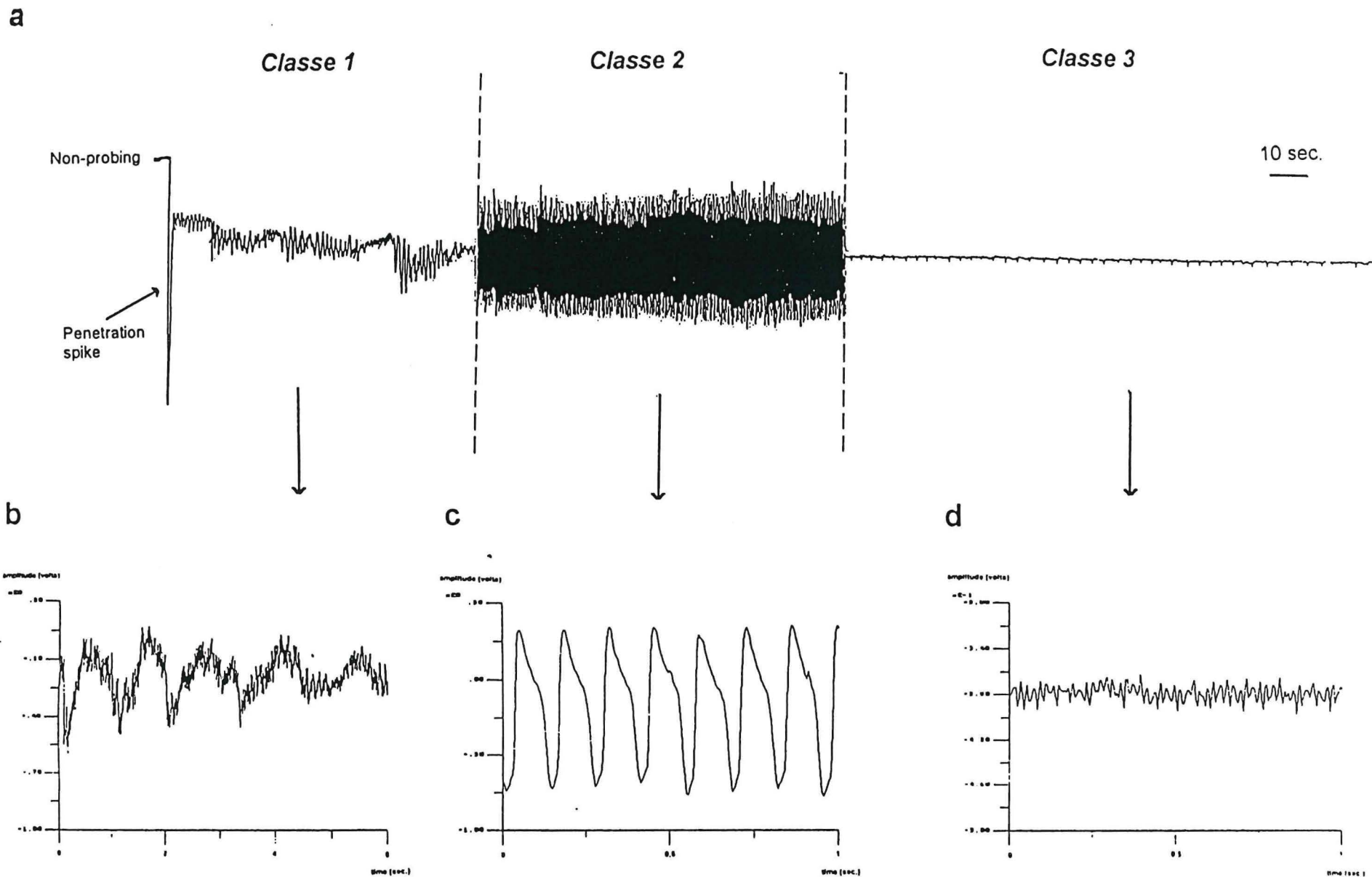


Figure 19 : Les différentes classes de signaux émis par *Peregrinus maidis* en EPG : a = enregistrement sur papier, bcd = détail des signaux obtenus avec le logiciel Viewdac.

- classe 1 : il débute par un pic de très forte amplitude correspondant à la perforation initiale des tissus végétaux. Il est suivi de nombreux pics de forte amplitude et de chute de potentiel importante. C'est un signal complexe mais qui présente quelques motifs caractéristiques qui se répètent (Figure 19). La durée de ce signal est brève, entre 12 s et 3 mn.
- classe 2 : il est toujours précédé du signal de classe 1. C'est un signal périodique de grande amplitude (600 à 1300 mv) qui peut durer plus d'une heure.
- classe 3 : il est toujours précédé par le signal de classe 1 et souvent par celui de classe 2. Il a une faible amplitude (25 à 40 mv) et peut durer plusieurs heures.

L'analyse statistique des données numérisées montre que la médiane des amplitudes est le paramètre permettant le mieux une différenciation significative des signaux de classes 2 et 3.

L'analyse spectrale est réalisée après soustraction de la composante continue du signal en appliquant la transformée de Fourier rapide (FFT) qui est exprimée en spectre de puissance (APS). Les motifs caractéristiques du signal de classe 1 présentent une zone spectrale autour de 1 hertz. Le signal de classe 2 révèle un APS caractéristique d'un signal périodique avec la composante fondamentale à 7 hertz. Le signal de classe 3 présente une zone spectrale entre 0 et 3 hertz ainsi que des pics à 8 et 11 hertz.

Des coupes histologiques sériées ont été réalisées sur 10 échantillons prélevés durant chacune des 3 classes de signaux. Les gaines sétales formées par *P. maidis* sont épaisses de 15 à 25 microns. Leur trajet est direct et intracellulaire. Les coupes réalisées au cours de l'émission d'un signal de classe 1 montrent que les gaines sétales se terminent dans le mésophylle et n'atteignent pas les faisceaux vasculaires. Pour le signal de classe 2, six échantillons sur dix montrent un trajet interprétable. Les gaines sétales présentent 2 ou 3 branches mais 1 ou 2 se terminent dans le mésophylle et la troisième dans le xylème. Enfin, pour le signal de classe 3, trois échantillons sur dix présentent un trajet de la gaine sétale complet. Ceux-ci ont tous deux ramifications, l'une se terminant dans le parenchyme et l'autre dans une cellule du phloème.

L'observation des coupes histologiques des gaines sétales émises par les insectes au moment des enregistrements permet d'affecter un positionnement des stylets en fonction du type de signal. Le signal de classe 1 correspond à la phase d'exploration des tissus jusqu'aux faisceaux vasculaires que *P. maidis* atteint très rapidement. Le signal de classe 2 correspond à une alimentation dans le xylème et celui de classe 3 à une alimentation dans le phloème. Les gaines sétales de *P. maidis* ressemblent à celles d'autres delphacides comme *Nilaparvata lugens* ou *Perkinsiella saccharicida* et sont très différentes de celles des pucerons. Les signaux de classes 2 et 3 correspondent bien respectivement aux signaux P5 et P4 de *N. lugens* définis par Kimmins (1989). Elle les a corrélés respectivement à des ingestions dans le xylème (P5) et dans le phloème (P4) du riz par analyse des miellats. L'amplitude élevée du signal de classe 2 et surtout son aspect périodique peut s'expliquer par l'activité des muscles qui contrôle la pompe pharyngienne.

Sans analyser en détails toutes les caractéristiques en EPG de *P. maidis*, cette première étude permet la différenciation des principales caractéristiques de son comportement alimentaire : sondage dans le mésophylle, alimentation dans le xylème ou dans le phloème. Cet insecte s'alimente préférentiellement dans le phloème dans des génotypes sensibles. Des études comparatives peuvent donc être engagées pour établir si la résistance à la transmission du MMV chez IRAT 297 est liée ou non à une alimentation non soutenue dans le phloème. L'analyse spectrale du signal par FFT est une approche nouvelle pour l'étude des signaux EPG. Elle permet pour *P. maidis* une excellente différenciation des signaux et peut être très complémentaire des analyses temporelles qui sont généralement pratiquées. L'utilisation de l'analyse spectrale permet également de disposer d'une méthode standardisée sur des signaux numérisés qui fournit des critères reproductibles pour comparer l'activité alimentaire de différentes espèces d'insectes piqueurs suceurs.

Le comportement alimentaire de *C. mbila* a été étudié en second lieu en tenant compte des résultats obtenus avec *P. maidis*. La chaîne de mesure a été tout d'abord améliorée. En effet, la comparaison des spectres des signaux des deux insectes montre l'existence de certaines raies identiques, qui de plus varient en fonction de la fréquence d'échantillonnage. Celles-ci sont générées par des phénomènes de repliement spectral. Un filtre actif a donc été rajouté en sortie d'amplification et avant le convertisseur pour éliminer les fréquences supérieures à 45 hz sachant que le signal utile a des fréquences plus basses.

D'autre part, les coupes en paraffine observées au microscope photonique ne donnent qu'une localisation tissulaire de la gaine sétale. Celle-ci étant souvent ramifiée, il est impossible de connaître le trajet exact des stylets et surtout de localiser au niveau cellulaire leur extrémité au moment d'un signal. Pour établir cette corrélation, l'ablation des stylets est réalisée avec un microcautérisateur et des coupes séries ultrafines sont pratiquées dans l'échantillon végétal pour chaque type de signal.

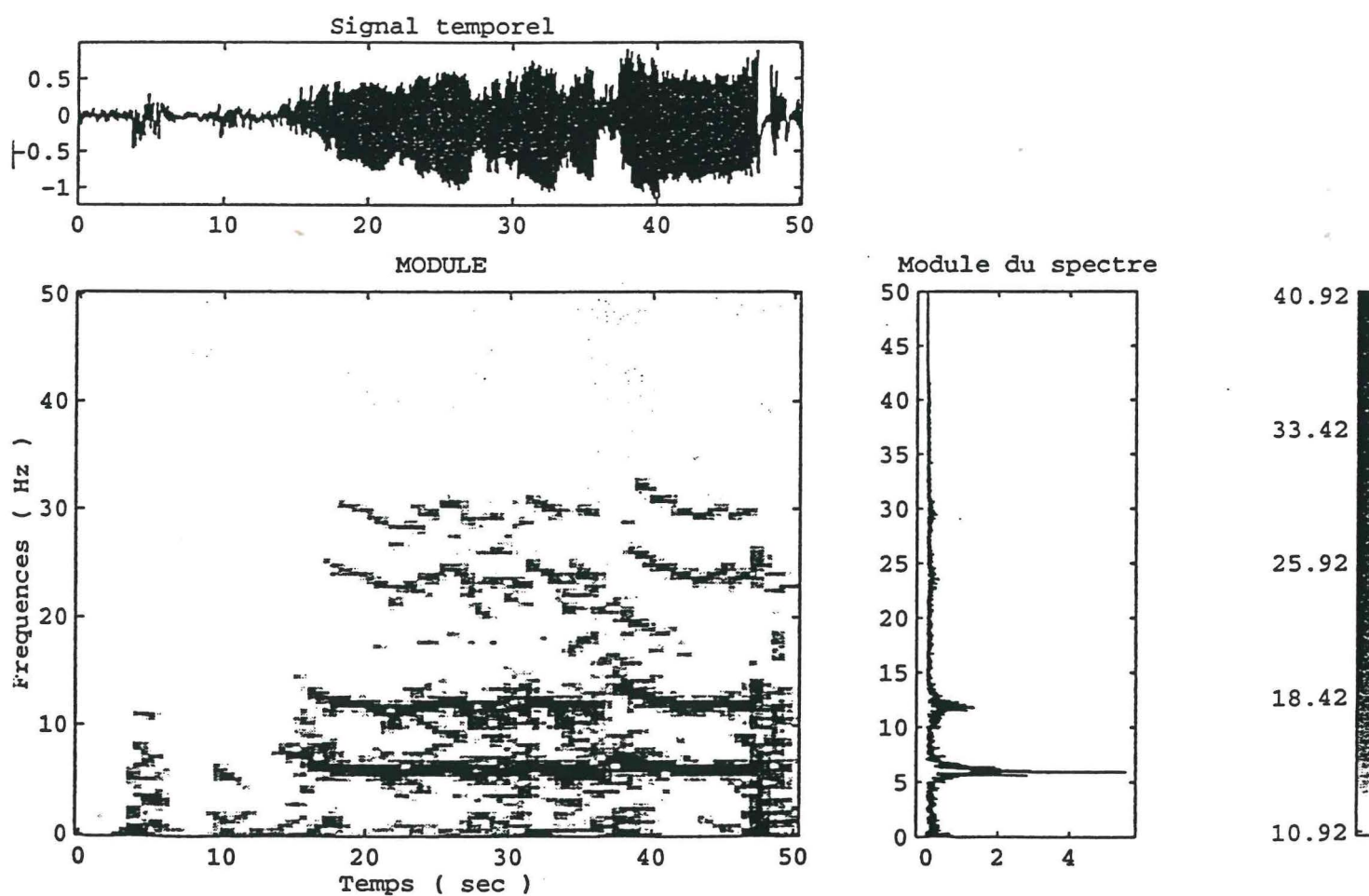
Enfin, en plus des analyses temporelles, spectrales et statistiques du signal, des analyses temps fréquences (spectrogrammes) ont été effectuées pour rechercher d'autres critères de différenciation.

Trente jeunes adultes femelles de *C. mbila* ont été enregistrées pendant 1 à 8 heures sur l'hybride Sabrina. Vingt stylectomies ont été réussies et 5 échantillons ont déjà été observés en microscopie électronique.

Par une première analyse temporelle, 5 classes de signaux peuvent être distinguées :

- classe 1 : il débute par un pic de très forte amplitude correspondant à la perforation initiale des tissus végétaux. Il est suivi de nombreux pics de forte amplitude et de chute de potentiel importante. C'est un signal complexe mais qui pourrait être séparé en sous classes (A, B, C) comme cela a été défini par Tjallingii (1990) pour les pucerons. Dans l'ensemble, ce signal est très irrégulier et sa durée est généralement brève (4 à 6 mn) et atteint exceptionnellement plus de 20 mn.
- classe 2 : celui-ci est toujours précédé ou suivi du signal de classe 1. C'est un signal périodique de grande amplitude (1,5 à 5 v). Il débute toujours par une importante chute de potentiel pouvant correspondre au "potential drop" de Tjallingii (1988) mais celle-ci est très brève. La durée de ce signal varie de quelques secondes à une trentaine de minutes.

Figure 20 : Analyse temporelle spectrale et temps-fréquence du signal de classe 2 émis par *Cicadulina mbila*.



- classe 3 : il est toujours précédé par le signal de classe 1. Souvent il apparaît après un ou plusieurs signaux de classe 2 mais toujours séparé par un signal de classe 1 (en particulier de type B). Ce signal est caractérisé par une grande régularité tant dans la séquence que dans la signature temporelle. Il dure en moyenne 30 mn. Son amplitude moyenne est plus faible (0.4 v) que celle des signaux de classes 1 et 2.

- classe 4 : Ce signal est toujours précédé d'un signal de classe 3 et le passage entre les 2 classes a une signature temporelle caractéristique. Celui-ci ne présente aucune chute de potentiel et s'effectue de manière continue et régulière. Le signal de classe 4 présente des caractéristiques temporelles assez variables, deux types extrêmes pouvant être définis. Le classe 4 type 1 est un signal très régulier tant en amplitude que pour son motif. Il ressemble à celui de la classe 1 mais son amplitude est environ dix fois plus faible (0.4 v en moyenne). Le type 2 diffère simplement par la présence d'un motif supplémentaire de fréquence plus basse également très régulier. Si l'insecte n'est pas perturbé, ce signal peut durer plusieurs heures. Lors de l'émission des signaux de classes 3 et 4, l'insecte est immobile, en position couchée sur la feuille.

- classe 5 : Ce signal est observé très rarement et généralement entre 2 signaux de classe 2 sans aucune chute de potentiel, il est de très faible amplitude (0.2 v) hormis des pics de forte amplitude (entre 1 et 2 v) toutes les 20 s environ.

L'analyse fréquentielle permet de bien séparer les différentes classes :

- classe 1: les composantes se répartissent inégalement entre 0 et 10 hz mais sont surtout concentrées entre 0 et 4 hz avec un pic autour de 1 hz.

- classe 2 : on a un pic fondamental entre 5 et 7 hz et des harmoniques sont éventuellement présentes (Figure 20).

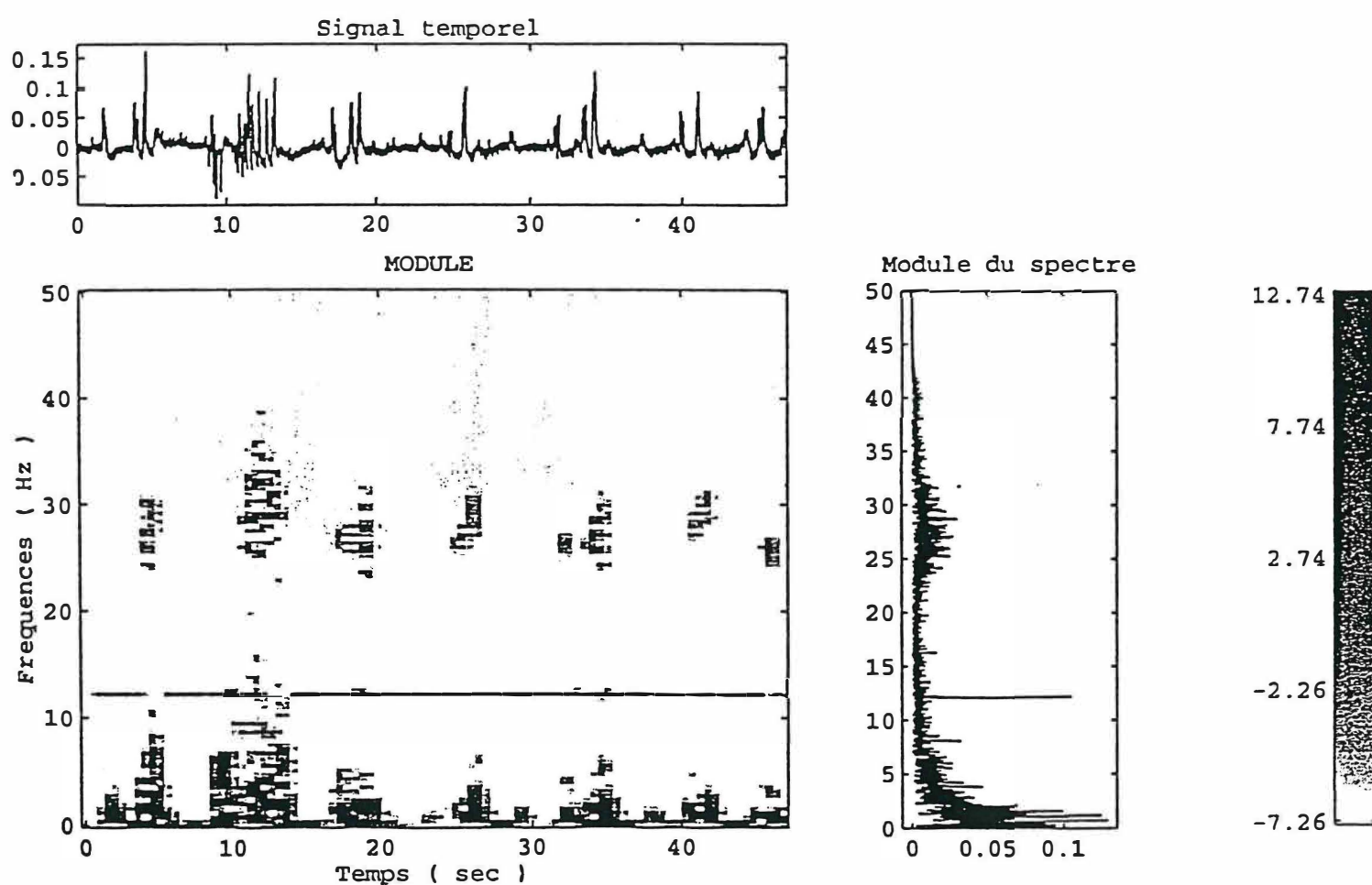
- classe 3 : on a une forte activité dans les basses fréquences entre 0 et 2 hz avec un pic important entre 0.5 et 1 hz (Figure 21).
- classe 4 : pour le type 1, on a seulement un fondamental entre 5 et 7 hz alors que pour le type 2 on a en plus de ce pic une activité spectrale entre 0.5 et 1 hz (Figure 22).
- classe 5 : on a seulement une zone spectrale très faible entre 0 et 5 hz avec un maximum à 0.5 hz

L'analyse temps fréquence donne l'évolution dans le temps des fréquences. Pour la classe 1, les différentes composantes se répartissent inégalement dans le temps. Pour les classes 2 et 4, le fondamental et les harmoniques sont présents en continu (Figure 20) pendant toute la durée du signal. Pour la classe 3, les fréquences de 0 à 2 hz sont présentes en intermittence (Figure 21).

Trois échantillons de tissus végétaux contenant les stylets de l'insecte ont permis d'observer le trajet dans sa totalité par l'observation microscopique des coupes sériées.

L'échantillon N° 15 correspond à une stylectomie réalisée 22 mn après la pénétration initiale des stylets et après la séquence de classes suivantes : 1,2, 1,2, 1,2, 1,2. Les stylets et la gaine sétale, qui a 2 branches, sont localisés uniquement dans le mésophylle et la gaine périvasculaire. On observe 4 cellules plus ou moins vidées de leur contenu. Les parois ont été perforées et on peut observer des chloroplastes désorganisés groupés près du point d'alimentation au lieu d'être disposés sur l'ensemble de la périphérie cellulaire. Certaines cellules contiennent des substances opaques aux électrons pouvant correspondre à des sécrétions salivaires.

Figure 21 : Analyse temporelle, spectrale et temps-fréquence du signal de classe 3 émis par *Cicadulina mbila*.



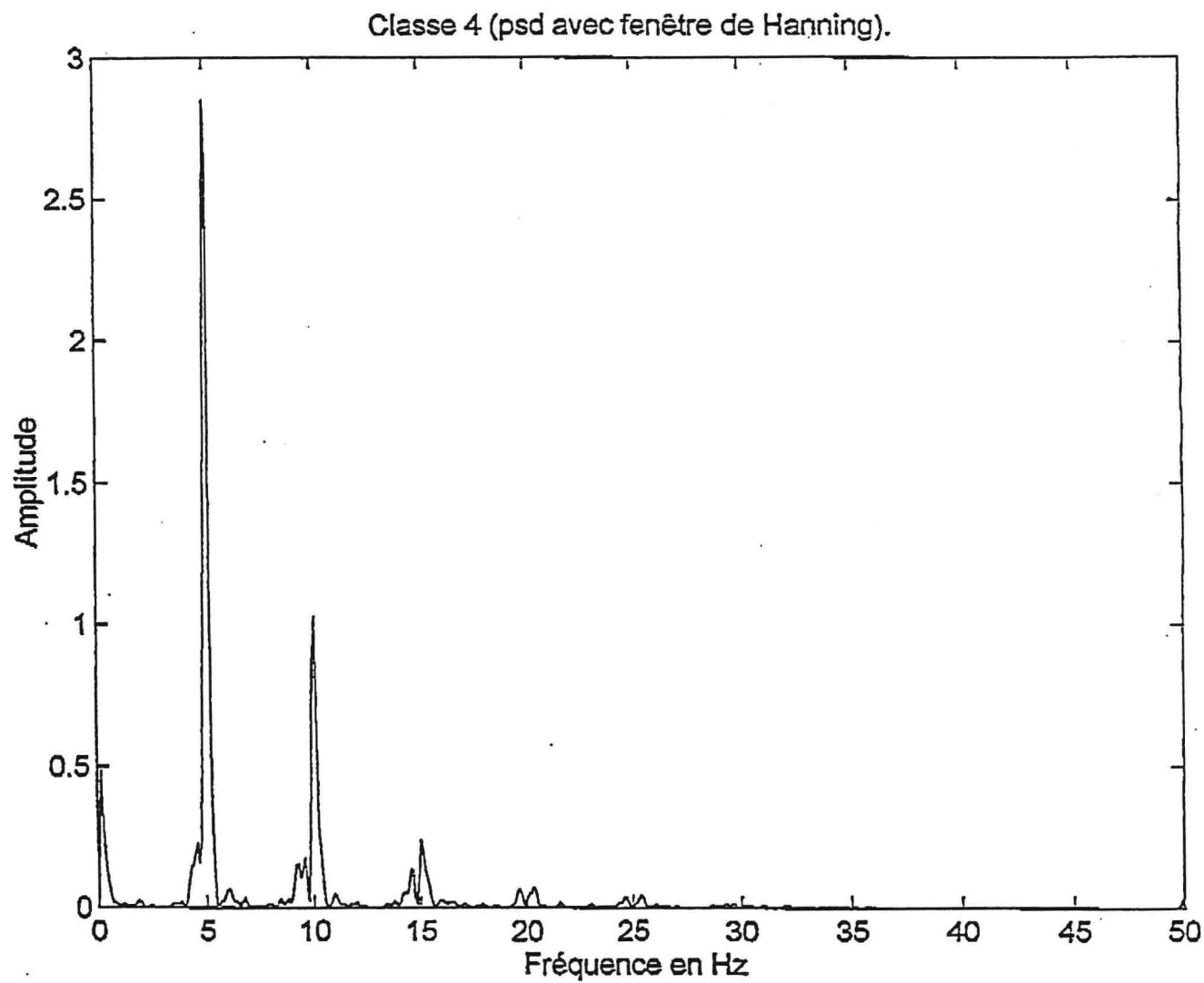


Figure 22 : Analyse spectrale du signal de classe 4 émis par *Cicadulina mbila*.

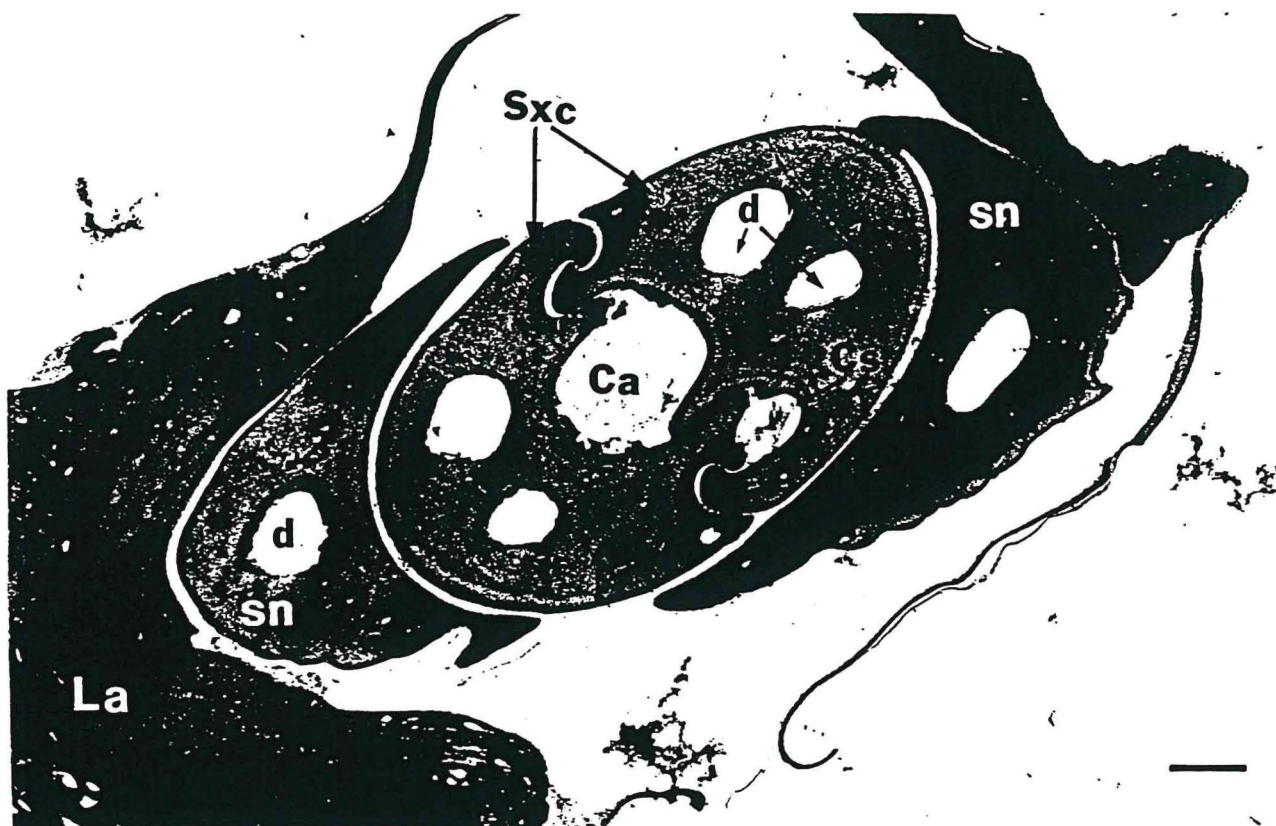


Figure 23 : Coupe transversale des stylets de l'insecte à la surface de l'épiderme, de l'échantillon 14.

Ca : canal alimentaire ; **Cs :** canal salivaire ; **d :** dendrites ; **La :** reste du labium calciné ; **sn :** stylets mandibulaires ; **Sxc :** stylets maxillaires coaptés (Barre : 0,86 μm).

Estimation des données suivantes, à partir de la coupe transversale ci-dessus.

	Estimation en μm
Diamètre du canal alimentaire	1,3 - 1,8
Diamètre du canal salivaire	0,5 - 0,8
Diamètre des stylets maxillaires coaptés	4,0 - 7,0

L'échantillon N° 10 correspond à une stylectomie réalisée 15 mn après la pénétration initiale des stylets et après la séquence de classes suivantes : 1, 2, 1, 3. Le signal de classe 2 ne dure que 30 s et celui de classe 3 avait débuté 8 mn avant la stylectomie. Le trajet reconstitué montre que l'insecte pique verticalement pour traverser l'épiderme puis s'oriente sur une très courte distance horizontalement dans le mésophylle parallèlement entre 2 faisceaux vasculaires secondaires. Les stylets ont ensuite pénétré dans un canal intervasculaire reliant les deux faisceaux vasculaires secondaires. Les deux cellules de la gaine périvasculaire du canal intervasculaire sont opaques, ce qui est vraisemblablement dû à la présence de matériel salivaire. Les stylets ont ensuite perforé le tube criblé du xylème et provoqué une déchirure très nette, à la fois de la paroi du tube criblé, du canal phloémique et de la membrane plasmique phloémienne. Le phloème ne contient pas de sécrétions salivaires et le xylème très peu.

L'échantillon n° 14 correspond à une stylectomie réalisée 85 mn après la pénétration initiale des stylets et après la séquence de classe suivante : 1, 2, 1, 3, 4. Après un signal de classe 1 de 5 mn, le signal de classe 2 correspond juste à la chute de potentiel et ne dure que 3 s. Ensuite le signal de classe 1 (type B) est émis pendant 5 mn. Le signal de classe 3 a une durée très classique de 30 mn. Enfin le signal de classe 4 (plutôt de type 2) est interrompu par la stylectomie au bout de 45 mn.

Tout d'abord au niveau de l'épiderme, une excellente coupe transversale permet de visualiser pour la première fois (Figure 23) la structure des stylets de *C. mbila*. Le diamètre du canal salivaire est de 0.5 à 0.8, celui du canal alimentaire de 0.5 à 0.8, et celui des stylets maxillaires coaptés de 4 à 7 microns. Les coupes suivantes montrent que les stylets disparaissent pour laisser place à une large lumière dans la gaine sétale. Celle-ci a un trajet similaire à celui de l'échantillon 10: parallèle aux faisceaux vasculaires secondaires puis une pénétration dans un canal intervasculaire.

On a également une perforation du tube criblé et ensuite une déchirure de la paroi et de la membrane plasmique de la cellule phloémienne contiguë (Figure 24). La différence importante avec l'échantillon 10 est que la cellule phloémienne directement en contact avec l'ouverture de la lumière de la gaine sétale et la cellule phloémienne suivante sont remplies de matériel opaque aux électrons.

Les techniques plus fines employées pour la reconnaissance des signaux de *C. mbila* nous permettent de mieux différencier des classes et les corrélérer plus précisément à une activité biologique. On obtient finalement des résultats assez semblables à la typologie de Tjallingii maintenant adoptée par tous les chercheurs travaillant sur les pucerons en EPG .

Le signal de classe 1 contient bien les trois phases préliminaires de l'alimentation : la pénétration initiale des stylets, puis des mouvements des stylets et l'émission de salive par les glandes accessoires pour former la gaine sétale. L'importante activité à 1 Hz correspond à une fréquence d'activité de la pompe salivaire observée chez *Acyrtosiphon pisum* (Tjallingii, 1988). Néanmoins, la largeur de la zone spectrale et sa répartition hétérogène dans le temps montre que l'insecte effectue les différentes activités simultanément ou en alternance. L'observation de l'échantillon 15 montre que ce signal correspond à une localisation dans le mésophylle. La phase B, qui se retrouve entre le passage de classe 2 et 3, indique également une pénétration du tissu phloémien comme dans le cas de l'échantillon 10. La durée de ce signal est courte et s'explique par un trajet intravasculaire des stylets et une capacité de *C. mbila* de localiser rapidement les faisceaux vasculaires chez le maïs. Ce signal correspond aux P1, P2, P3 de *N. lugens* (Kimmins, 1989) et au S du système AC.

Le signal de classe 2 a une signature spectrale similaire à celle de *P. maidis* avec un fondamental à une fréquence presque identique. Cette similitude se retrouve également avec le type G défini chez les pucerons et montre que les muscles de la pompe alimentaire des sternorhynches comme des achenorhynches ont une fréquence d'activité très proche. Leur puissance par contre peut être différente. L'amplitude élevée du signal de classe 2 chez *C. mbila*, son activité continue déterminée par le spectrogramme et l'état des cellules du mésophylle (échantillon 15) après ingestion, mettent en évidence la capacité importante de pompage actif de cette espèce. Les observations en microscopie électronique montrent que *C. mbila* faisant des ingestions actives aussi bien dans le mésophylle que dans le xylème, la seule apparition du signal de classe 2 ne nous indique pas de localisation tissulaire. On observe une chute de potentiel en début de signal, qui doit correspondre à la destruction de la paroi et de la membrane plasmique comme l'avait déjà suggéré Spiller (1990) pour *N. lugens*. Chaque chute de potentiel indique donc la pénétration d'une nouvelle cellule. Ainsi, on observe généralement 2 situations : soit des signaux de classe

2 de courte durée (2 à 3 mn) souvent intercalés avec un signal de classe 1, soit un signal de plus longue durée (parfois de plus de 30 mn) généralement unique et souvent suivi d'un signal de classe 3 ou s'intercalant avec un signal de classe 5. La durée et la séquence pourraient donc nous indiquer une localisation, soit dans le mésophylle (première situation) soit dans le xylème.

Le signal de classe 3 a une signature temporelle très régulière. Il est composé uniquement de basses fréquences avec un pic entre 0.5 et 1 Hz qui correspond à la fréquence d'activité de la pompe salivaire de *A. pisum* (Tjallingii, 1978). L'analyse temps fréquence est un moyen de mesurer la durée exacte de salivation car cette activité est intermittente. La comparaison entre les échantillons 10 et 14 montre que les signaux de classe 3 et 4 correspondent à une localisation dans le phloème et la seule différence est la quantité de matériel salivaire présent dans les cellules. Pour un achenorynche, nous sommes les premiers à différencier des classes au sein de ce tissu. Par contre chez les pucerons, on a bien une similarité de séquence et la succession de E1 et E2. E1 pourrait correspondre à l'excrétion de salive aqueuse et E2 l'ingestion passive souvent accompagnée de salivation dans une cellule phloémienne (Prado et Tjallingii, 1994). La classe 3 correspondrait à E1 et son interruption lors de la stylectomie 14 expliquerait la faible présence de matériel salivaire.

Le signal de classe 4 présente un fondamental entre 5 et 7 Hz comme le signal de classe 2 mais son amplitude est dix fois plus faible. Il correspond à la vitesse d'activité de la pompe alimentaire mais les muscles seraient alors très faiblement activés. L'hypothèse d'une ingestion passive est donc la plus probable de par la localisation dans une cellule phloémienne où la pression hydrostatique est positive. L'apparition plus ou moins importante de basses fréquences identiques à celle du signal de classe 3 s'explique par l'excrétion intermittente de salive aqueuse qui facilite l'ingestion et la digestion de la sève. La durée généralement très longue de ce signal montre que *C. mbila*, bien que apte à se nourrir dans le mésophylle, a une alimentation phloémienne préférentielle sur maïs sensible.

Le signal de classe 5 est similaire au P6 décrit par Kimmins (1989) pour le delphacide *N. lugens*. Ce signal est émis rarement par ces insectes. Néanmoins, il doit être pris en considération car sur des lignées de riz résistantes, l'émission de signal P6 par *N. lugens* augmente. La forte amplitude des pics pourrait être due à des mouvements de stylets tandis que la puissance du spectre vers 1 hz est trop faible pour suggérer une salivation. Des stylectomies ont été réalisées durant ce signal mais les échantillons n'ont pas encore été observés. On ne peut donc conclure sur la localisation tissulaire.

Ces travaux nous permettent de proposer une typologie des signaux de *C. mbila* et *P. maidis* qui demande encore à être précisée. Elle est néanmoins à ce jour la plus complète pour les auchenorynches. Elle permet entre autre la différenciation des signaux d'ingestion et de salivation dans le phloème qui est primordiale pour étudier les mécanismes de transmission en particulier pour la résistance variétale.

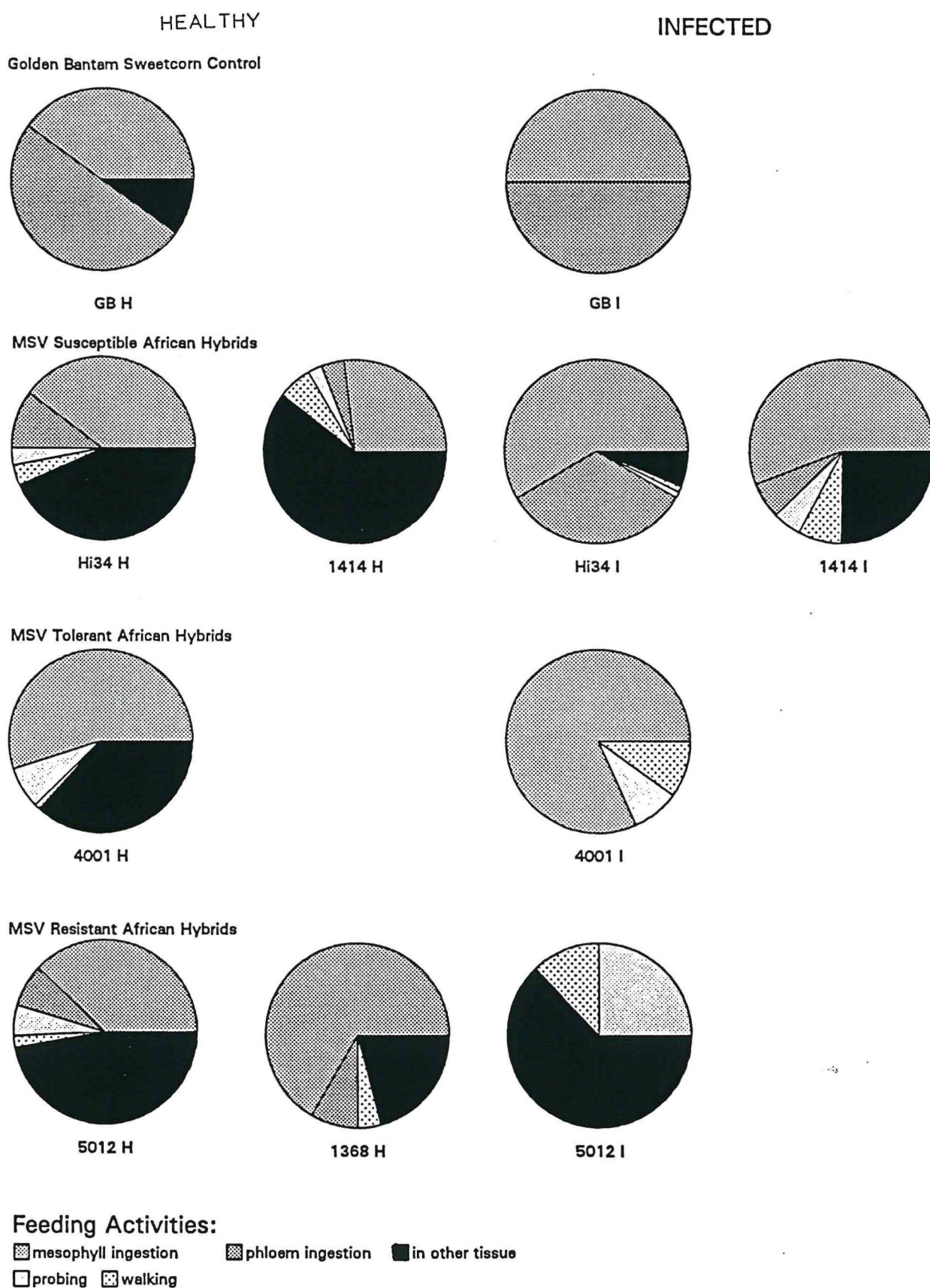
Malgré certaines améliorations de la chaîne de mesure, des travaux doivent être poursuivis pour créer un matériel standardisé, fiable et utilisable sans trop de précaution sur l'isolement du dispositif (cage de Faraday...).

Enfin, les traitements numériques du signal par FFT et analyses temps fréquences montrent que l'on pourra disposer bientôt de suffisamment de variables quantitatives pour caractériser les classes de signaux. La reconnaissance automatique des signaux est donc un objectif envisageable à court terme. Celle-ci permettra d'augmenter fortement les capacités d'analyse et donc d'utiliser par exemple plus aisément l'EPG pour sélectionner des lignées résistantes dans un programme de création variétale. Les homologues observées entre nos résultats et ceux déjà obtenus en EPG et même en AC montrent qu'elle pourrait être appliquée à terme à d'autres modèles.

32532. Répartition dans le temps de l'activité alimentaire des cicadelles

La répartition, en temps, de l'activité alimentaire de cicadelles a été déterminée par EPG sur différents génotypes de maïs sains ou infectés par le MSV, et pour des maïs d'âges différents.

Figure 25 : Feeding behaviour of *Cicadulina* on maize using AC Electronic Monitor on plants 16-20 days old.



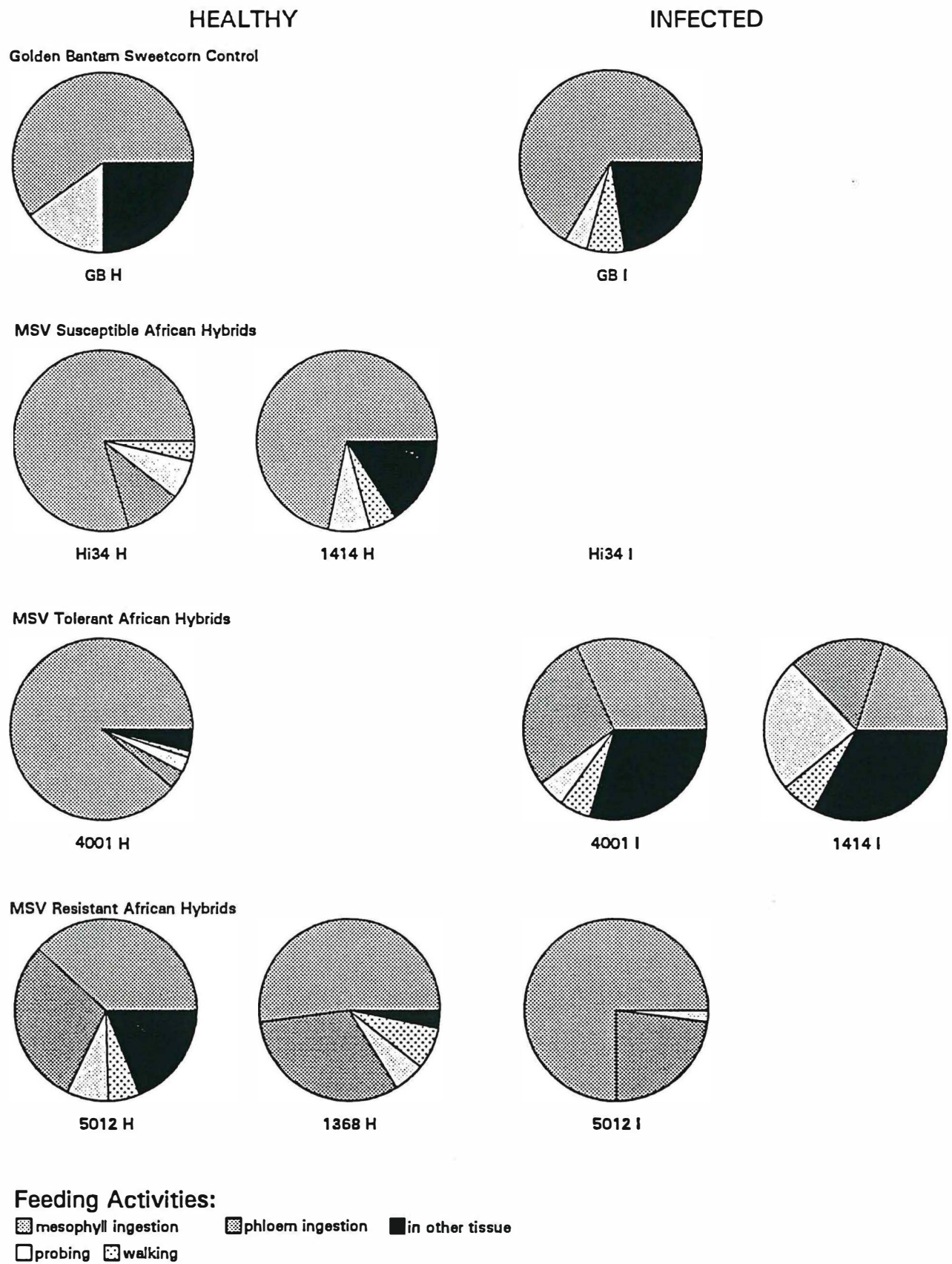
Pour simplifier, les différents types de signaux ont été répartis en :

- 1- "marcher" ou activités non-alimentaire
- 2- "sondage": pénétration initiale des tissus et mouvements des stylets à travers ou entre les cellules, caractérisé par un signal de grande amplitude.
- 3- "ingestion dans le mésophyle"
- 4- "ingestion dans le phloème"
- 5- "autres" signaux qui ne sont pas encore déterminés mais probablement associées à des activités alimentaires telles l'alimentation dans le xylème ou le sondage dans le mésophyle.

Les figures 25 et 26 résument les données enregistrées sur les différentes variétés testées en montrant la durée relative de chaque signal sur plante saine ou infectée par le MSV pour les deux tranches d'âge des plants de maïs.

Des tendances générales ont pu être dégagées sur le comportement alimentaire de *Cicadulina* mais les données obtenues par EPG sont pour le moment insuffisantes (88 séries de données) pour prétendre à une validation statistique. Les insectes (4 répétitions) ont été utilisés sur 6 variétés de maïs, en comparant des plantes saines et infectées à deux fourchettes d'âge (16- 21 et 30- 40 jours). Au champ, les plantes les plus jeunes sont les plus importantes car il a été souvent établi que les pertes de rendement sont les plus lourdes quand les plantes sont infectées avant le stade 8 feuilles. Dans ces plantes plus jeunes âgées de 16 à 21 jours il apparaît clairement que pour toutes les variétés africaines infectées par le MSV ou non, et notamment pour la variété tolérante 4001, le temps d'alimentation dans le phloème est plus court que pour le maïs doux. L'alimentation dans les cellules du mésophyle paraît être favorisée sur plantes infectées ainsi que sur plantes âgées. Des résultats préliminaires semble indiquer que le changement d'alimentation en faveur du mésophyle est un phénomène associé au contact précoce de la plante. Nous suggérons que sur certaines plantes telles que les poacées sauvages, il n'y a presque pas d'alimentation mésophyllienne étant donné que *Cicadulina* est principalement un consommateur du phloème, cependant sur maïs infecté, on observe un changement en faveur d'une alimentation dans le mésophyle avant que l'insecte ne cherche le phloème; ce phénomène est amplifié sur les plantes infectées par le MSV et sur des plantes plus âgées. Ainsi les plantes âgées constituent une

Figure 26 : Feeding behaviour of *Cicadulina* on maize using AC Electronic Monitor on plants 30-40 days old.



excellente source de virus car le virus y est principalement localisé dans les cellules du mésophyle. Le maïs doux serait plus vulnérable à l'infection en raison d'une alimentation plus fréquentes dans le phloème par rapport aux maïs africains ; mais il pourrait y avoir aussi des différences entre variétés. Une variété qui modifierait le comportement alimentaire de *Cicadulina*, permettrait peut être de réduire le taux de transmission de *C. mbila* au niveau de ceux des autres espèces, et réduirait ainsi l'impact du MSV.

326. Interaction plante-virus

Ces études ont concerné les variations de pouvoir pathogène du MSV entre isolats et le devenir du virus dans la plante.

3261. Variation dans le pouvoir pathogène du MSV

Comparaison entre isolats d'Afrique et de La Réunion

Ces comparaisons ont été réalisées au J. I. C., qui dispose d'installations permettant un confinement suffisant pour introduire les virus et leurs insectes vecteurs, avec des isolats africains (Nigéria, Kenya, Zimbabwe) et réunionnais (N2A), un clone du Nigéria et deux de La Réunion (R1 et R2).

La faible incidence de l'infection sur les variétés les plus sensibles, quelque soit l'isolat ou le clone utilisé, montre que l'infection n'a pas été optimale. Ceci semble lié au faible pourcentage de cicadelles actives dans la population de *Cicadulina mbila* disponible au J. I. C. Par ailleurs la croissance des plantes a été très irrégulière notamment en raison d'un éclairage insuffisant. L'éclairage artificiel de la serre n'a pas suffi à compenser le déficit de lumière des jours courts de l'automne à Norwich. Par conséquent les comparaisons de clones et d'isolats ont été principalement effectuées sur la gravité des symptômes de chlorose sur feuille.

Pour chaque traitement variété/clone ou isolat la fréquence de chaque note symptomatologique (échelle de 1 à 9) à chaque étage foliaire a été représentée sous forme d'histogramme. Il en ressort les conclusions suivantes :

- N2A n'a pas été très agressif dans cet essai si l'on en juge par la comparaison du clone R1 avec N2A. En effet pour les variétés TZI4, Pan 6393, D212, H511 et B651, R1 est aussi agressif voir plus agressif que N2A. De plus pour les variétés TZI4 et D212, N2A présentait une agressivité équivalente à R2. Ceci paraît lié à la qualité de l'inoculum N2A porté par la plante source utilisée. Sa croissance n'était pas excessivement gênée par l'infection et l'inoculum n'était pas capable de provoquer des symptômes sur B651 dont la résistance est habituellement surmontée par N2A.

- Toutes les variétés mettent bien en évidence la différence d'agressivité entre R1 et R2. Cette différence est la moins nette avec TZI4.

- La comparaison entre les inoculum d'Afrique et de La Réunion ne permet pas de dégager des conclusions tranchées à l'exception des essais sur B651 qui peut être infectée par R1 et N2A mais pas par les autres inoculum dans nos conditions de test. On observe cependant des groupes présentant des différences d'agressivité mais ils ne correspondent pas à des regroupements géographiques. Par exemple, les infections sur Pan 6393 permettent de dégager clairement 2 groupes sur la base de la présence ou l'absence de notes 6 et 7 : le groupe des inoculum agressifs comporte R1, N2A et le clone Ns du Nigéria, alors que le groupe moins agressif comprend R2, un isolat du Nigéria et un isolat du Kenya.

Comparaison d'isolats de La Réunion

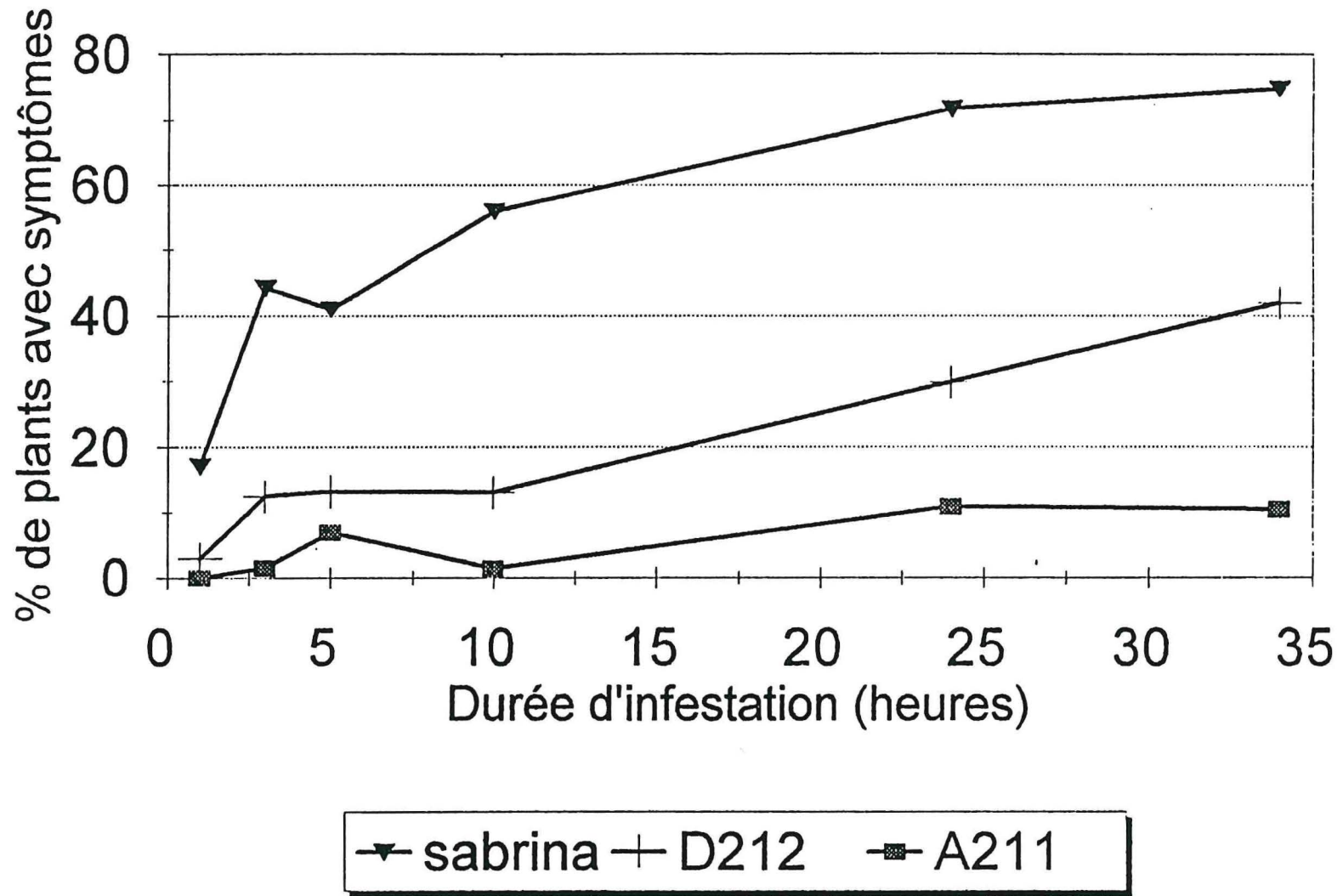
Des variations du pouvoir pathogène des isolats de MSV infectant le maïs ont été observées à La Réunion dès 1992 sur des familles S3, extraites du composite CVR3-C3, présentant différents niveaux de résistance. Cette variation de pouvoir pathogène au sein des isolats infectant le maïs a été testée sur 8 lignées S5 extraites de CVR3-C3. Elles ont été infestées sous tunnel d'une part avec un isolat non sélectionné M, qui est prélevé depuis 1988 chaque mois à partir des parcelles de sélection inoculées sur la station expérimentale de Saint Pierre et d'autre part avec l'isolat SP1 sélectionné sur l'isolat M par une AAP et une IAP de quelques minutes à l'aide d'un seul insecte vecteur. La forme actuelle de SP1 maintenue sur *Coix lacryma jobi* depuis 1991 est appelé SP2.

Tableau 24 : Différence entre les taux de plants présentant des symptômes 28 jours après infestation chez les différents génotypes en fonction de l'isolat inoculé

GENOTYPE (note parent)		TAUX DE PLANTS VIROSES A 28 JOURS ISOLAT INOCULE					
		mélange		SP2		différence	
		%	rang	%	rang	%	rang
D211	(0)	.00	1	.00	1	+	0.00
B422	(3)	52.84	2	.00	1	+	52.84
B421	(0)	55.10	3	25.00	3	+	30.10
D255	(2)	66.67	4	49.00	4	+	17.58
A211	(2)	72.22	5	3.38	2	+	68.84
D212	(2)	86.15	6	53.38	6	+	32.30
A213	(3)	92.19	7	50.00	5	+	42.19
Sabrina	(-)	100.00	8	100.00	7	=	0.00
minimum *		.00		.00		.00 (ou 17.58)	
maximum *		92.19		53.85		68.84	
moyenne *		60.74		25.90		40.64	

* témoin exclu

Figure 28 : Incidence du MSV 42 jours après infestation en fonction de la durée d'inoculation (IAP) par C. Mbila et du génotype.



Les résultats (tableau 24) montrent globalement une incidence moindre avec SP2 qu'avec le mélange d'isolats. La sévérité semble également augmenter avec le mélange d'isolats car les plants du témoin sensible (Sabrina) se nécrosent et meurent avant floraison alors qu'ils fleurissent et survivent avec SP2.

Pour savoir si c'est la culture continue de matériel à résistance partielle qui favorise l'apparition de souches hypervirulentes, plusieurs expériences ont été réalisées.

Tout d'abord, 2 isolats ont été prélevés sur 2 plants montrant des symptômes de sévérité différente (note 2 et 4 sur une échelle de 0 à 5), provenant d'une lignée à résistance totale à SP2 et inoculée par le mélange d'isolats. Ces isolats ont été maintenus par inoculations successives soit sur Sabrina soit sur A211 lignée à résistance forte. Après 4 passages, ils ont été testés sur 4 génotypes de niveau de résistance différent (Figure. 27). L'isolat N2A, maintenu sur la lignée résistante, est le plus virulent, ce qui confirmerait l'hypothèse avancée. N4A est par contre le moins virulent, le faible niveau de symptômes sur A211 lors de l'acquisition ayant pu réduire la quantité d'inoculum prélevée par *C. mbita*.

Pour vérifier que la quantité de virus transmis pouvait faire varier l'incidence et la sévérité, la même gamme de génotypes a été inoculée avec le mélange d'isolats, soit avec un insecte et des temps d'inoculation croissants, soit avec des nombres croissants d'insectes pendant la même durée d'inoculation. Dans les 2 cas, on obtient des résultats similaires (Figures 28 et 29), l'incidence augmente jusqu'à une valeur seuil correspondant à la proportion de plants totalement résistants dans la descendance. Cette dose seuil semble être légèrement plus élevée dans le cas de lignées résistantes et pose le problème d'un effet de résistance à la transmission comme pour *P. maidis*. La sévérité par contre est identique quelque soit la dose d'inoculum.

Ces expériences préliminaires montrent donc qu'il existe bien une variabilité chez le MSV à La Réunion concernant la virulence sur maïs. Des isolats hypervirulents peuvent être isolés sur des lignées à résistance partielle mais leur maintien comme leur évaluation est difficile. Pour poursuivre ce travail, qui permettra d'évaluer le risque potentiel d'un contournement de la résistance en conditions naturelles, il était nécessaire de mener des essais très standardisés.

Tableau 25 : Classement des isolats par note symptomatologique

Isolats/clones	Moyennes des notes	Groupes homogènes
N2A	2,91	A
R1	2,74	B
R5	2,63	C
R3	2,62	C
R4	2,61	C
SP2	2,46	D
R2	2,41	D

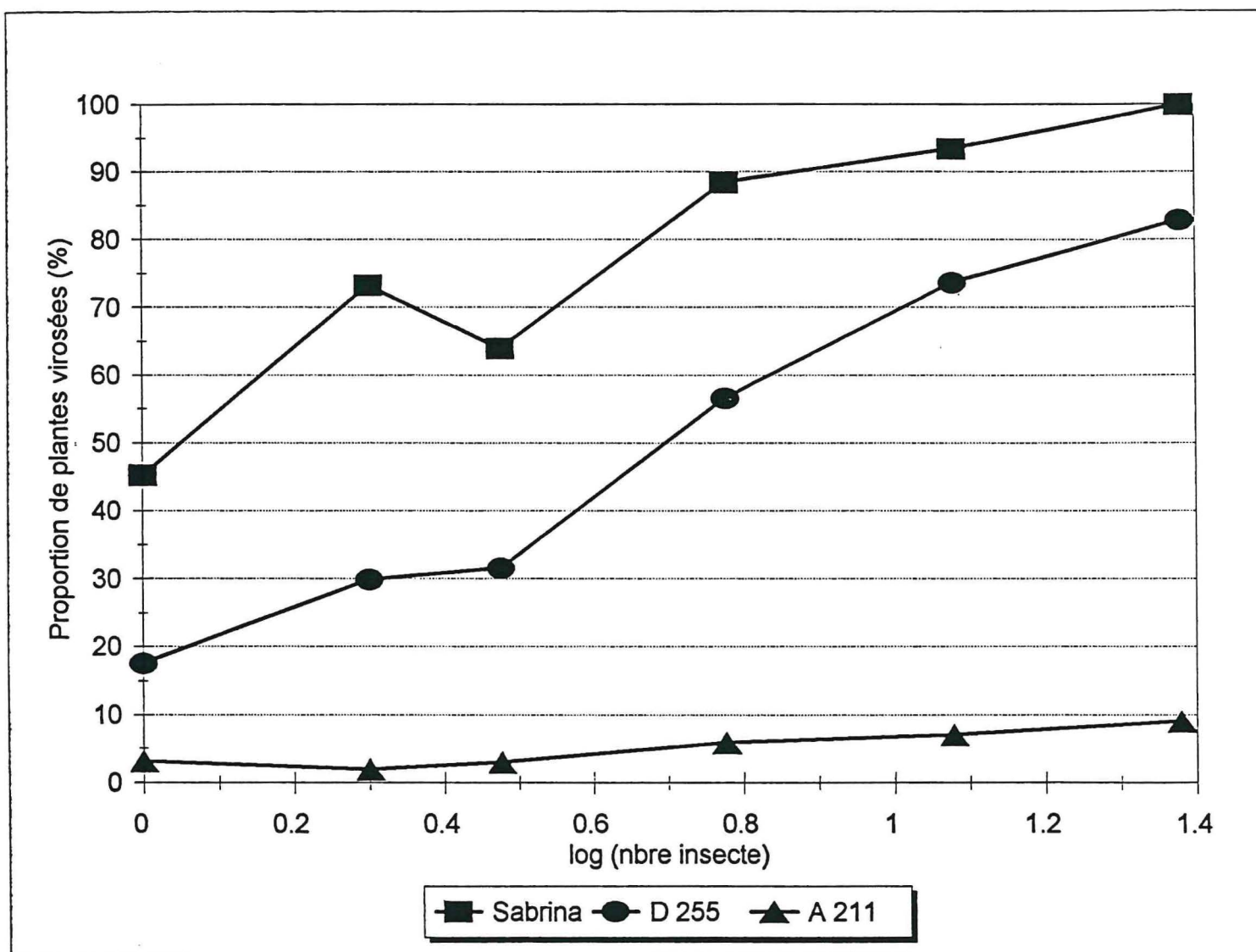


Figure 29 : Incidence du MSV 42 jours après infestation en fonction du nombre de *C. Mbila* adultes et du génotype.

F1A

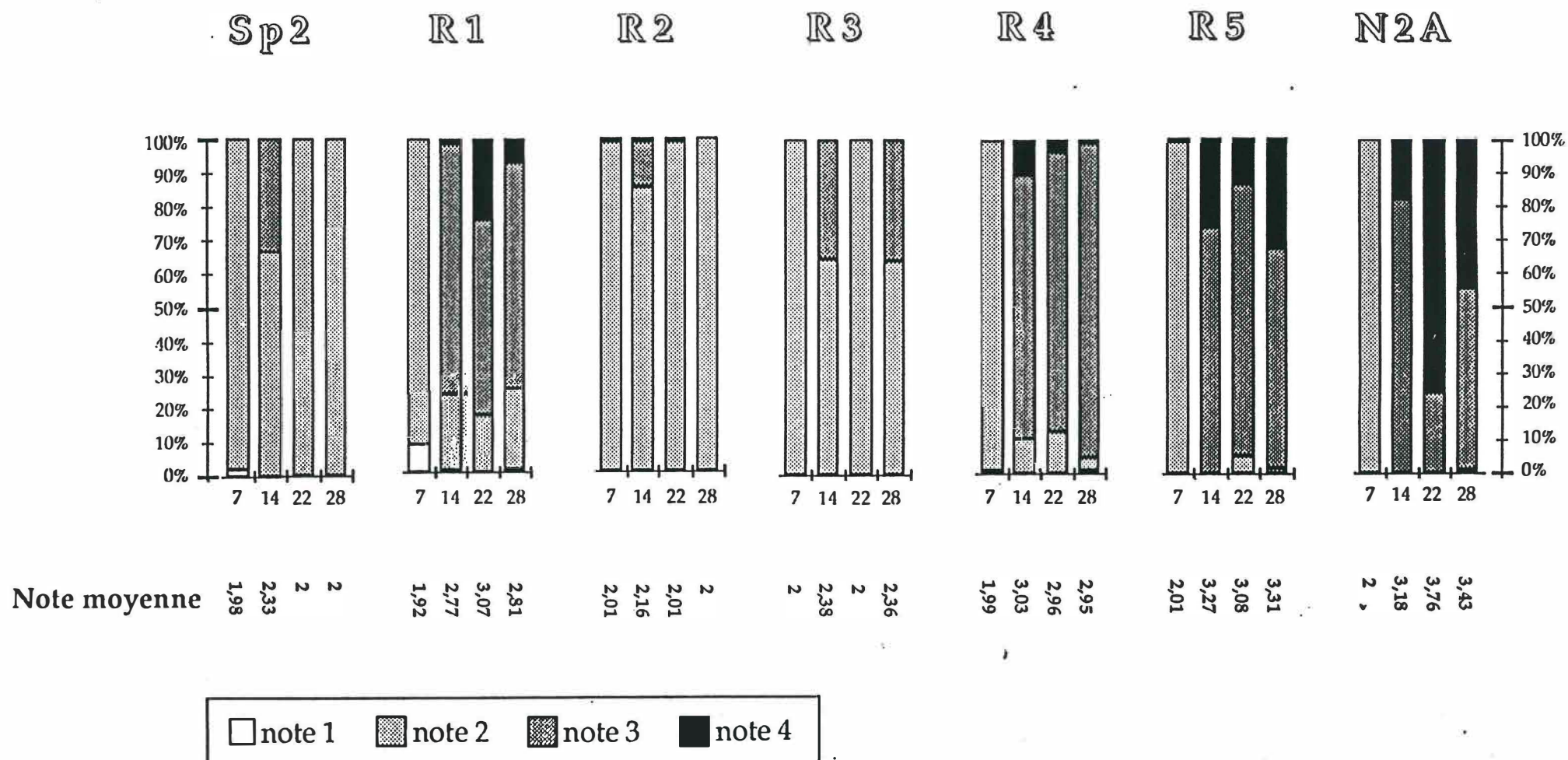


Figure 30 : Comparaison de clones et d'isolats de MSV de La Réunion sur un hybride de maïs partiellement résistant originaire de La Réunion. A chaque notation symptomatologique effectuée à 7, 14, 22 et 28 jours après inoculation le pourcentage de plantes correspondant à chaque note est indiqué en ordonné. Chaque inoculum a été testé sur 90 plantes.

C'est-à-dire utiliser des conditions d'infestation très fortes (en cage comme pour le MMV et le MStpV) avec des isolats totalement purifiés et caractérisés (clonés et séquencés au moins partiellement) sur une gamme de lignées de différents niveaux de résistance fixés. Ce matériel a été disponible en 1995.

Parmi la quarantaine de clones de MSV obtenus à partir de l'isolat N2A (voir paragraphe 3142) quatre d'entre eux (R2, R3, R4, R5), représentant chacun un groupe RFLP, ont été sous-clonés en tandem dans un plasmide binaire d'*Agrobacterium tumefaciens* et inoculés en chambre de culture à des plantes de maïs de plusieurs variétés. En guise de contrôle, le clone R1, clone infectieux de référence dont nous avons déterminé la séquence précédemment (paragraphe 3132), a été inoculé parallèlement.

Le pourcentage d'agroinfection sur plante sensible (variété Sabrina) est d'environ 90% pour chaque clone. Par contre seules deux plantes des variétés résistantes ont pu être infectées : une plante de la lignée A211 par le clone R3 et une plante de la lignée D212 par le clone R1. Un premier classement des clones a été effectué selon les effets du virus sur les plantes de la variété sensible et notamment sur leur hauteur. Le classement, en allant du plus au moins pathogène, est le suivant : clones R1, R3, R4, R5 et R2.

Les clones ont été ensuite testés à La Réunion par cicadelle vectrice dans le but de retester leur pathogénie en conditions naturelles sur une gamme de variétés références, et par rapport à leur isolat d'origine, N2A, et SP2 pour le clone R1. Les variétés, au nombre de 8, s'échelonnent entre totalement sensible, lignée B73, et des lignées totalement résistantes, L61 et A211. Les 5 variétés intermédiaires, B651, D212, A217, F1L et F1A, présentent des résistances partielles mais fortes. Des notations régulières de la gravité des symptômes ont été effectuées jusqu'à 60 jours après inoculation. Les résultats ont été analysés par le test de Newman Keuls sur les notes moyennes, au seuil de 5 %. (tableau 25)

Le classement effectué au champ après inoculation par insecte vecteur confirme celui qui a été obtenu par agroinfection sauf pour le clone R5 dont la pathogénie a été sous estimée pour les plantes agroinfectées. Ce comportement pourrait être lié à un retard dans le recouvrement de la forme répliquative à partir du plasmide binaire ou à une baisse de vitalité des agrobactéries suivant l'ordre d'inoculation des clones au cours de l'agroinfection.

Une analyse plus détaillée mettant en évidence la fréquence de chaque note (de 1 à 9) obtenue pour chaque couple variété/inoculum à chaque date de notation, confirme globalement la classification effectuée sur les notes moyennes. Des représentations sous forme d'histogramme comme le montre la figure 30 pour la variété F1A ont permis de classer les inoculums en 3 groupes : SP2 et R2 constituent un groupe d'inoculums atténués ; R1, R4, R5 et N2A constituent un groupe d'inoculums agressifs alors que R3 a une position intermédiaire qui peut être variable suivant la variété testée.

Les tests au champ révèlent qu'aucun des clones n'est aussi pathogène que l'isolat d'origine. Ceci suggère deux interprétations. Soit la forte pathogénie de N2A s'explique par la coopération de plusieurs clones dans l'infection, soit le "superclone" qui expliquerait la pathogénie de N2A n'a pas encore été identifié.

3262. Devenir du virus dans des plantes sensibles ou résistantes au MSV

Un système majeur de 2 ou 3 gènes contrôle la résistance totale du maïs à la virose causée par le maïze streak virus (MSV). Une résistance partielle a également été observée dans certaines lignées sans que l'on puisse l'attribuer à un système distinct ou à une expression partielle du système majeur. Afin de mieux comprendre cette résistance au déterminisme complexe, une étude microscopique a été entreprise sur la distribution du virus dans les tissus infectés d'une lignée partiellement résistante D212 et d'un hybride sensible Sabrina, et sur les modifications histo- et cyto- pathologiques engendrées par l'infection.

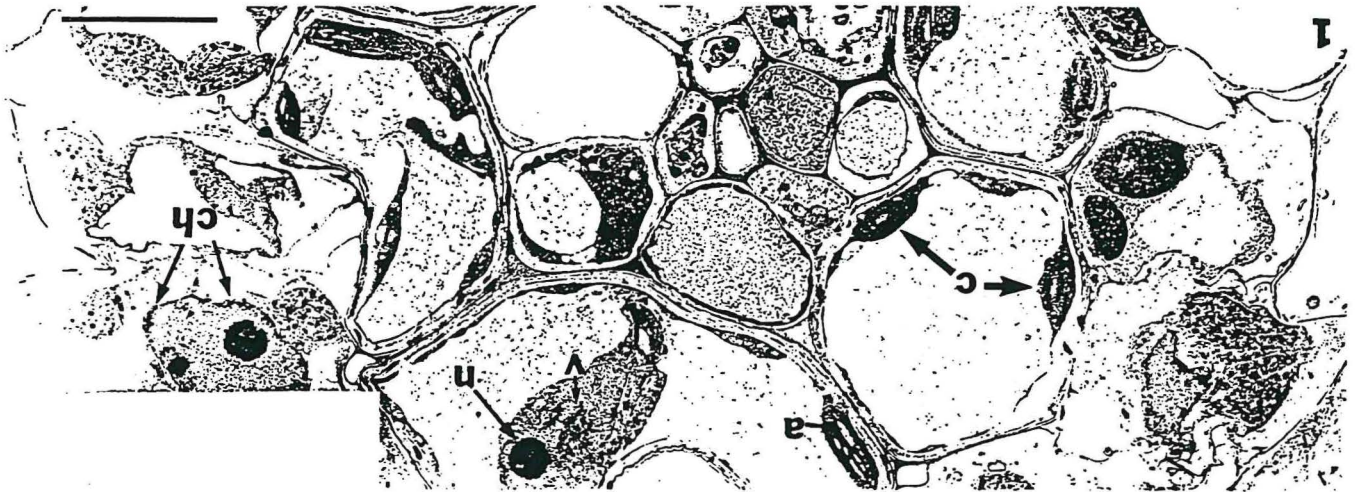
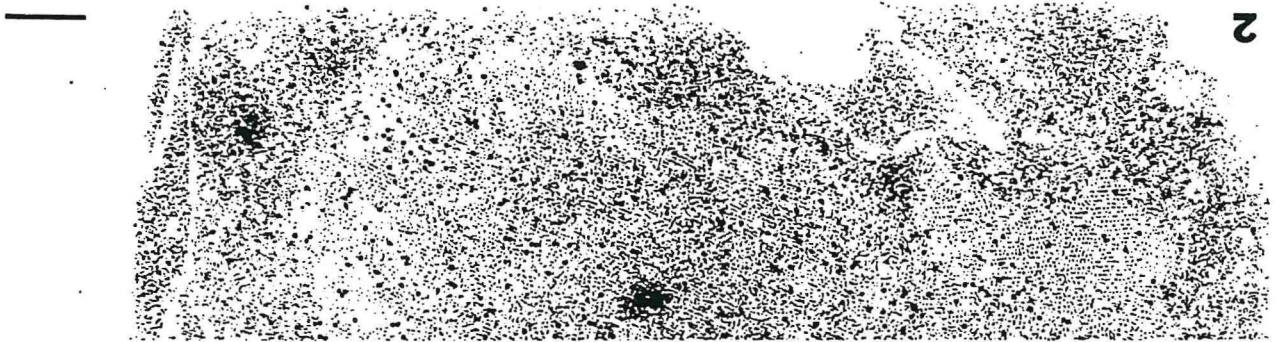
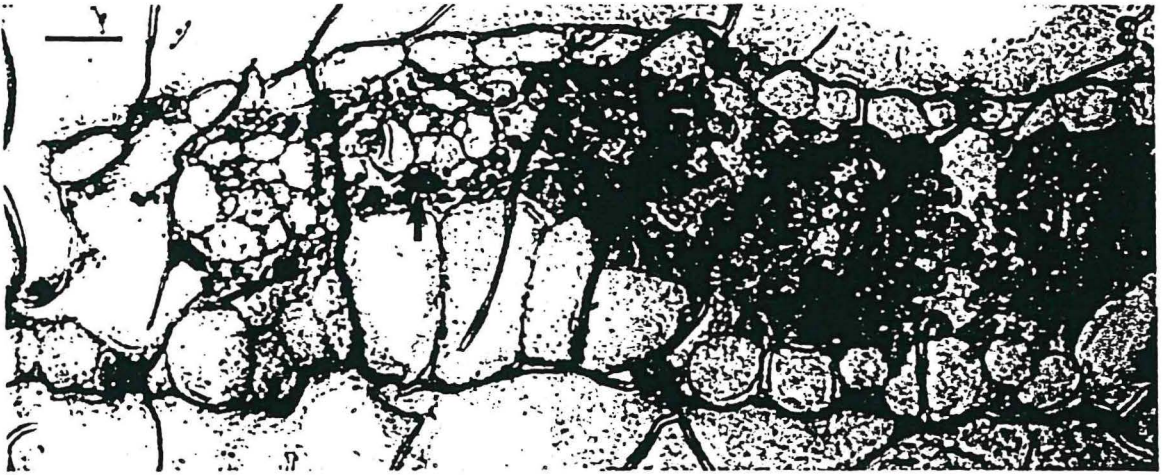
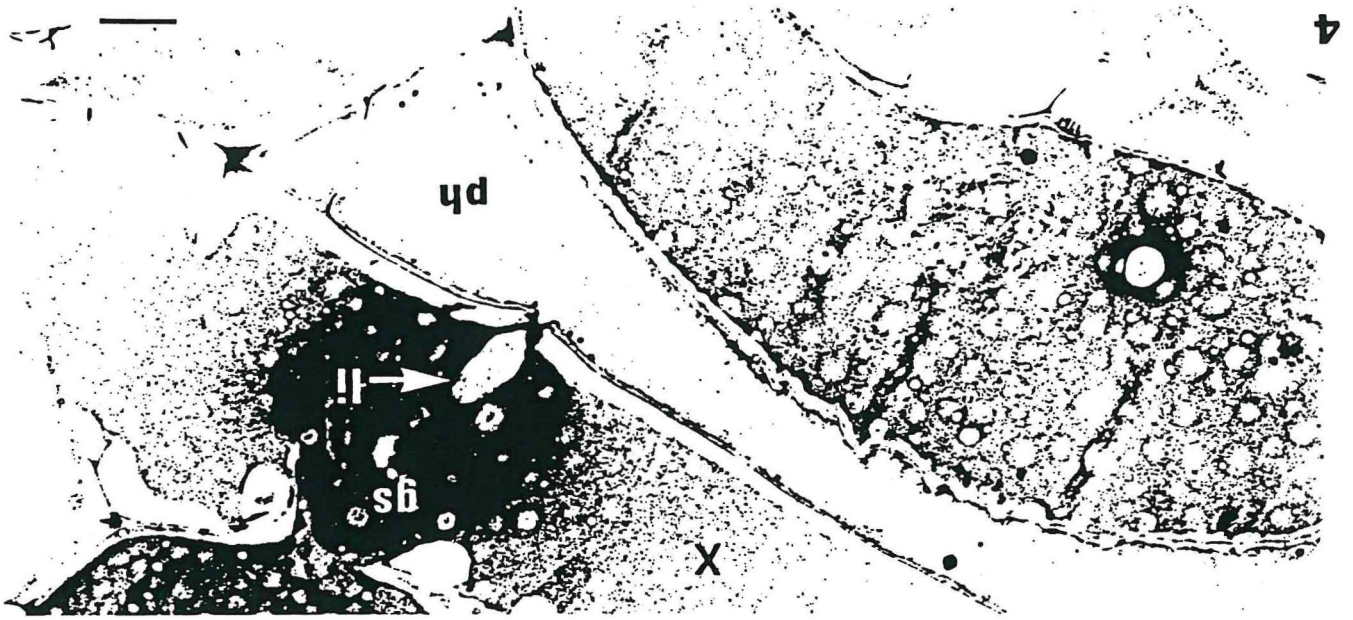


Figure 31 : Coupe transversale d'une feuille de maïs d'une variété sensible infectée par le MSV, dans une zone présentant des symptômes typiques de chlorose. A noter : Amas de virus intranucléaire (v), taille réduite des chloroplastes (c) et des grains d'amidon (a), nucléole hypertrophié (n), répartition de la chromatine (ch) en périphérie du noyau. Barre : 7,4 μm .

Figure 32 : Détection d'un amas de virions sur une coupe transversale de feuille de maïs, par immunomarquage à l'or colloïdal (billes d'or de 15 nm) de la protéine de capsid. Barre : 0,25 μm .

Figure 33 : Immunomarquage de la protéine de capsid du MSV sur une coupe transversale de la feuille de maïs observée en microscopie optique après coloration au bleu de toluidine. Les amas de virus (flèches) apparaissent sous forme de taches brunâtre qui résulte du précipité d'un sel d'argent au contact des billes d'or concentrées sur les amas de virus par la technique d'immunomarquage à l'or colloïdal. Barre : 27 μm .

Figure 24 : Localisation d'une gaine sétale (gs) de *Cicadulina mbila* dans un vaisseau du xylème (x). La lumière interne (il) débouchant sur une cellule du phloème (ph) suggère une alimentation dans le phloème. Barre : 1,6 μm .

Sur le plan cytopathologique, les tissus infectés de l'hybride sensible et de la lignée résistante montrent des modifications ultrastructurales des organites (Figure 31). Les chloroplastes présentent une désorganisation traduite par des relâchements des thylloïdes et une diminution de la quantité d'amidon. Les noyaux subissent une réorganisation importante de la chromatine principalement localisée à leur périphérie, alors que les nucléoles apparaissent plus denses, hypertrophiés et associés à des structures fibrillaires sphériques.

Le marquage immunocytochimique à l'or colloïdal des protéines de la capsid révèle que les virions sont organisés en amas pseudo-cristallins (Figure 32) aussi bien chez l'hybride sensible que chez la lignée partiellement résistante. Ces amas sont localisés dans le noyau et parfois dans le cytoplasme de tous les types cellulaires de la feuille, excepté les vaisseaux du xylème. Cette très large répartition du virus explique sa rapide acquisition par l'insecte vecteur, *Cicadulina mbila*. Les amas de virus sont principalement associés aux zones chlorotiques, et, occasionnellement, à des zones non chlorotiques bordant les stries.

La densité des amas de virus évaluée en microscopie optique sur des coupes semi-fines sériées après marquage à l'or colloïdal et amplification avec un sel d'argent (Figure 33), est environ 6 fois inférieure dans les tissus chlorosés de la lignée partiellement résistante D212 que dans les tissus chlorosés de l'hybride sensible Sabrina. Ces observations suggèrent que la résistance du maïs au MSV ne semble pas avoir d'effet sur la répartition du MSV dans les tissus mais elle se traduit préférentiellement par une réduction de la concentration virale.

L'utilisation de protoplastes infectés devrait préciser si les mécanismes mis en jeu interviennent au niveau d'une résistance au mouvement du virus et/ou d'une résistance agissant directement sur la multiplication du virus.

Tableau 26a. Pourcentages et notes moyennes des plants virosés obtenus 35 jours après infestation selon différentes modalités

Génotypes	Modalité	% PV	NMPV
Savor	B15	80,36	5
	B30	83,69	5
	D15	100	5
Epi 23 / 3.4	B15	43,39	4,73
	B30	62,73	4,91
	D15	74,6	5
Epi 23 / 3.5	B15	50,84	5
	B30	61,83	4,94
	D15	90,16	4,96
Epi 23 / 3.6	B15	63,93	4,97
	B30	61,01	4,97
	D15	81,48	5
Epi 23 / 3.7	B15	27,11	5
	B30	68,33	5
	D15	77,96	4,91

%PV : pourcentage de plants virosés

NMPV : note moyenne des plants virosés

Tableau 26b Analyse de variance sur la variable pourcentage des plants virosés (après transformation arc sinus racine carrée) 35 jours après infestation

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Test F	Proba	ET	CV
Totale	44	10328,83	234,75				
Génotype	4	3435,99	859	15,99	0,0000		
Modalité	2	4044,54	2022,27	37,65	0,0000		
Génotype * Modalité	8	96271	120,34	2,24	0,0545		
Bloc	2	381,62	190,81	3,55	0,0413		
Résiduelle	28	1503,96	53,71			7,33	12,7%

DDL = degrés de liberté, SCE = somme des carrés des écarts, CM = carrés moyens, ET = écart type, CV = coefficient de variation
Proba du test F : l'effet est hautement significatif au seuil de 1% et significatif au seuil de 5%.

Test de Newman-Keuls - seuil = 5%

Génotype	Libelles	Moyennes	Groupes homogènes
1	Savor	74,05	A
2	Epi 23 / 3.6	56,68	B
3	Epi 23 / 3.5	56,26	B
4	Epi 23 / 3.4	51,2	B
5	Epi 23 / 3.7	49,38	B

Modalité	Libelles	Moyennes	Groupes homogènes
1	D15	69,96	A
3	B30	55,61	B
2	B15	46,97	C

Tableau 27 a Pourcentages et notes moyennes des plants virosés obtenus 42 jours après infestation selon différentes modalités

Génotype	Modalité	% PV	NMPV
Savor	B15	91,66	5
	B30	91,49	5
	D30	94,11	5
Epi 23 / 3.7.3	B15	38,88	4,71
	B30	52,77	4,84
	D30	22,21	4,87
Epi 23 / 3.7.2	B15	33,33	4,83
	B30	77,44	4,77
	D30	66,66	4,54
Epi 23 / 3.6.1	B15	53,28	4,87
	B30	58,33	4,94
	D30	53,12	4,72

%PV : pourcentage de plants virosés

NMPV : note moyenne des plants virosés

Tableau 27 b Analyse de variance sur la variable pourcentage de plants virosés (après transformation arc sinus racine carrée) 42 jours après infestation

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Test F	Proba	ET	CV
Totale	23	5854,43	254,54				
Génotype	3	4293,12	1431,04	42,39	0,0000		
Modalité	2	383,31	191,66	5,68	0,0201		
Génotype * Modalité	6	786,18	131,03	3,88	0,0252		
Bloc	1	20,48	20,48	0,61	0,4577		
Résiduelle	11	371,34	33,76			5,81	11,0%

DDL = degrés de liberté, SCE = somme des carrés des écarts, CM = carrés moyens, ET = écart type, CV = coefficient de variation
Proba du test F : l'effet est hautement significatif au seuil de 1% et significatif au seuil de 5%.

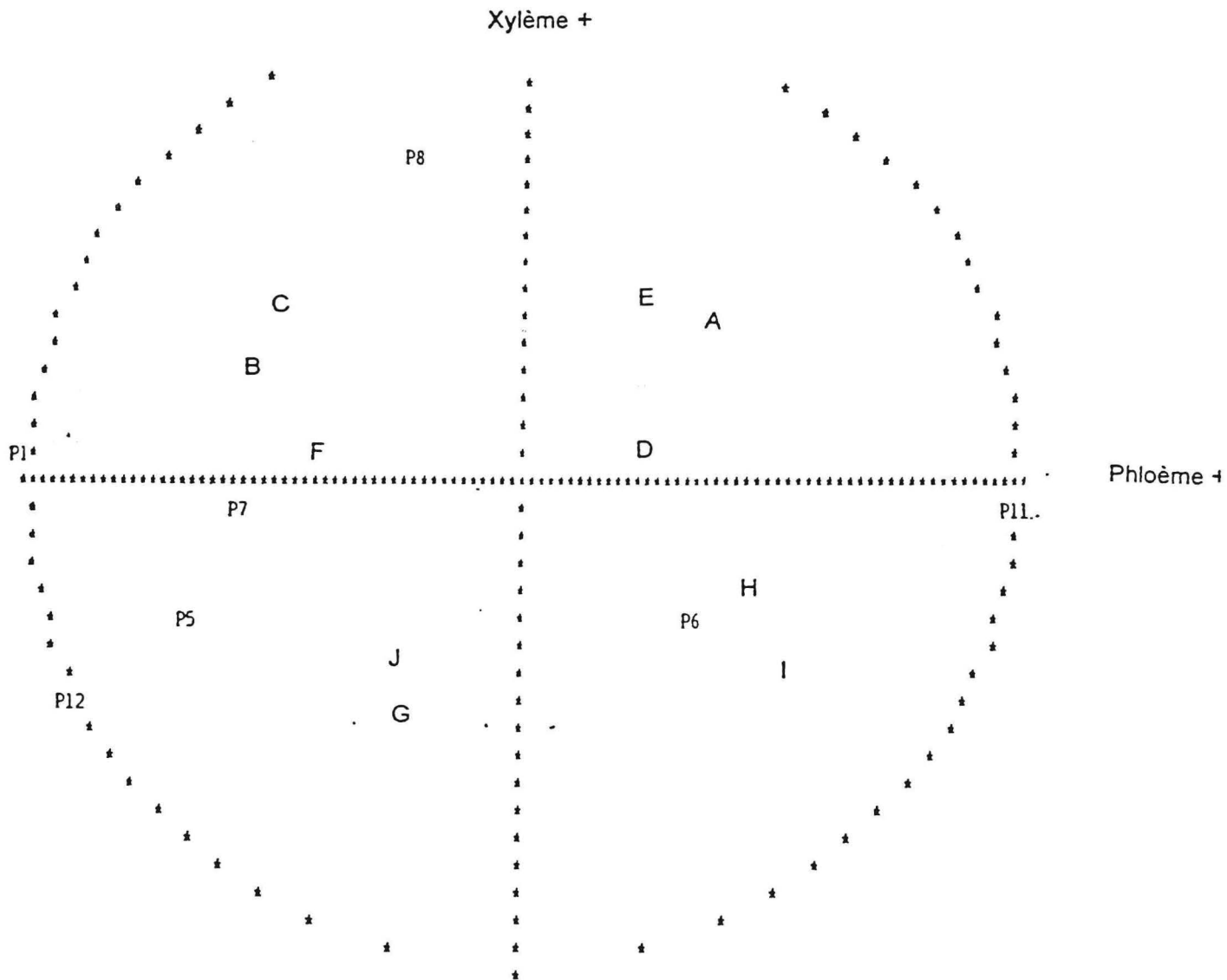
Test de Newman-Keuls - seuil = 5%

Génotype	Libelles	Moyennes	Groupes homogènes
1	Savor	74,21	A
3	Epi 23 / 3.7.2	50,68	B
4	Epi 23 / 3.6.1	47,86	B
2	Epi 23 / 3.7.3	37,69	C

Modalité	Libelles	Moyennes	Groupes homogènes
2	B30	58,01	A
3	D30	51,36	B
1	B15	48,46	B

Variété * Modalité	Libelles	moyennes	Groupes homogènes
1 3	Savor - D30	75,95	A
1 1	Savor - B15	73,44	A
1 2	Savor - B30	73,24	A
3 2	Epi 23 / 3.7.2 - B30	62,33	A B
3 3	Epi 23 / 3.7.2 - D30	54,73	B C
4 2	Epi 23 / 3.6.1 - B30	49,87	B C
4 1	Epi 23 / 3.6.1 - B15	46,90	B C D
4 3	Epi 23 / 3.6.1 - D30	46,80	B C D
2 2	Epi 23 / 3.7.3 - B30	46,59	B C D
2 1	Epi 23 / 3.7.3 - B15	38,54	C D
3 1	Epi 23 / 3.7.2 - B15	34,97	C D
2 3	Epi 23 / 3.7.3 - D30	27,95	D

Figure 34 : Répartition des génotypes de maïs testés en EPG, dans le cercle des corrélations défini par les axes 1 et 2 de l'analyse factorielle discriminante.



- A : Sabrina
- B : Epi 23 / 3.7.2.1
- C : A211.1
- D : Hi4O
- E : Savor
- F : MP 705
- G : Epi 23 / 3.7.3.1
- H : Epi 23 / 3.6.1.1
- I : B73
- J : F1 (A211XB73)

33. CRÉATION DE VARIÉTÉS RÉSISTANTES AUX MALADIES VIRALES

331. Compréhension des mécanismes de résistance et recherche de critères de sélection

3311. Création de lignées résistantes à la transmission du virus

Une résistance à l'insecte *P. maidis* avait été observée dès 1988 (Reynaud, 1988) dans IRAT 297, le donneur de résistance aux viroses créé à partir d'écotypes des Mascareignes. L'extraction de lignées d'IRAT 297 et leur test dès les deux premiers cycles d'autofécondation pour leur résistance au MStpV et au MMV avait également mis en évidence l'existence d'une résistance à la transmission des virus. Celle-ci était caractérisée par l'observation sous infestation artificielle d'une proportion de plants sans symptômes alors que le témoin sensible était totalement infecté, mais cette résistance était contournable par l'augmentation du niveau d'infestation. Cette résistance a un intérêt épidémiologique certain car elle est complémentaire de la résistance au virus *sensu stricto* et peut être très efficace en conditions naturelles.

En 1992, les lignées avaient été avancées jusqu'en S4 mais ne présentaient pas encore un niveau d'homozygotie suffisant pour caractériser la résistance et envisager son utilisation. En 1993 et 1994, 2 cycles supplémentaires de sélection ont été menés en appliquant 3 modalités d'infestation, 15 et 30 insectes sous bonnettes ou 15 (voir 30) insectes à découvert par plant. Les plants résistants sous la modalité la plus efficace (B30) sont autofécondés pour obtenir la génération suivante. En S6, 2 lignées semblent avoir une résistance à la transmission fixée puisqu'elles présentent à chaque génération un pourcentage faible de plants virosés par le MMV à B15 qui augmente fortement avec le nombre d'insectes déposés : Epi 23/3.7.3 et Epi 23/3.7.2 (tableaux 26 et 27).

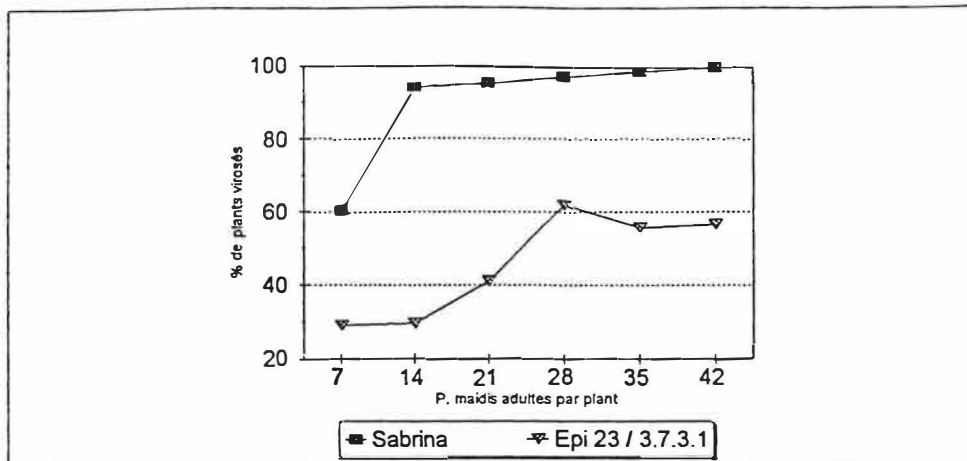
Ce caractère a également été repéré dans une lignée initialement créée pour sa résistance partielle au MSV: A211. Elle a également été avancée de S6 à S8 (A211.5.1) pour sa résistance à la transmission du MMV selon les mêmes modalités de criblage.

Tableau 28 : Paramètres EPG retenus pour l'analyse du comportement alimentaire de P. maidis

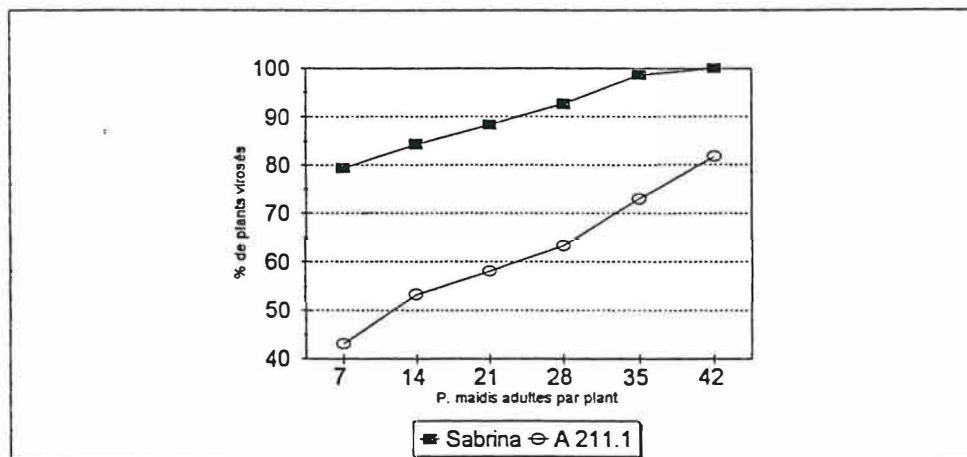
Code	Description des paramètres	Unités
P1	Nombre total de piqûres	
P2	Nombre de pénétrations dans lesquelles on a détecté le signal de classe 2	
P3	Nombre de pénétrations dans lesquelles on a détecté le signal de classe 3	
P4	Nombre de séquences de classe 2 sur la totalité de l'enregistrement	
P5	Nombre de séquences de classe 3 sur la totalité de l'enregistrement	
P6	Durée précédant l'observation du premier signal de classe 2 à partir du début de l'enregistrement	minutes
P7	Durée précédant l'observation du premier signal de classe 3 à partir du début de l'enregistrement	minutes
P8	Durée moyenne du signal de classe 2	minutes
P9	Durée moyenne du signal de classe 3	minutes
P10	Durée totale du signal de classe 2	minutes
P11	Durée totale du signal de classe 3	minutes
P12	Durée totale de non piqûre	minutes
P13	Durée totale de sondage	minutes
P14	Durée de la plus longue séquence de classe 2	minutes
P15	Durée de la plus longue séquence de classe 3	minutes

Figure 35 : Incidence du MMV, 35 jours après infestation, selon le nombre de *P. Maidis* adultes par plant.

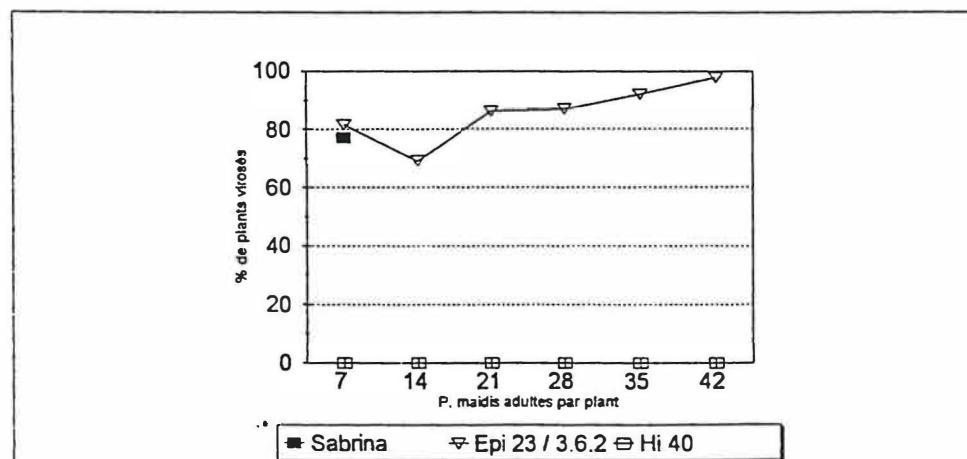
a -



b -



c -



a - essai n° 8 intégrant le témoin Sabrina et la lignée Epi 23 / 3.7.3.1

b - essai n° 9 intégrant le témoin Sabrina et la lignée A211.1

c - essai n° 11 intégrant le témoin Sabrina et les lignées Epi 23 / 3.6.1 et Hi40

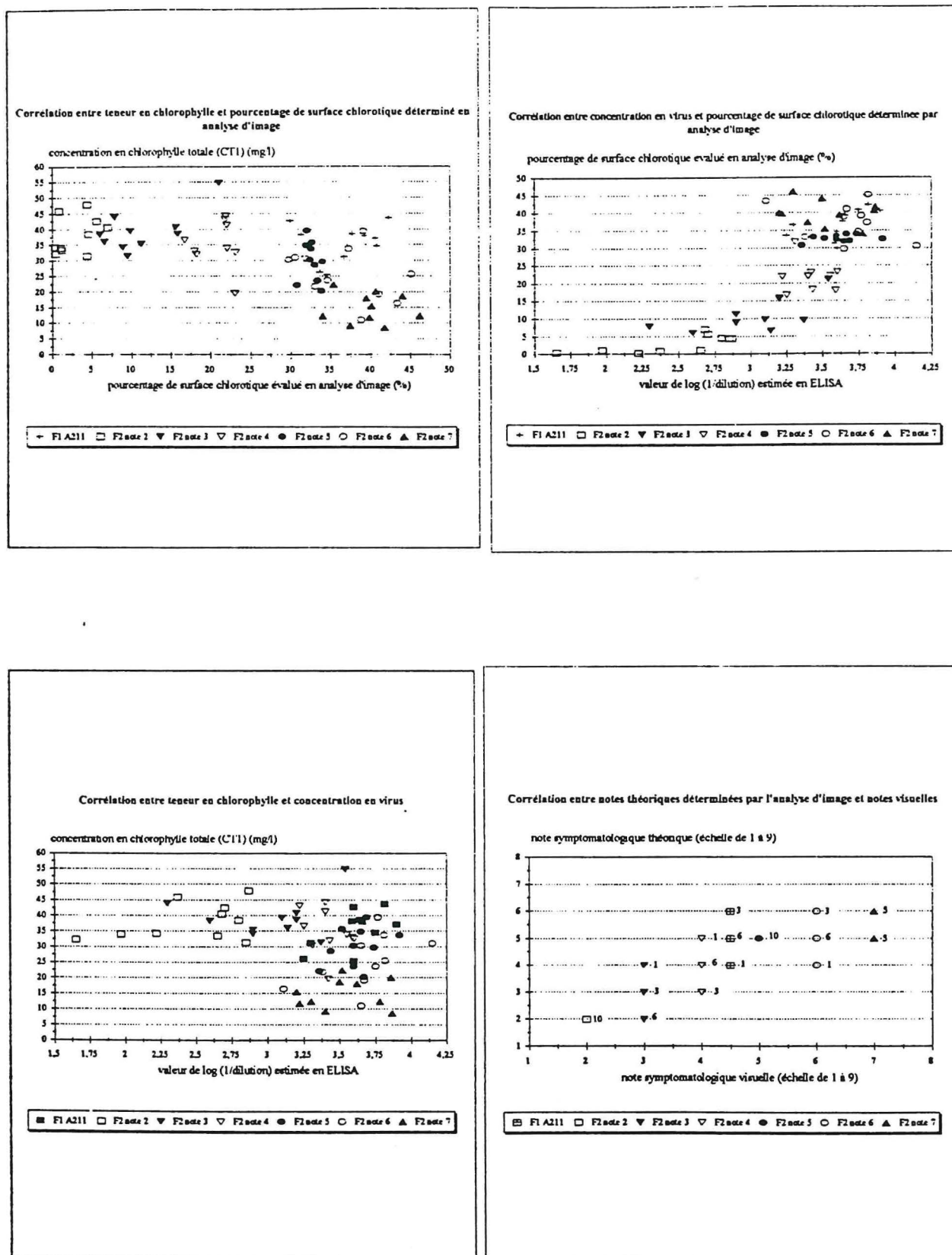


Figure 36 : Corrélations entre la teneur en chlorophylle, la concentration en MSV, les notes visuelles et celles déterminées par analyse d'image, sur des feuilles de la F2 du croisement B73 x D211.

3312. Caractérisation de la résistance à la transmission

Le comportement alimentaire de *P. maidis* a été caractérisé par la technique d'électropénétrographie fin 1994. Des études comparatives entre les lignées résistantes et sensibles ont été engagées début 1995 pour établir si la résistance à la transmission du MMV est liée ou non à une alimentation non soutenue dans le phloème comme cela a déjà été mis en évidence pour la transmission du BYDV par *Rhopalosiphum padi* et *Sitobion avenae* sur certaines espèces d'*Agropyron* (Shuckle et al., 1987).

Trois lignées résistantes à la transmission (Epi 23/3.7.2.1, Epi 23/3.7.3.1, A211.5.1) extraites d'IRAT 297, une lignée résistante aux défoliateurs *Diatraea grandiosella* et *Spodoptera frugiperda* MP705 (Williams et Davies, 1984) et un hybride F1 entre A211 et B73 sont comparés aux génotypes sensibles B73, Sabrina, Savor (Asgrow), Epi 23/3.6.1.1 (lignée sensible choisie pour sa filiation identique jusqu'en S4 avec 2 lignées résistantes) et Hi 40 (lignée résistante au MMV).

Pour chaque génotype, 10 jeunes femelles de *P. maidis* sont enregistrées en EPG de 8 à 16 heures sur un plant au stade 3 feuilles. Quinze paramètres ont été pris en compte (tableau 28) parmi lesquels une première analyse discriminante factorielle a permis de retenir 7 paramètres, les plus représentatifs. Une seconde analyse factorielle discriminante avec ces 7 paramètres fournit une répartition très explicite des génotypes selon 2 axes expliquant 89 % de l'inertie totale (Figure 34). Les génotypes sensibles sont situés à proximité du pôle phloème à l'inverse des génotypes résistants et de l'hybride. Sur les génotypes résistants, l'insecte effectue beaucoup plus de piqûres individuelles, des durées de sondage et de non piqûres élevées et par contre de faibles durées totales d'ingestion dans le phloème. L'absence d'alimentation soutenue dans le phloème serait donc bien la cause de non transmission du MMV. Le mécanisme de résistance reste maintenant à découvrir et serait vraisemblablement dû à des facteurs chimiques ou physiques (production de callose) associés au phloème. Comme *P. maidis* a un comportement alimentaire similaire sur MP 705 et sur les lignées résistantes extraites d'IRAT 297, il serait intéressant de poursuivre les investigations sur ces lignées pour savoir si certains mécanismes de résistances

agissent aussi bien sur les défoliateurs que sur les piqueurs suceurs. L'hybride F1 entre A211 et B73 se classe comme son parent résistant, ce qui confirme le caractère héritable de cette résistance qui semble présenter une dominance élevée. La sélection de ce caractère et son introduction dans des hybrides ou variétés d'intérêt agronomique sont donc envisageables. Pour tester l'efficacité de cette résistance, des essais d'infestation en tunnels étanches aux insectes utilisant des doses croissantes arithmétiquement de 7 à 42 insectes par plant ont été menés. La comparaison, par exemple, des résultats sur Sabrina et A211.1 (Figure 35) montre qu'il faut près de 6 fois plus d'insectes pour obtenir un pourcentage de plants virosés identique et montre bien l'intérêt de cette résistance. Néanmoins, il serait nécessaire préalablement de comparer son efficacité sur les autres viroses du maïs transmises selon le mode persistant (MSV, MStpV...). Il faut vérifier également si elle ne favorise pas la sensibilité aux viroses transmises selon le mode non persistant (MDMV) ou semi persistant (MCDV) en augmentant la fréquence des piqûres et des périodes d'alimentation courte (piqûres d'essai).

3313. Validation de l'échelle de notation quantitative pour le MSV obtenue par analyse d'image

Cette étude menée en 1994 avait pour objectif d'analyser les corrélations entre différentes méthodes d'estimation de la résistance au virus pour valider la technique d'analyse d'image et par là-même vérifier la valeur du crible visuel utilisé jusque-là. La détection quantitative du virus dans la plante se fait par la technique immunologique "ELISA double sandwich indirecte" selon la méthode comparative (Peterschmitt et *al.*, 1992). Le calcul de la teneur en chlorophylle se fait selon les équations de Mackinney (1941) et a pour but d'estimer l'effet de destruction des chloroplastes par le virus.

Les teneurs en chlorophylle A, B et totale, la concentration en antigènes viraux, la note symptomatologique visuelle (échelle 1 à 9), le pourcentage de surface chlorotique (analyse d'image) ont été mesurées sur 70 feuilles de la F2 du croisement B73 x D211. On observe globalement que la concentration de la chlorophylle totale diminue avec l'augmentation de la sévérité des symptômes, alors que la concentration en virus et le pourcentage de surface chlorotique augmentent. L'étude des corrélations entre ces différentes variables (Figure 36) permet de tirer les conclusions suivantes :

- la forte corrélation entre teneur en chlorophylle et pourcentage de surface chlorotique permet tout d'abord de confirmer que les tâches chlorotiques observées sont bien dues à une destruction des chloroplastes. De façon plus générale, la teneur en chlorophylle est fortement et négativement corrélée avec les 3 variables d'estimation de la quantité de symptômes (sévérité), à savoir la note symptomatologique visuelle, le pourcentage de surface chlorotique et la note symptomatologique théorique déterminée par analyse d'image,
- de la même façon, on observe une forte corrélation entre la concentration en virus et la sévérité des symptômes, la multiplication du virus dans la plante induisant donc bien une aggravation de la maladie,
- la corrélation entre teneur en chlorophylle et concentration en virus est significative mais faible. Cela confirme les observations microscopiques faites au cours de ce projet montrant la destruction des chloroplastes au cours de l'infestation cellulaire,
- la corrélation entre notes visuelles et notes théoriques déterminées par l'analyse d'image est excellente, et confirme donc la validité de l'échelle de notation que nous utilisons.

Etant données les corrélations significatives mesurées entre teneur en chlorophylle, quantité de virus et gravité des symptômes, il est permis de dire que l'évaluation de la sévérité de la maladie à partir d'une notation visuelle est une méthode pertinente : elle permet d'évaluer la destruction des chloroplastes qui est à relier directement à la chute du rendement, cette dernière donnée étant en fait celle qui nous intéresse concrètement le plus. Cette échelle est maintenant utilisée pour toutes les notations à La Réunion et a été depuis adoptée par nos partenaires.

Tableau 29: Caractéristiques principales des lignées résistantes au MSV du CIRAD Réunion

Lignée	Orig. gén.	général.	maturité plants(1)	couleur grain(2)	texture grain(3)	hauteur plant(m)	verse veget.(4)	rouille(4) <i>P. sorghi</i>	résistance MSV(5)	Observations
31RS-81	CIRAD 387	S7	P	J / O	C / D	1,2	R	I / S	1	très résistante/verse
31RS-93 (= L61)	CIRAD 387	S7	P	J / O	C / D	1,35	R	I / S	1	Inscrite sous CIRAD390
31RS-108	CIRAD 387	S7	P	J / O	C / D	1,45	R	I / S	1	
31RS-117	CIRAD 387	S7	I	J / O	C / D	1,4	R	I / S	1	
171RS-129	CIRAD 388	S5	P	B / J	C / D	1,6	R / I	S	1	très sensible/rouille
TIEMRS-134	CIRAD 389	S5	I	J / O	C	1,75	R / I	I / S	1	
TIEMRS-139	CIRAD 389	S5	P	J / O	C	1,7	R / I	I / S	1	
CN7RS-141	CIRAD 385	S5	P	B	C	1,9	R	I	1	
CN7RS-151	CIRAD 385	S5	P	B	C	1,45	R	I	1	
CN7RS-162	CIRAD 385	S5	P	B	C	1,4	R	I	1	
A211	CVR3-C3	S9	T	O	C	1,7	I	I	1	
A212	CVR3-C3	S9	I	O	C	1,4	I	I	1	
A217	CVR3-C3	S10	I	O	C	1,5	I	S	3	
B353	CVR3-C3	S10	T	O	C	1,5	I	R	2	bonne résistance/rouille
B651	CVR3-C3	S10	T	O	C	2	R	R	2	robuste, port érigé
D211	CVR3-C3	S9	T	O	C	1,7	S	I	1	
D212	CVR3-C3	S8	I	O	C	1,5	I	I	2	
D213	CVR3-C3	S8	T	O	C	1,4	R	R / I	2,5	
D255	CVR3-C3	S9	T	O	C	1,6	R	R	2	

(1) T = tardif, I = intermédiaire, P = précoce

(2) B = blanc, J = jaune, O = orange

(3) C = corné, D = denté

(4) R = résistant, I = intermédiaire, S = sensible

(5) note 1 à 9

332. Recherches concernant la résistance au MSV

3321. Sources de résistance et fixation de la résistance

La source de résistance de départ utilisée est la variété CVR3-C3, Composite Viroses Résistant 3 - cycle 3, constitué du brassage des écotypes les plus résistants originaires des Mascareignes et ayant été amélioré au cours de 3 cycles de sélection récurrente, dont les deux derniers sous infestation artificielle (Hainzelin et Marchand, 1986 ; Marchand et *al*, 1995). Ce travail a permis l'obtention d'un niveau moyen de résistance élevé de la variété avec une disparition quasi-totale des plants très sensibles et une augmentation très forte des plants présentant une résistance forte et intermédiaire (Marchand et *al*, 1995). Cette variété a constitué jusqu'à aujourd'hui notre donneur pour le programme de transfert de la résistance au MSV dans des variétés à pollinisation ouverte sensibles. Plusieurs lignées homozygotes à résistance totale ou intermédiaire au MSV (tableau 29), ainsi que des hybrides F1 (résistant x résistant) et (résistant x sensible) ont pu être obtenus à partir de ce matériel au cours du projet. Ce travail avait différents objectifs :

- Disposer de la résistance fixée dans au moins une lignée de façon à pouvoir en étudier le contrôle génétique

L'étude et la sélection de lignées de CVR3-C3 jusqu'en S5 a permis, grâce à l'analyse des distributions de fréquences des différentes notes symptomatologiques, de mettre en évidence un système majeur de résistance forte à totale qui a pu être sélectionné et fixé dans quelques lignées (distribution asymétrique gauche). Ces lignées étaient issues de l'autofécondation de plants indemnes de symptômes dans des familles à fort taux de plants résistants et à distribution de fréquence bimodale. L'hypothèse de la présence d'une résistance partielle a également pu être émise grâce à la sélection de lignées présentant des distributions de fréquences monomodales centrées sur les notes intermédiaires. Ces lignées avaient été obtenues par autofécondation de plants à niveau de résistance intermédiaire dans des familles présentant une distribution bimodale. La sélection de ces lignées et à première vue l'impossibilité de mettre en évidence des ségrégations mendéliennes simples laissait supposer un déterminisme complexe faisant intervenir un système vraisemblablement oligogénique avec à priori une dominance partielle de la

résistance (Rodier et *al.*, 1995). Il est à noter que la sélection de lignée à résistance partielle, présentant des symptômes très atténués par rapport au témoin sensible, ne permet pas d'affirmer qu'il s'agit là de l'expression d'un système mineur différent et supposé polygénique. On peut penser qu'il s'agit plutôt de l'expression partielle du système majeur. La mise en évidence de gènes mineurs aurait nécessité de contre-sélectionner ce système majeur qui masque leur présence éventuelle.

- Disposer de matériel discriminant pour mener les études de virologie

Une gamme de génotypes de différents niveaux de résistance fixée est nécessaire pour mener les études sur les clones de MSV et les déterminants moléculaires de leur différences d'agressivité. Quelques lignées bien fixées et hybrides F1 résistant x sensible sont maintenant disponibles et permettent de couvrir avec précision l'échelle des symptômes (Cf. 3261).

- Disposer d'une gamme de donneurs de résistance en vue de la sélection de variétés et d'hybrides résistants

Plusieurs lignées résistantes de différentes caractéristiques (notamment couleur de grain et précocité) ont déjà pu être sélectionnées directement à partir de CVR3-C3 ou à partir des variétés dans lesquelles la résistance a pu être transférée (tableau 29). La protection de ces obtentions et leur enregistrement est en cours (Clerget et *al.*, sous presse). Ce matériel constitue une source de résistance de base très intéressante pour les transferts dans des populations sensibles et dans des géniteurs d'hybrides. Ce travail d'extraction de lignées résistantes se poursuit au fur et à mesure de l'avancement de notre programme de transfert. Le transfert de la résistance au MSV dans quelques lignées élites appartenant à des groupes hétérotiques tropicaux "pivots" débouchera sur l'obtention de nouvelles sources de résistance de bonne valeur agronomique et d'excellente aptitude à la combinaison. Ces sources futures permettront une manipulation plus aisée de la résistance, pourront entrer dans des formules hybrides totalement résistantes de bonne valeur et servir de testeurs dans des test d'aptitude à la combinaison de nos obtentions résistantes et de celles d'autres organismes.

Déterminisme génétique de la résistance au MSV

(d'après A. Rodier, thèse de doctorat, 1995)

Tableau 30 paramètres estimés à partir de l'analyse des moyennes des générations pour le croisement (D211 x B73)
criblages vis à vis du mélange d'isolats M et de l'isolat St39

paramètre		valeur estimée	
		M	St39
effet moyen du fond génotypique	m	5,08	4,53
effet de substitution allélique	[d]	3,91	3,46
effet de dominance	[h]	-1,48	-2,12
variance d'environnement	E2	0,31	0,17
variance d'additivité	D	6,06	3,98
variance de dominance	H	7,24	0,76
héritabilité au sens large	HtB	0,59	0,93
héritabilité au sens strict	HtN	0,94	0,85
nombre minimum de facteurs génétiques	k1MJ	2,52	3,01
potence ratio	PR	-0,38	-0,61
dominance ratio	DR	1,09	0,44

3322. Déterminisme génétique de la résistance et conséquences en sélection

L'étude du déterminisme génétique de la résistance totale au MSV a été menée grâce à l'analyse des différentes générations du croisement de la lignée D211 (issue de CVR3-C3) par le parent sensible B73 : parents, F1, F2, rétrocroisements sur parent sensible et résistant. La production de ces générations s'est faite à l'abri de toute pression virale. L'analyse génétique a été réalisée, sous infestation artificielle, suivant la méthode d'analyse des moyennes des générations (Generation Mean Analysis, Mather & Jinks, 1982) en utilisant, dans un premier essai, le mélange d'isolats présent sur la station (M), et dans un 2ème essai, l'isolat SP2. Elle a consisté à calculer les différents paramètres génétiques (tableau 30) et à tester l'adéquation des résultats au modèle d'additivité-dominance avec ou sans interactions non-alléliques.

Dans les deux essais, le criblage a été fait suivant l'échelle de notation 1 à 9. On observe une différence hautement significative entre les deux parents (près de 8 points d'écart). D'une façon générale, l'allure des distributions de fréquences obtenues pour les différentes générations apparaît bien cohérente avec le caractère quantitatif et partiellement dominant de la résistance (Figure 37).

Les données de l'étude montrent que le test selon le modèle additivité - dominance est hautement significatif. Elles indiquent que le contrôle génétique du caractère de résistance exprimerait bien une dominance partielle positive ($h = -1,48$ et $-2,12$). La composante additive de la variance génétique est élevée en valeur absolue comme en regard de la variance environnementale qui reste faible dans les deux essais ($D = 6,06$ et $3,98$, soit $44,5 \%$ et $81,1 \%$ de la variance totale). Ce résultat est confirmé par les valeurs élevées de l'héritabilité, au sens large et surtout au sens strict (près de 90%), indiquant un contrôle génétique très fort de ce caractère avec une part importante d'additivité permettant une sélection relativement facile avec des techniques simples. Le nombre minimum de gènes impliqués serait de 2 ou 3, selon la formule de Mather & Jinks $k_{1M\&J} = d^2 / D$ (valeur $k_{1M\&J} = 2,52$ pour le mélange d'isolats et $3,01$ pour l'isolat SP2).

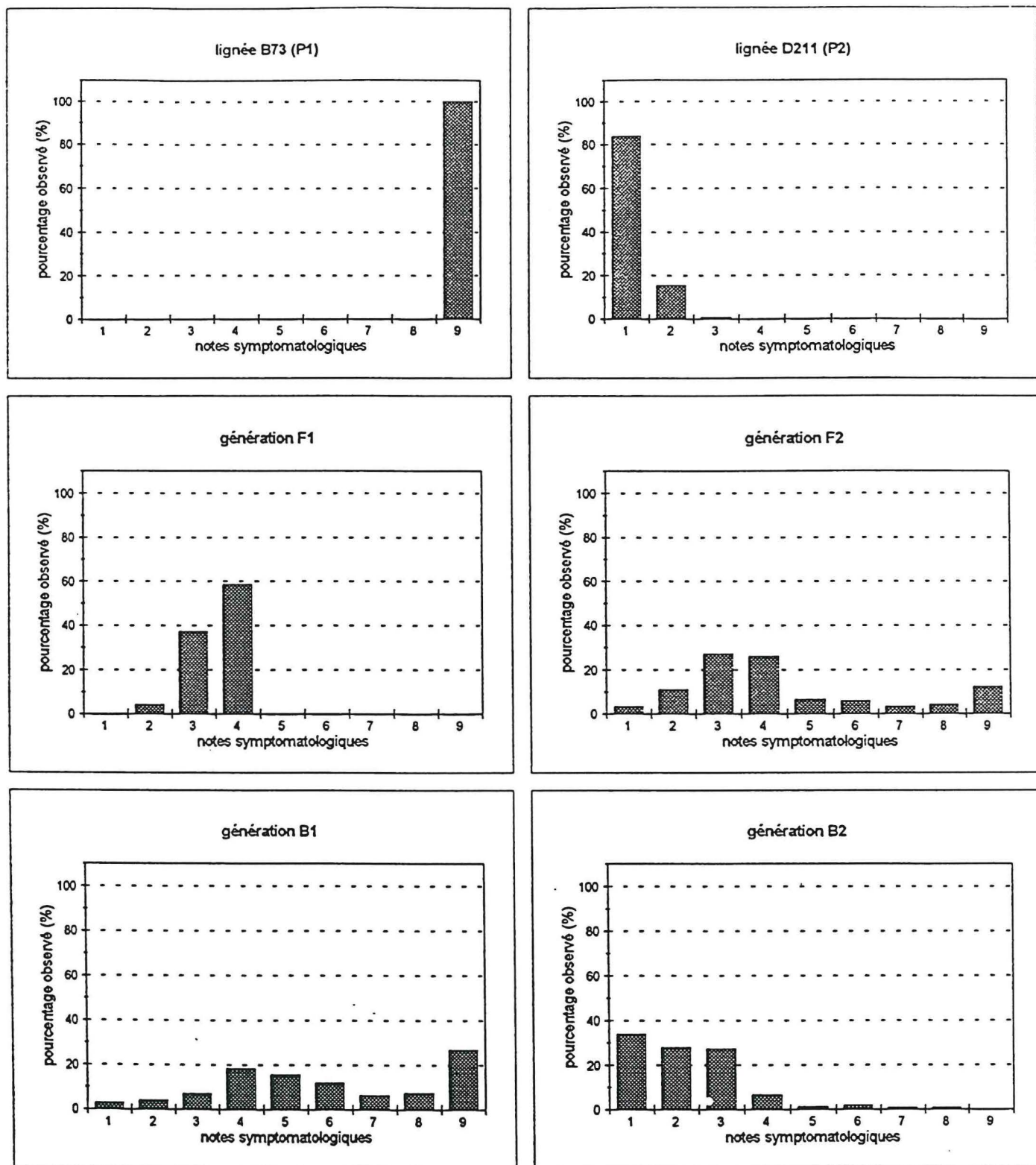


Figure 37 : distribution des fréquences des différentes notes symptomatologiques observées chez les 6 générations du croisement (D211 x B73) 42 jours après infestation (criblage vis à vis de l'isolat M).

Cette analyse repose sur les hypothèses que le caractère étudié est contrôlé par des gènes exprimant des effets additifs et de dominance uniquement, c'est à dire à l'exclusion de tout effet d'épistasie, de linkage entre les facteurs génétiques et d'interaction génotype-environnement. En ce qui concerne la première hypothèse, l'analyse selon le modèle additivité-dominance-interactions non-alléliques a pu être faite dans le cas du mélange d'isolats (M). Elle a révélé des effets significatifs ($Khi-2 = 0,00020$) d'interactions homozygotes x homozygotes et hétérozygotes x hétérozygotes significatifs, ces dernières étant prépondérantes. Les facteurs génétiques impliqués dans le contrôle du caractère de résistance totale vis à vis du mélange d'isolats et portés par D211 présenterait donc de l'épistasie digénique du type dupliqué à effet défavorable sur l'expression de la résistance. On peut cependant considérer que ces effets, s'ils existent, ne contribuent pas significativement à l'explication de la variation génétique étudiée. En ce qui concerne l'absence d'interaction génotype-environnement, à défaut de pouvoir tester réellement et statistiquement cette hypothèse dans notre modèle, on peut cependant supposer dans les conditions de l'essai, que l'effet de l'environnement sur un génotype, outre les variations imputables à la notation elle-même, est négligeable. Pour ce qui est de l'absence de linkage entre les facteurs génétiques impliqués dans le contrôle de la résistance, le test de cette dernière hypothèse requiert les 4 générations de double rétrocroisement dont nous ne disposons pas ; de plus, cet effet n'est susceptible de fausser les résultats qu'en présence d'épistasie qui dans notre cas n'a probablement pas d'effet significatif dans le contrôle de la résistance (Rodier, 1995).

Ces résultats ont été confrontés à ceux d'autres auteurs ayant travaillé sur les sources de résistance africaines. Que ce soit au Nigéria, en Afrique du Sud, ou au Burundi, la plupart de ceux-ci avancent une dominance de la résistance, généralement décrite comme partielle et faiblement négative. Ce résultat, quelque peu différent du notre, pourrait s'expliquer par l'échelle de notation généralement moins précise utilisée par ces auteurs ainsi que par les méthodes différentes d'analyse génétique. Au Nigéria, la résistance au MSV est décrite également comme très héritable et des variances d'additivité importantes ont été rapportées. Le nombre de facteurs génétiques impliqués, en dehors de la Réunion, n'a été estimé que par les chercheurs de l'IITA qui rapportent 2 à 3 gènes sur la source de résistance IB 32. (Storey & Howland, 1967 ; IITA, 1981 ; Soto *et al.*, 1982 ; Zeigler & Manirakiza, 1986 ; Kim *et al.*, 1989).

La première conclusion pratique que l'on tire de ces résultats est que la forte valeur d'héritabilité au sens strict, indiquant l'importance de l'additivité dans le contrôle des gènes, favorise la sélection de ce caractère dans des schémas de transfert de la résistance dans des variétés ou géniteurs sensibles. De façon plus précise, on peut par exemple prévoir les applications suivantes dans un programme de sélection :

- Prédiction de la fréquence d'obtention de lignées recombinantes en F2 d'un croisement entre une lignée résistante et une lignée sensible

Dans un programme de transfert de la résistance totale au MSV dans des lignées sensibles, les paramètres génétiques calculés nous permettent d'estimer la probabilité de sélectionner en F2 du croisement lignée sensible par D211, un génotype recombinant présentant une résistance égale à celle de ce donneur ; cela nous permet donc de prévoir le nombre de descendances F2 à mettre en place. Il a été ainsi calculé dans notre cas, avec $D = 6,06$, que la probabilité d'obtenir une lignée présentant une résistance complète - équivalente à celle de la lignée D211 - est de 5,6 %. Le nombre de descendances à cribler pour obtenir cette lignée avec 99 % de chances est de 81.

- Estimation de la réponse à la sélection

On peut également, à partir de cette même génération F2, prévoir la réponse à la sélection (R) grâce à l'estimation de l'héritabilité au sens strict (h_tN) et pour une différentielle de sélection choisie (S) (Mather & Jinks, 1982), appelé encore écart de sélection (Falconer 1974). La prévision de la réponse à la sélection selon la formule $h_tN = R / S$ n'est en principe valable que pour une génération de sélection (celle à partir de laquelle l'héritabilité du caractère a été estimée). Toutefois, en l'absence de variations des composantes de l'héritabilité (D, H et E), cette relation est applicable à une réponse cumulative sur plusieurs cycles de sélections consécutifs (Mather & Jinks, 1982). Des expériences auraient montré qu'effectivement la réponse à la sélection est peu variable pendant plusieurs générations (Falconer, 1974). On a ainsi pu estimer un gain de 2,05 à 2,89 points de résistance (selon les différentes formules de calcul utilisées) et cela en ne sélectionnant que des individus indemnes. Ce gain serait de 1,46 à 2,06 points en sélectionnant des individus notés 1 ou 2. Dans tous les cas, la génération F3 devrait avoir théoriquement une note symptomatologique moyenne inférieure à 3, alors que la génération F2 présentait une note moyenne de 4,47.

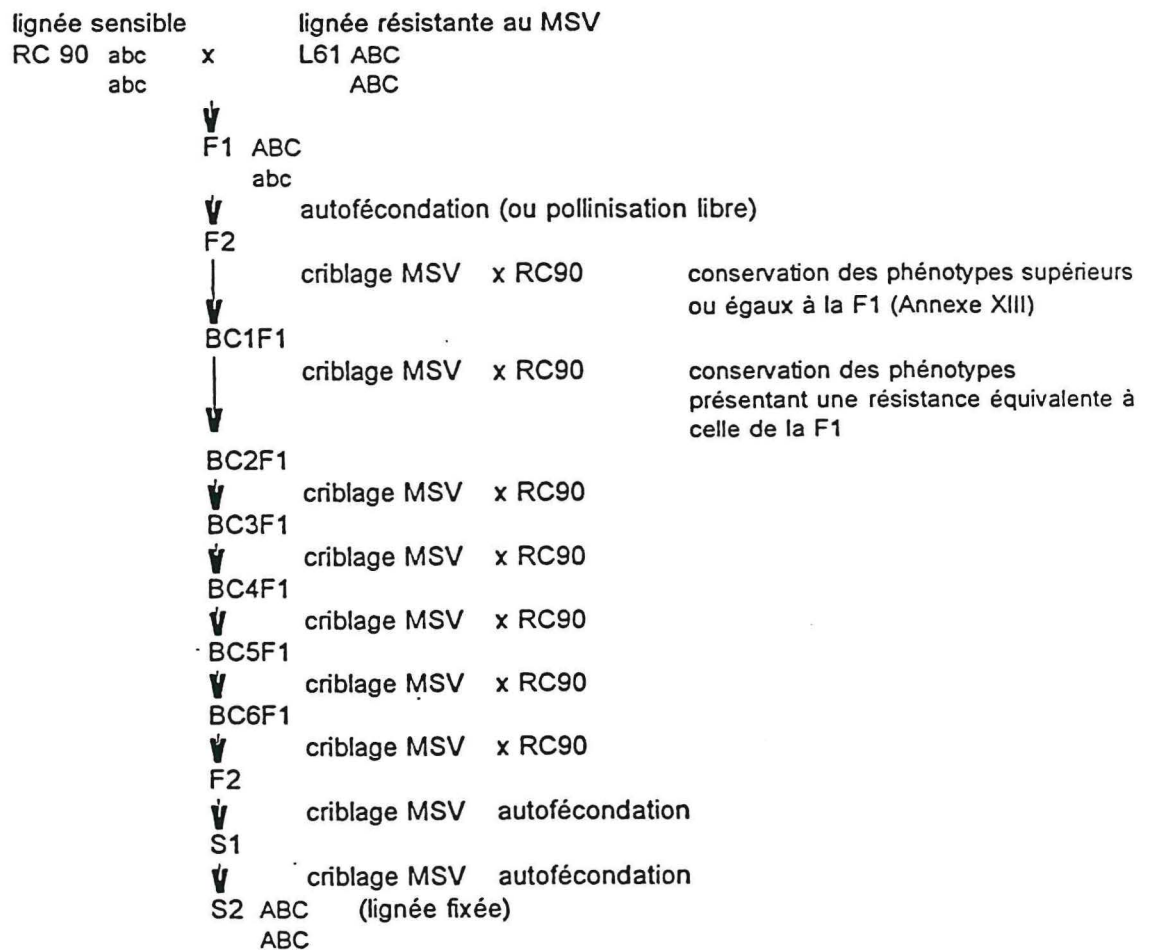


Figure 38 : Schéma de transfert de la résistance complète au MSV à des lignées sensibles proposé.

Un schéma de sélection et de transfert de la résistance complète dans des lignées élites par une série de 6 rétrocroisements suivis de deux générations d'autofécondations a pu être précisé (Rodier, 1995) (Figure 38).

La deuxième conclusion que l'on tire de cette étude est que notre résistance totale au MSV ne serait pas du type le plus courant et le plus fréquemment étudié du point de vue des résistances aux virus en général décrites dans la littérature qui sont souvent contrôlées par des systèmes monogéniques et des allèles à dominance complète. On peut penser que le caractère oligo- à polygénique constitue une garantie de durabilité de ce type de résistance qui paraît stable et sûre dans des conditions normales de culture du maïs, à condition d'utiliser des cultivars dans lesquels on aura transféré le système majeur complet. Celui-ci entraînant semble-t-il un blocage de la multiplication virale, les chances d'apparition de variants capable de contourner la résistance sont à priori beaucoup plus faibles que dans le cas du "système incomplet" qui ne stoppe pas la multiplication du virus mais ne fait que la freiner. Néanmoins, le caractère oligogénique de cette résistance à la multiplication ne constituant pas une garantie absolue, il convient de s'intéresser à l'association de ce système à d'autres types de résistance, telle la résistance à l'insecte, qui peuvent contribuer à une plus grande durabilité de la résistance au virus *sensus stricto*. La stratégie d'utilisation de la résistance au MSV devra donc aussi être raisonnée en fonction de ces données.

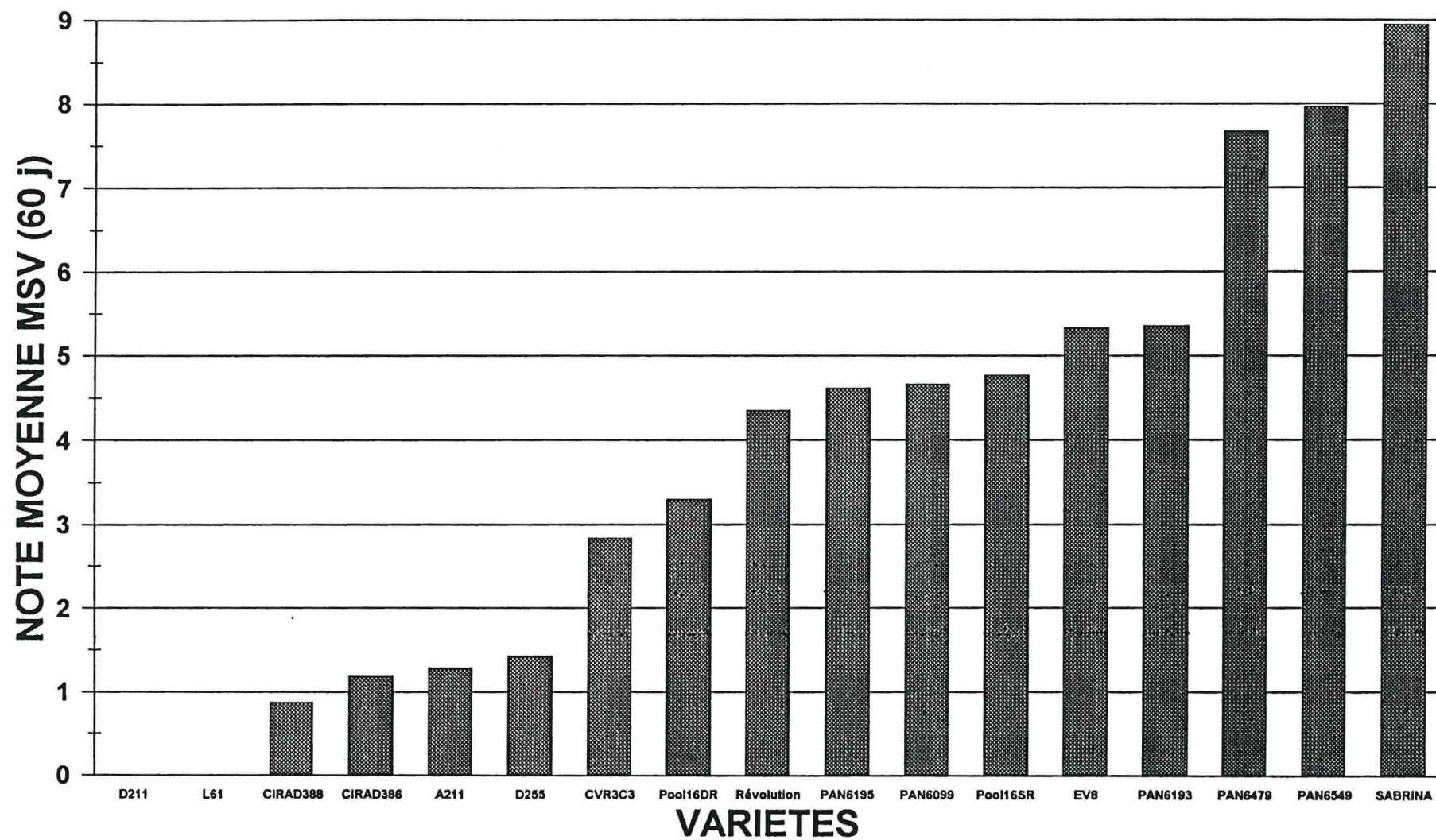
3323. Transfert de la résistance

A La Réunion

A l'issue du projet, le bilan des transferts s'établit comme suit :

- 5 variétés considérées comme converties, présentant une résistance quasi-totale, au stade sélection conservatrice et dont la multiplication de semences de départ est assurée par le programme maïs de la Réunion qui les diffuse à la demande :

Figure 39 : Test de variétés résistantes au MSV
(Échelle de notation 0 à 9)



CIRAD 385 (CN7 RS, Bénin), **CIRAD 386** (Pool 16 SR RS, IITA Nigéria), **CIRAD 387** (Suwan 8331 RS, CIMMYT), **CIRAD 388** (IRAT 171 RS, Burkina) et **CIRAD 389** (Tiémantié RS, Mali)

► 1 variété au stade brassage finale des S3 : **IRAT 34 RS** (CJB : Composite Jaune de Bouaké, Côte d'Ivoire)

► 2 variétés respectivement au stade F2 et F3 (S1) du 2ème rétrocroisement : **Poza Rica 7822 RS** (CIMMYT, Mexique) et **IRAT 340 RS** (Ferké (1) 8128, Côte d'Ivoire)

► 2 variétés au stade F1 du 2ème rétrocroisement : **Tuxpeno 1 RS** (pop. 21 CIMMYT, Mexique) et **Pool 9a RS** (CIMMYT, Mexique) (cette variété étant parallèlement sélectionnée en deux formes résistantes précoces, blanche et jaune)

► 4 variétés au stade de la F3 du 1er rétrocroisement : **IRAT 275 RS** (Composite D, Côte d'Ivoire), **IRAT 293 RS** (Composite Y, Burkina), **IRAT 48 RS** (CPJ, Côte d'Ivoire) et **MAKA RS** (Mauritanie).

L'efficacité du schéma de transfert utilisé - relativement simple et rapide - la qualité des infestations et des criblages sont confirmées par le niveau final de résistance atteint dans nos variétés, proche de la résistance totale et supérieur à celui obtenu jusqu'à présent par les autres équipes travaillant sur ce thème. Une comparaison du niveau de résistance de nos obtentions avec celui d'hybrides sud-africains résistants développés ces dernières années (Barrow, 1992) a pu être réalisée vis à vis du mélange d'isolats, que nous utilisons pour le transfert de la résistance, et des isolats SP2 et N2A. Les résultats obtenus montrent, selon un test non paramétrique de rangs (Kruskal et Wallis, $Khi-2_{obs} = 0,347$ inférieur à $Khi-2_{0,95} = 5,99$ pour 2 ddl) que le classement des variétés est le même quelque soit l'isolat. Le test de comparaison des notes moyennes obtenues 60 jours après inoculation met en évidence des différences importantes et hautement significatives entre nos obtentions et ces hybrides (Figure 39).

Ce matériel hybride ne se montrant pas suffisamment résistant dans nos conditions, nous envisageons la création de formules originales totalement résistantes pour les régions fortement infestées. Le transfert de la résistance complète dans un certain nombre de lignées élites sensibles a démarré suivant un schéma s'appuyant sur les conclusions de l'analyse génétique (Figure 39). Le caractère étant partiellement dominant, fortement héritable et contrôlé par 3 gènes à effets additifs, on en déduit que la génération F2 contient 27 / 64 (42,2 %) d'individus qui doivent être théoriquement supérieurs ou égaux à l'hétérozygote complet. Seuls ces génotypes portent tous les allèles nécessaires à l'expression de la résistance complète lors du retour à l'homozygotie et doivent par conséquent être sélectionnés lors des criblages. Le principe est ensuite, au cours des rétrocroisements successifs, de ne sélectionner que les recombinants hétérozygotes complets, supposés exprimer un niveau de résistance équivalent à la F1 et normalement suffisant pour leur permettre de croître et d'être recroisés avec la lignée origine. Six rétrocroisements successifs avec criblage, sans étapes intermédiaire, sont prévus afin de retrouver au mieux les caractères du parent sensible. Après le dernier rétrocroisement, un passage en F2 est prévu, suivi de deux générations d'autofécondations pour fixer la résistance complète. La conversion nécessite ainsi 12 générations soit dans nos conditions environ 5 ans. Ce travail est en cours dans les co-obtentions CIRAD-RPA Brésil RC03, RC20, RC90 et dans la lignée I137TN. La perspective d'utiliser bientôt la sélection assistée par marqueurs - à la suite du travail de marquage des gènes de résistance actuellement en cours en collaboration avec le CIMMYT - nous permet d'envisager un raccourcissement de ce schéma (3 rétrocroisements ?) et la possibilité de récupérer plus complètement le génome de la lignée de départ.

Au Togo

Les variétés retenues pour le transfert sont : Blanc-2 précoce (Bénin), Violet de Katiola (Côte d'Ivoire), Pool 16 DR (Cameroun), ZL2-BD (Togo).

Les donneurs de résistance utilisés sont :

- TZESRV-W : donneur précoce de l'IITA pour les variétés à grain blanc
- PR 7843SR : donneur tardif du CIMMYT/IITA pour des variétés à grain blanc.

Figure 40 : Distribution des fréquences des notes symptomatologiques/plant pour la tolérance au MSV observées dans le croisement de départ ZL2-BD x PR7843SR et les générations autofécondées qui en sont issues.

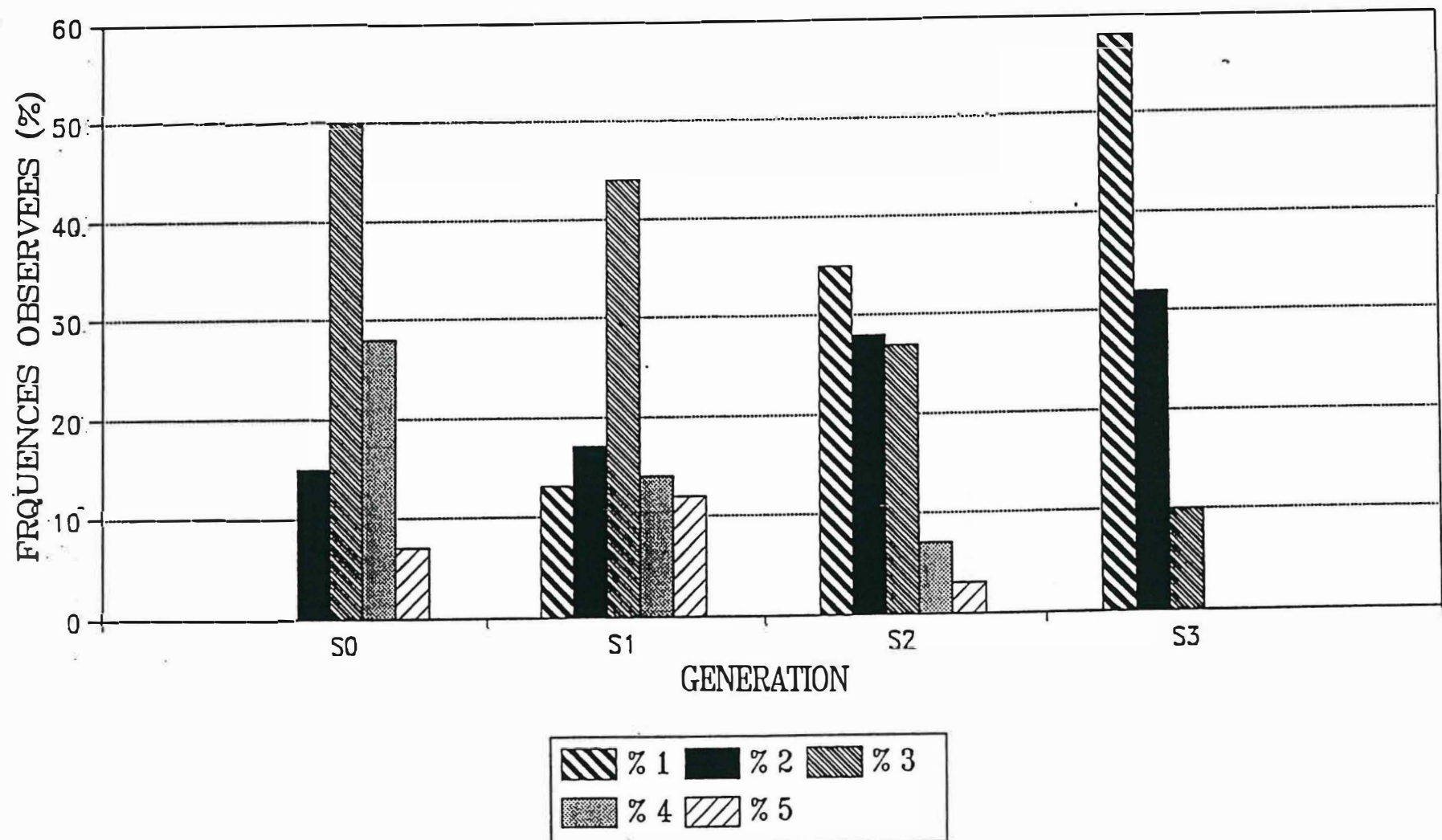


Figure 41 : Distribution des fréquences des notes symptomatologiques/plant pour la tolérance au MSV observées dans le croisement de départ blanc 2 précoce x TZESR-W et les générations autofécondées qui en sont issues.

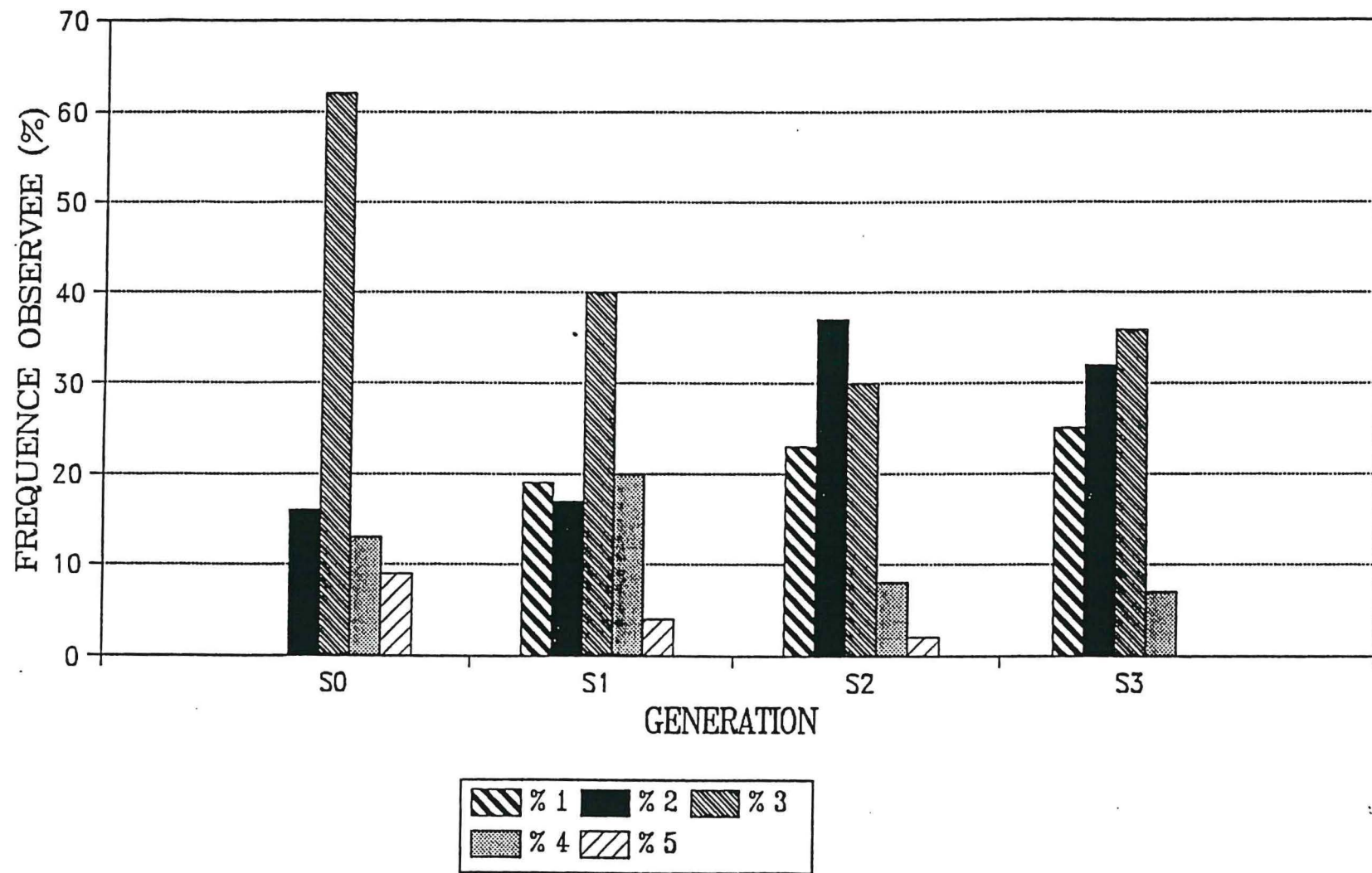
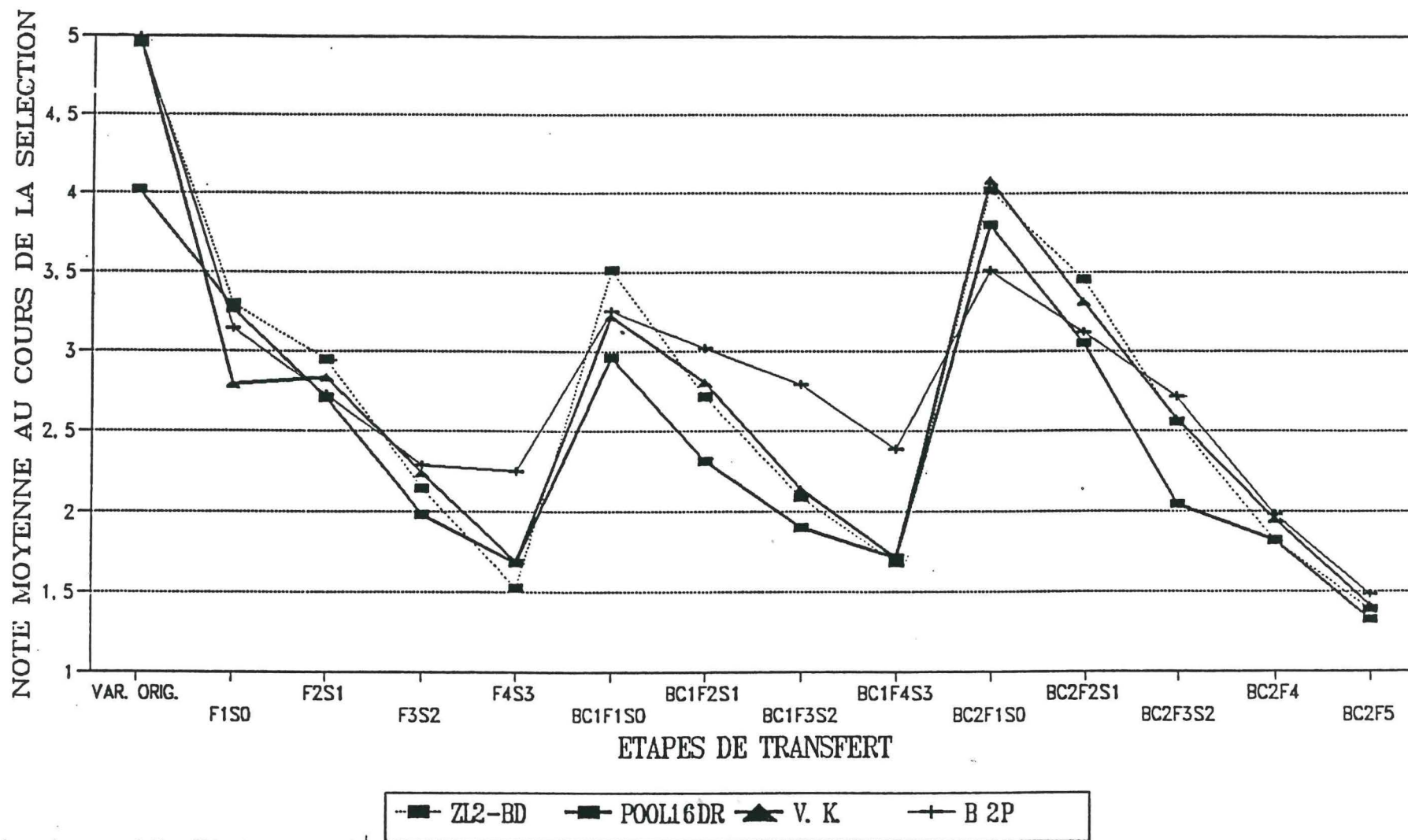


Figure 42 : Efficacité du transfert de la résistance au MSV : évolution de la note moyenne de sensibilité au cours des différentes étapes.



Les figures 40 et 41 présentent la distribution des notes symptomatologiques/plant pour la tolérance au MSV dans les croisements de départ ZL₂-BD x PR7843SR et B₂P x TZESRW et les générations autofécondées qui en sont issues sous criblage artificiel au MSV.

Après trois générations de sélection pour la résistance et d'autofécondations successives, le pourcentage des plants à haute tolérance au MSV (note 1-2 sur une échelle 1-5) croît de 15 à 90 % dans la population ZL₂-BD x PR7843SR et de 16 à 57 % dans B₂P x TZESRW. La note symptomatique globale diminue de 3.27 à 1.52 dans ZL₂-BD x PR7843SR et de 3.15 à 2.25 dans B₂P x TZESRW.

Ces résultats et des observations sur de nombreux autres croisements indiquent que l'accumulation des gènes favorables à la tolérance au MSV par la sélection est facilement réalisable. Toutefois l'expression des symptômes et la vitesse d'accumulation de ces gènes favorables dépend aussi de la base génétique du parent receveur de résistance. Ainsi ZL₂-BD reçoit plus facilement la résistance que B₂P. Cela peut être dû à l'action de gènes mineurs modifiant l'expression des symptômes de MSV.

La figure 42 montre l'évolution de la note de sensibilité au MSV au cours des différentes étapes de transfert dans le contexte d'un schéma de rétrocroisement modifié par l'incorporation de générations autofécondées/endogamiques dans la chaîne des rétrocroisements. On note un gain régulier en résistance dans les générations autofécondées des BC1 des populations receveuses de résistance. Après trois générations d'autofécondations sous criblage artificiel et sélection, les notes évoluent de 3.51 à 1.68 dans ZL₂-BD, de 2.96 à 1.71 dans Pool 16DR et de 3.22 à 1.70 dans Violet de Katiola. Quant à B₂P, l'évolution enregistrée est quelque peu timide (de 3.25 à 2.39).

En BC2, après deux générations d'autofécondations suivies de deux générations endogamiques, on observe aussi dans B₂P un changement satisfaisant de la note de sensibilité évoluant de 3.51 à 1.48. Il en est de même pour les BC2 des autres populations.

TABLEAU 31: COMPARAISON ENTRE DIFFERENTES FORMES (BC1-S1-C2, BC1-S3-C1 et BC2-F5)
DES VARIETES SR ISSUES DU PROGRAMME DE CONVERSION POUR LA
TOLERANCE AU MSV ET LEUR PARENTS SENSIBLES AINSI QUE LEURS
DONNEURS DE RESISTANCE SOUS INFESTATION ARTIFICIELLE AU TOGO (1994)

Numéro d'entrée	Variétés	Notes Symptomalogiques MSV 42 JAI	Rendt Kg/ha
14	BP. OR.	5.000 A	0.208 J
15	V.K OR.	5.000 A	0.205 J
16	ZL2. OR	5.000 A	0.195 J
13	Accross 86 P16 DR	4.025 B	1890 I
20	MAKA SR	3.500 C	1898 I
19	BDP SR	3.200 D	2218 HI
17	TZERSW	2.875 E	3156 EF
18	43 SR	2.700 F	3937 BCD
7	BP BC1-S1-C2	1.500 G	4029 BCD
8	BP BC1-S1-C3	1.400 GH	3835 BCD
4	VK. BC1-S1-C2	1.375 GHI	2547 GH
5	VK. BC1-S3-C1	1.350 GHIJ	1918 FG+3890 BCD
23	ZL2 BC1-S1-C2	1.325 IHIJ	3905 BCD
9	BP BC2-F5	1.300 HIJ	4664 A
11	ZL2 BC1-S3-C1	1.275 HIJK	4323 ABC
10	ZL2 BC1-S1-C2	1.275 HIJK	3413 DEF
6	VK. BC2-F5	1.225 IJKL	4431 AB
12	ZL2 BC2-F5	1.200 JKL	3748 CDE
1	P16DR BC1-S1-C2	1.125 KL	3713 CDE
2	P16DR BC1-S3-C1	1.125 KL	4247 ABC
3	P16DR BC2-F5	1.102 L	3602 DE
21	CN 7 RS	0.125 M	3436 DEF
22	IRAT 171 RS	0.100 M	

Figure 43 : Transfert de la résistance au MSV dans quatre variétés receveuses : distribution des fréquences des notes symptomatologiques/plants dans les générations BC2-F5, leurs donneurs de résistance et un parent sensible (Ativémé 1994).

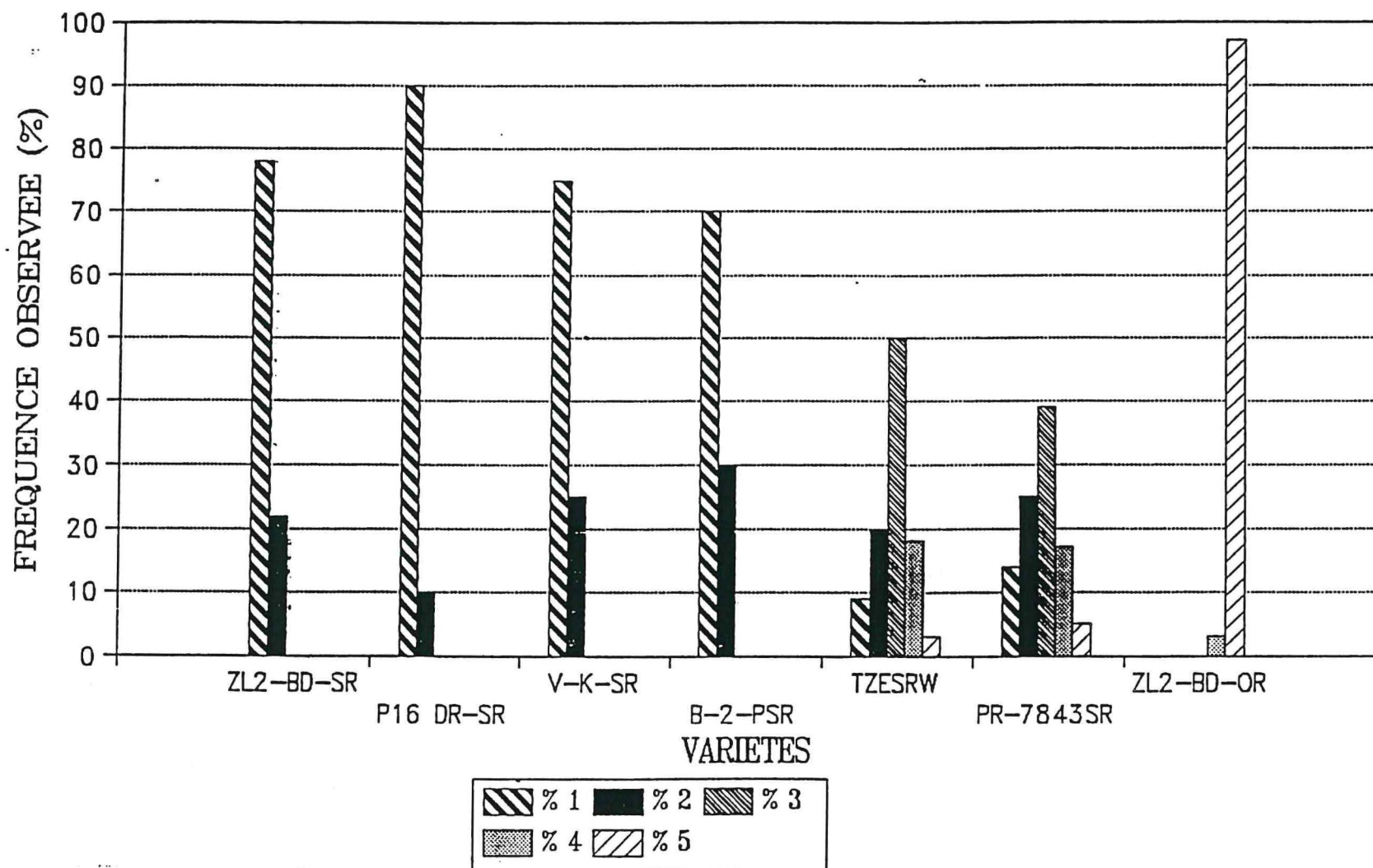
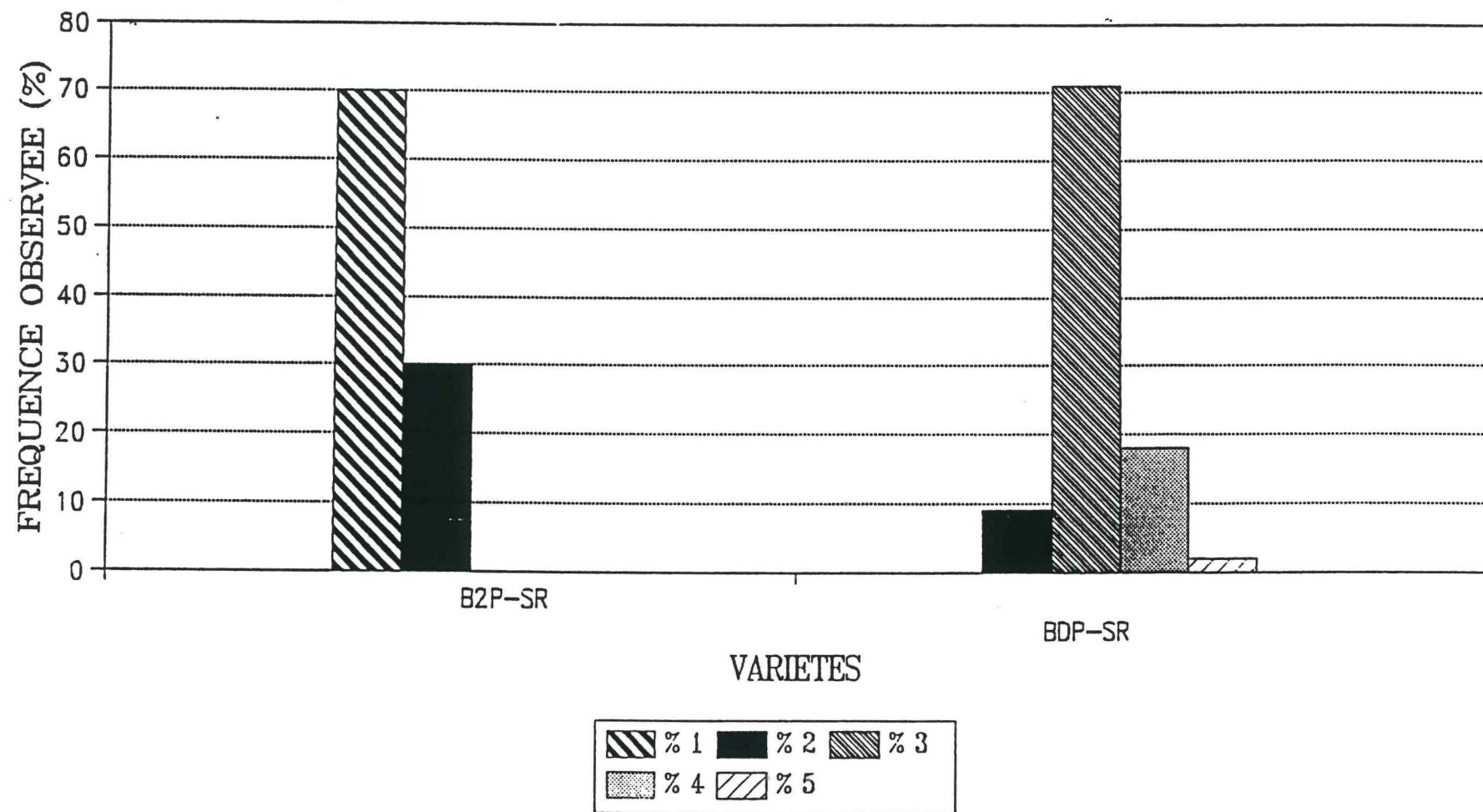


Figure 44 : Résistance au MSV de B2SR-2-PSR BC2 et BDPSR (Ativémé 94).



Ces résultats démontrent l'efficacité du schéma de rétrocroisement successif modifié pour l'amélioration d'un caractère quantitatif tel que la résistance au MSV.

Les résultats d'un essai comparant, sous infestations artificielles au MSV, les différentes formes des variétés RS converties avec les variétés d'origine et leurs donneurs de résistance (tableau 31) attestent aussi de cette efficacité. Il existe des différences significatives entre les entrées pour la note symptomatologique. Les notes obtenues par les F5 du deuxième rétrocroisement des variétés Pool 16 DR, ZL₂-BD, Violet de Katiola. et B₂P sont comparables à celles enregistrées au cours des criblages et sont toutes proches de 1. Elles sont significativement inférieures aux notes moyennes des donneurs de résistance PR-7483 SR et TZESRW dont les valeurs sont égales à 2.7 et 2.9. La figure 43 présente les distributions des fréquences des notes symptomatologiques/plant dans les générations BC2-F5, les donneurs de résistance et un parent sensible. On note dans les générations F5 du deuxième rétrocroisement une disparition des plants notés, 3, 4 et 5. Ceci contraste avec les donneurs de résistance PR7483SR et TZESRW où les pourcentages des plants ayant une note de 3 sont respectivement de 39 et 50, et ceux de plants avec des notes aussi fortes que 4 ou 5 de 22 et 21. Le contraste est encore plus frappant avec la variété origine ZL₂-BD où le pourcentage des plants ayant des notes de 4 et 5 atteint 100 %.

Dans un souci de comparer nos travaux avec ce que font les autres centres de recherche agronomique, des variétés résistantes au MSV du SAFGRAD/IITA et du CIRAD/Réunion ont été incluses dans le test. Il existe une différence significative entre les BC2-F5 de nos variétés converties RS (note = 1.10 - 1.30) et les variétés SR du programme SAFGRAD/IITA : MAKASR (note de 3.5), et BDP-SR (3.2). La figure 44 compare les distributions des fréquences des notes viroses dans B₂P-SR (INCV/Togo) et BDP-SR (SAFGRAD/IITA), deux conversions à la résistance au MSV dans la même variété de départ. Dans BDP-SR on note une forte prédominance du pourcentage des plants ayant une note de 3. Par contre, dans B₂P-SR on observe une disparition des plants ayant des notes de 3 ou plus. Les variétés du CIRAD/Réunion CN7-RS (note de 0.125), et IRAT 171 RS (0.100) sont presque immunes avec une forte proportion de plants sans symptômes. Cela peut s'expliquer par la nature génétique de leur donneur de résistance et par le fait d'avoir sélectionné les plants sans symptômes de MSV.

Tableau 32 : performance moyenne du point de rendement en grain (kg/ha) et tolérance au MSV de quelques variétés SR issues des programmes de conversions de l'IITA/SAFGRAD, CIMMYT, CIRAD/Réunion et INCV/Togo sous infestation artificielle au Togo.

Entrée	Variétés	Rendement	Note sympto. MSV-moyenne
1	PL16DR-BC2	3951A	1,11
2	ZL2-BC2	3891 A	1,267 GH
5	AB21-SRBC1	3746 AB	1,217 GHI
3	B2P-SR BC1	3669 AB	1,317 FG
11	POOL 9A MSR	3490 ABC	1,417 F
6	POOL 16 SR	3443 ABC	0,150 K
4	VK BC1	3370 BC	1,183 HI
8	CN 7 RS	3351 BC	0,1167 K
10	IRAT 171 RS	3349 BC	0,133 K
7	SUWAU 8331 RS	3125 C	0,133 K
9	TIEM RS	3052 C	0,266 J
13	BDP SR	2449 D	3,233 D
12	MAKA SR	2286 D	3,417 C
14	POOL 16 SR	2146 D	3,038 E
15	POOL 16 OR	139 E	4,500 B
16	LOCAL ATIVEME	0,1800E	4,800 A

Figure 45 : Résistance au MSV de POOL 16 DR-SR, POOL9A et POOL 16 RS (Ativémé 94)

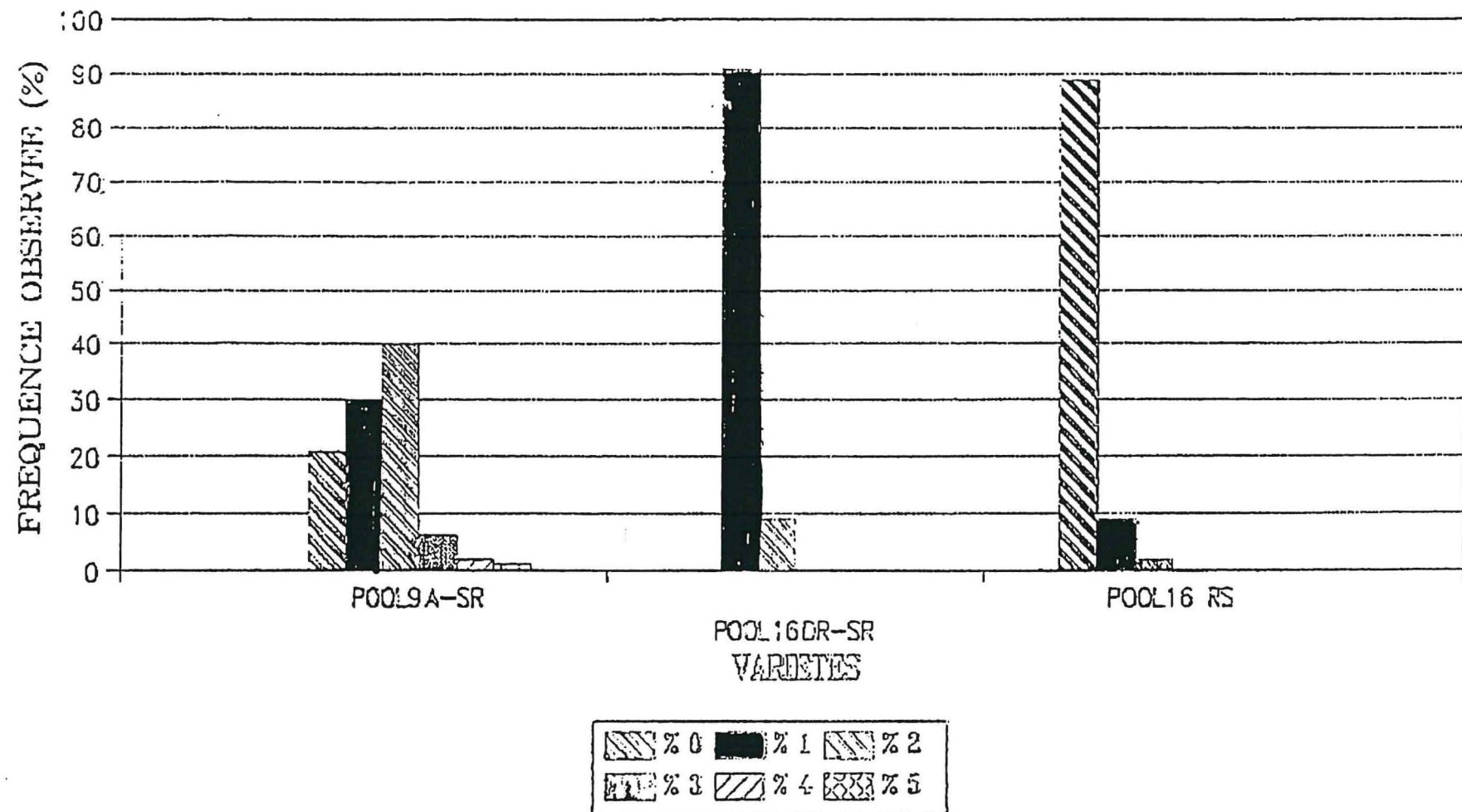
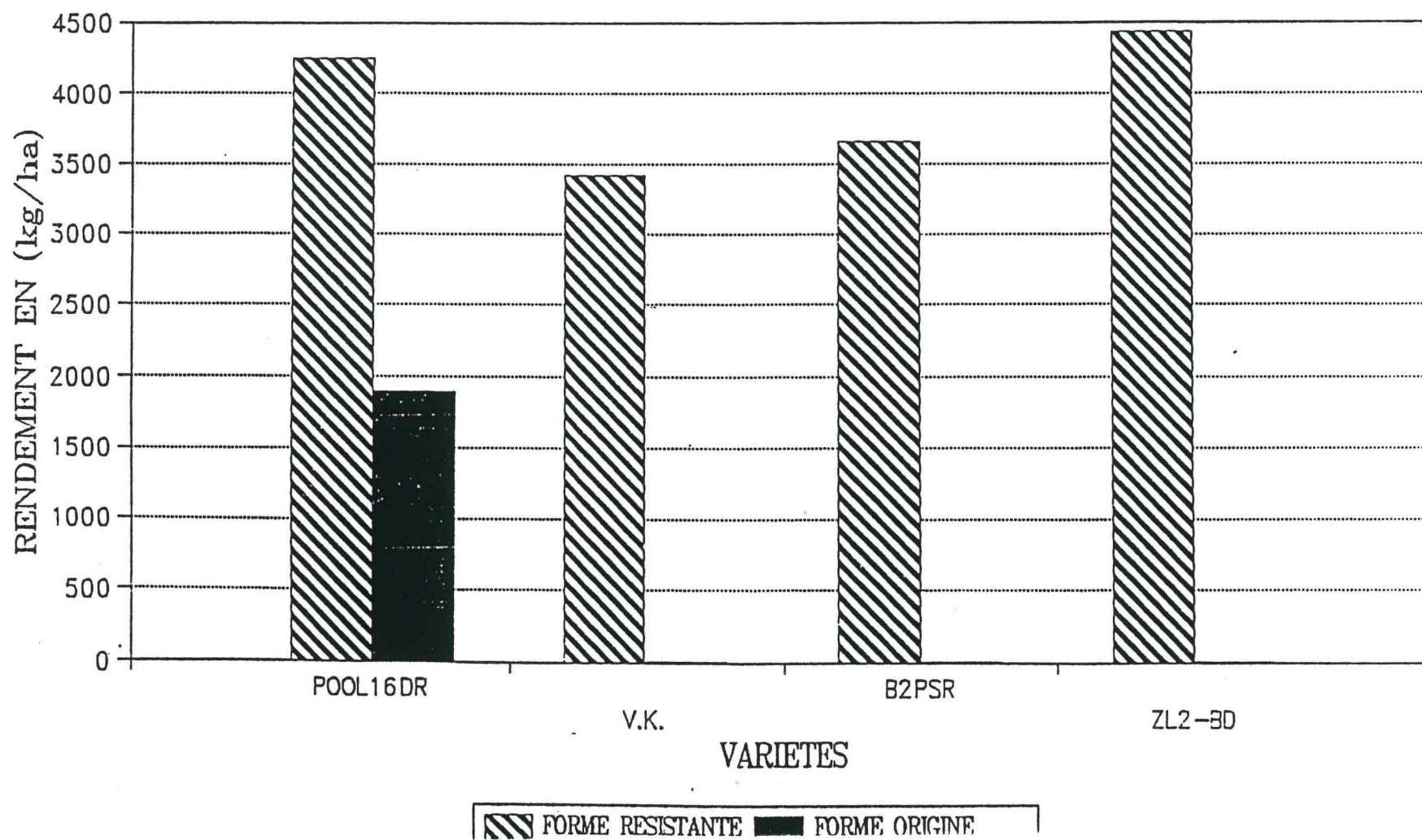


Figure 46 : Efficacité des transferts : rendement en grain des variétés converties comparé au rendement en grain des variétés de maïs d'origine sous infestation artificielle (Ativémé 1994).



Les mêmes tendances sont observées dans un essai où les variétés d'origine CIRAD, CIMMYT, IITA et INCV/Togo sont comparées pour leur niveau de résistance au MSV sous infestations artificielles. Le tableau 32 montre les résultats obtenus. Du point de vue de la note moyenne de la tolérance au MSV, trois groupes se dégagent, groupe CIRAD (note = 0), groupe INCV/Togo (note = 1) et groupe SAFGRAD/IITA (note = 3). La figure 45 indique une très forte proportion de plants sans symptômes dans les Pool16 RS (CIRAD) tandis que dans le Pool9-A-SR (CIMMYT) les notes des plants s'étalent dans les six classes (0-5) avec une prédominance des plants ayant des notes 1 (30 %) et 2 (40 %). Quant à Pool16DR-SR (INCV), le pourcentage des plants notés 1 est de l'ordre de 91 %.

La figure 46 présente le rendement en grain (kg/ha) des variétés converties comparé au rendement en grain des variétés de maïs d'origine sous infestation artificielle. Les rendements des formes sensibles sont nuls pour ZL₂-BD, Violet de Katiola et B₂P. Quant à Pool 16DR la version convertie SR produit deux fois plus que sa forme origine semi convertie.

Ces résultats démontrent l'efficacité de l'application de notre méthode de sélection. Ils montrent qu'il est possible de transférer un caractère quantitatif par rétrocroisement. Toutefois, dans un programme d'amélioration pour la résistance comme celui-ci, le gain génétique ne peut être obtenu que sous une infestation artificielle uniforme.

Les premières variétés issues de ce programme de conversion ont été testées sous infestation artificielle de MSV, au Togo, au Cameroun, au Zimbabwe et à l'île de La Réunion. (Cf. 3224)

Au Cameroun

3 variétés avaient été retenues pour le transfert de la résistance à la striure. Ces variétés étaient:

- P3 Kollo du Niger
- FBC6 du Burkina
- Bafia du Cameroun

Tableau 33 : Notations moyennes et par génération des familles des variétés retenues pour le transfert de résistance au MSV

Variétés	Parents Donneurs	Génération	Nombre de Famille Retenues	Notation Moyenne (1-5)
P ₃ Kollo	Ku 1414 SR	F ₁	-	-
		BC ₁ F ₁	142	3.1
		BC ₁ F ₁ S ₁	52	2.7
		BC ₂ F ₁	52	2.4
			50	
	9848	F ₁		4.1
		BC ₁ F ₁	106	3.6
		BC ₁ F ₁ S ₁	57	2.9
		BC ₁ F ₁ S ₂	56	-
		BC ₂ F ₁	48	
FBC ₆	Maka-SR	F ₁		
		BC ₁ F ₁	133	3.9
		BC ₁ F ₁ S ₁	65	3.2
		BC ₂ F ₁	59	2.7
			52	-
	CSP-SR	F ₁		3.7
		BC ₁ F ₁	162	2.9
		BC ₁ F ₁ S ₁	87	2.3
		BC ₁ F ₁ S ₂	79	-
		BC ₂ F ₁	68	
BAFIA	Suwan II-SR	F ₁	Bulle	
		BC ₁ F ₁	Bulle	
		BC ₁ F ₁ S ₁	122	2.6
		BC ₂ F ₁	104	2.2
			96	-
	Population 31 SR	F ₁		3.6
		BC ₁ F ₁	125	3.0
		BC ₁ F ₁ S ₁	115	2.5
		BC ₁ F ₁ S ₂	87	-
		BC ₂ F ₁	82	

Deux parents donneurs ont été choisis pour chacune des variétés. Il s'agissait du Suwan II SR et la population 31 SR du CIMMYT pour la variété Bafia, Ku 1414 SR de la Thaïlande et 9848 de l'IITA pour la P3 Kollo et Maka SR et CSPSR de l'IITA pour le FBC6.

Les notations moyennes et par génération des familles des 3 variétés retenues pour le transfert de résistance au MSV sont présentées au tableau 33.

Il ressort de ce tableau que les 3/4 des familles retenues pour la formation de BC2 ont des notes comprises entre 2.0 et 3.0. On observe également une amélioration de la résistance des familles retenues d'une génération à l'autre. Cependant les familles retenues au BC2 restent encore très sensibles. Ceci est en partie due au niveau de résistance, assez moyen, des parents donneurs utilisés.

Il est envisagé de diviser chaque variété en deux. Une partie sera de nouveau croisée au nouveaux parents donneurs obtenus du programme du CIRAD-CA de la Réunion, qui présentent une excellente résistance, et l'autre partie servira à poursuivre les transferts de résistance comme prévu.

3324. Evaluation multilocale de variétés résistantes

Des tests multilocaux, dans le cadre du réseau maïs de la CORAF mais aussi avec d'autres partenaires, ont été entrepris dans le but de comparer les variétés résistantes, obtenues par les différentes équipes, vis à vis des différents isolats africains de MSV et cela dans les zones agro-écologiques où elles sont appelées à être diffusées.

Cinq essais ont déjà pu être réalisés ou sont en voie de l'être : Ativémé (INCV/Togo), Yaoundé (IRA/Cameroun), Saint-Pierre (CIRAD/Réunion), Harare (CIMMYT/Zimbabwe) et Greytown (PANNAR/Afrique du Sud) (les résultats de ce dernier ne sont pas encore disponibles). La même échelle de notation de 1 à 9 a pu être utilisée dans chaque site à l'exception du CIMMYT/Zimbabwe qui a utilisé des notes de 1 à 5 que nous avons ensuite converties. La réussite de l'infestation a été excellente au Zimbabwe, au Togo et à la Réunion où les témoins

ESSAI MULTILocal CORAF VARIETES RESISTANTES AU MSV

Tableau 34: classement des variétés pour leur résistance au MSV dans les différents sites

VARIETE	origine	Zimbabwe	Togo	Cameroun	Réunion	rang moyen
IRAT171 RS (CIRAD388)	REU	1	1	1	1	1
Pool 16 RS (CIRAD386)	REU	1	3	1	5	2
SUWAN8331 RS (CIRAD387)	REU	1	4	3	3	3
CN7 RS (CIRAD 385)	REU	5	2	4	2	4
TIEMANTIE RS (CIRAD389)	REU	1	5	5	4	5
Pool16DR(BC2)	TOGO	7	6	7	7	6
VIOLET de Katiola(BC1)	TOGO	11	7	5	10	7
MSR/Pool9A	CIMMYT	6	11	10	6	8
AB21(BC2)	TOGO	9	8	8	11	9
ZL2 BD(BC2)	TOGO	10	10	9	8	10
BLANC 2 PRECOCE(BC1)	TOGO	8	9	12	9	11
BLANC 2 PRECOCE SR	IITA	13	12	11	12	12
MAKA SR	IITA	12	13	13	13	13
Pool16 SR	IITA	14	14	14	14	14
Pool16 (T. sensible)	CIMMYT	15	15	16	15	15
Témoin local sensible	divers	16	16	15	16	16

Tableau 35: notes moyennes (échelle 1 à 9) 28 jours après inoculation

VARIETE	origine	Zimbabwe		Togo		Cameroun	Réunion	
IRAT171 RS (CIRAD388)	REU	1,00	H	1,05	H		1,03	H
Pool 16 RS (CIRAD386)	REU	1,00	H	1,12	H		1,19	H
SUWAN8331 RS (CIRAD387)	REU	1,00	H	1,16	H		1,17	H
CN7 RS (CIRAD 385)	REU	1,17	H	1,09	H		1,05	H
TIEMANTIE RS (CIRAD389)	REU	1,00	H	1,29	H		1,18	H
Pool16DR(BC2)	TOGO	3,33	G	2,13	G		2,49	F
VIOLET de Katiola(BC1)	TOGO	4,83	E	2,21	G		2,77	EF
MSR/Pool9A	CIMMYT	2,83	G	2,55	F		2,18	G
AB21(BC2)	TOGO	4,33	EF	2,26	FG		3,00	E
ZL2 BD(BC2)	TOGO	4,50	EF	3,35	FG		2,69	EF
BLANC 2 PRECOCE(BC1)	TOGO	4,17	F	2,35	FG		2,73	EF
BLANC 2 PRECOCE SR	IITA	6,50	D	3,46	E		4,05	D
MAKA SR	IITA	6,17	D	4,14	D		4,18	CD
Pool16 SR	IITA	7,17	C	4,94	C		4,48	C
Pool16 (T. sensible)	CIMMYT	7,83	B	6,94	B		5,43	B
Témoin local sensible	divers	8,67	A	8,15	A		6,31	A
		test F 219,6		test F 662,0		test F 229,3		
		p < 0,001		p < 0,001		p < 0,001		
		m = 4,09		m = 2,95		m = 2,87		
		CV = 10,6 %		CV = 6,9 %		CV = 9,2 %		

sensibles présentent 100 % de plants virosés 15 jours après inoculation. La comparaison des résultats sur l'ensemble des sites (tableaux 34 et 35) permet de classer les variétés en 3 groupes, en fonction de leur niveau de résistance :

► les cinq variétés sélectionnées à la Réunion se classent au 5 premières places dans tous les sites et sont significativement plus résistantes que toutes les autres dans chaque site, avec la majorité des plants n'exprimant pas de symptômes ;

► viennent ensuite les variétés sélectionnées par l'INCV/Togo avec un niveau de résistance partielle excellent et homogène dans chaque variétés (notes 2 et 3) ; la variété du CIMMYT MSR/Pool 9a montre également un bon niveau de résistance partielle mais très hétérogène avec des notes allant de 1 à 5 ;

► enfin, le matériel de l'IITA présente une résistance significativement inférieure à celle de toutes les autres variétés et tout à fait insuffisante pour leur culture dans les zones fortement infestées.

On peut avancer les raisons suivantes pour expliquer ces différences :

- La source de résistance utilisée par le CIRAD, CVR3-C3, contient un système majeur à forte héritabilité qu'il est possible de fixer et qui confère une immunité apparente aux géotypes qui le possèdent. Ce n'est pas le cas des sources utilisées par l'IITA puisqu'aucune lignée totalement résistante n'a pu être extraite de celles-ci. Les sources utilisées jusqu'à présent par l'INCV/ Togo et le CIMMYT/Harare sont de la même origine et dérivent de sélections réalisées par l'IITA à partir de IB32 et Révolution à la fin des années 70 : il s'agit des populations TZSR-W /-Y et TZESR-W /-Y, mais également de populations du CIMMYT reconverties telles PR 7843SR (Tang et *al.*, 1986; Tang & Bjarnason, 1993).

- Le crible utilisé par le CIRAD repose sur une réussite totale de l'infestation grâce à la sélection d'une population de *C. mbila* présentant un taux de transmission de 100 % (Reynaud, 1988) qui transmet le virus plus rapidement et plus efficacement que les autres espèces, en particulier que l'espèce *C. storeyi* utilisée par l'IITA.

- Le mode de sélection a un rôle déterminant sur le résultat final, selon qu'on retienne les plants indemnes (CIRAD) ou uniquement ceux présentant des symptômes atténués (IITA et CIMMYT). Les raisons avancées par ces deux organismes sont, pour l'IITA, le risque de sélectionner des plants ayant échappés à l'inoculation, donc la reconnaissance implicite d'une mauvaise maîtrise de l'infestation, et pour le CIMMYT, la décision de ne pas retenir les plants les plus résistants (Soto et *al.*, 1982 ; Tang & Bjarnason, 1993). Dans ce dernier cas, ce choix repose sur l'hypothèse qu'il coexisteraient un système de résistance totale monogénique conférant une résistance totale contournable à terme par le virus et un système polygénique de résistance partielle plus sûr d'un point de vue de la durabilité de cette résistance et qu'il convient de sélectionner en priorité.

333. Recherches concernant les résistances au MMV et au MStpV

3332. Sources de résistance et fixation de la résistance

Dans un premier temps, une série de lignées sélectionnées par l'Université d'Hawaï (Hi25 à Hi41) et données pour résistantes au MMV (Brewbaker 1974 ; Brewbaker et *al.*, 1991) ont été criblées à la Réunion sous infestations artificielles. Deux d'entre elles se sont révélées totalement résistantes au virus, Hi31 et Hi40, qui dérivent toutes deux de matériel SSS (B14) croisé avec une source de résistance au virus originaire des Caraïbes. Ces deux lignées ont été retenues pour mener les études du déterminisme génétique de la résistance. Parallèlement, nous avons entrepris la sélection et la fixation dans des lignées pures de la résistance présente dans CVR3-C3. Ce travail d'extraction est mené en réalisant des infestations massives en cages, de façon à surmonter la résistance à l'insecte, qui semble présente dans cette source, et donc être capable de cribler pour la résistance au virus sensu stricto. Les premiers résultats obtenus sur des lignées S1 indiquent la difficulté de repérer des lignées totalement indemnes, cela en raison probablement d'une fréquence faible du gène de résistance au virus dans CVR3-C3, qui n'a pas pu être préalablement amélioré efficacement pour ce caractère.

Tableau 36: RESISTANCE AU MMV : criblages préliminaires des génération produites en vue de l'analyse génétique - hypothèse d'un gène récessif

Pourcentages de plants virosés des différentes générations des croisements (Hi40 x B73) et (Hi31 x B73)
(infestation en cage et criblage des plants repiqués)

génération	or. gén.	%PV 14j	%PV 21j	%PV 28j	%PV 35j	%PV 42j	x / n 42j	% théor.	KHI-2 (1)	proba	U obs (2)	proba
Hi40	Antigua Grp. 2 x B14A	1,7	4,3	6	6	6	7 / 117	0	0,361	0,01*		
Hi31	B68	2,6	3,1	5,9	5,1	5,1	16 / 316	0	0,76	0,0032**		
B73	Iowa SSS	96,4	98,1	98,1	100	100	110 / 110	100	0,002	0,01*		
F1(Hi40 x B73)		48,1	81,7	86,7	91,2	93	238 / 256	100	1,196	0,0032**		
F1(Hi31 x B73)		63,2	81,6	87,9	91,6	92,1	164 / 178	100	1,024	0,0032**		
F2(Hi40 x B73)		64,6	76,8	78,8	76,9	77,5	532 / 686	75	2,247	0,0015**	1,54	0,06
F2(Hi31 x B73)		63,6	-	68,7	-	71,9	23 / 32	75	0,042	0,01*	-0,408	0,34
BCPS(Hi40 x B73)		86,7	93,5	94,2	96,4	96,4	216 / 224	100	0,251	0,01*		
BCPR(Hi40 x B73)		-	30	-	46,8	48,4	30 / 62	50	0,016	0,01*	-0,255	0,4
BCPR(Hi31 x B73)		-	36	-	40	44	11 / 25	50	0,16	0,01*	-0,6	0,27
T. sensible		100	100	100	100	100						

(1) Test KHI-2 d'ajustement

(2) Test de conformité de la proportion estimée par la méthode de l'erreur standart (u suit une loi normale centrée réduite pour valeurs de x et n-x supérieures à 5)

* p < 0,05 x effectif observé de plants virosés
 ** p < 0,01 n taille de l'échantillon
 *** p < 0,001

La sélection et la fixation de la résistance au **MStpV** dans des lignées pures originaires de la variété Révolution est opérationnelle depuis peu grâce à la maîtrise récente des infestations artificielles massives en cages pour ce virus. Une trentaine de lignées S5 à S9 sont actuellement criblées. Trois d'entre elles révèlent déjà un pourcentage élevé de plants indemnes (> 80 %) et nous espérons fixer cette résistance à la prochaine génération.

3332. Déterminisme génétique de la résistance au MMV

Un plan de croisement a pu être réalisé entre Hi40 et le parent sensible B73. Lors des tests préliminaires de mise au point de la méthode d'infestation massive en cages, les générations produites ont déjà pu être testées. Les premiers résultats obtenus indiquent un contrôle monogénique récessif de la résistance (Tableau 36). Ces observations vont à l'encontre des résultats obtenus par d'autres auteurs sur le contrôle génétique de la résistance au MMV (Brewbaker & Aquilizan, 1965) et doivent être confirmées par l'analyse génétique complète.

Pour ce qui est de la sévérité des symptômes, on observe sur génotype homozygote sensible que les plants malades atteignent vite la note maximale (feuilles entièrement striées). La vitesse d'évolution des symptômes est rapide dans le cas d'une lignée, aboutissant assez vite à la mort des plants, alors que dans le cas d'un hybride ceux-ci peuvent survivre. Dans le cas de la F1 de l'hybride résistant x sensible, si tous les plants sont également atteints, on observe une apparition beaucoup plus tardive et une évolution lente des symptômes, ces derniers pouvant se stabiliser à des notes intermédiaires, voir faibles, n'affectant parfois que les feuilles au-dessus de l'épi. Dans le cas de la lignée résistante, on constate une immunité totale apparente (aucun symptôme visible). A première vue, ces observations plaident donc en faveur d'une dominance négative partielle de la résistance. Celle-ci correspondrait plutôt, d'après la typologie avancée par certains auteurs, à un modèle d'interactions plante/virus de type négatif et faisant intervenir des mécanismes de résistance dits constitutifs qui pourrait empêcher toute multiplication virale.

4 - CONCLUSION

Les recherches prévues dans ce projet ont pu dans l'ensemble être menées à bien et les principaux objectifs ont été atteints. De nombreux résultats scientifiques ont été obtenus sur les trois protagonistes des épidémies virales, les virus, les vecteurs et la plante et, plus important encore, sur les interactions entre ces protagonistes.

Le caractère multidisciplinaire du projet, qui associait virologues, entomologistes et généticiens-sélectionneurs, est pour beaucoup dans la qualité de nos résultats, et a été très enrichissant pour tous les partenaires.

En terme de méthodes

- un kit de diagnostic des trois viroses étudiées (MSV, MMV et MStpV) a été mis au point et est utilisable sans équipements lourds de laboratoire .
- la technique d'électropénétrographie a été améliorée, l'interprétation des signaux affinée par différentes techniques d'analyse, la chaîne de mesures est en cours d'automatisation pour augmenter les capacités de tests.
- l'élevage de masse de *Peregrinus maidis* est maintenant au point pour les travaux sur MMV et MStpV.
- la technique d'infestation artificielle en cage suivie du repiquage des plants infestés au champ a fait la preuve de son efficacité.
- enfin, l'échelle d'évaluation des symptômes, reposant sur une progression arithmétique de la surface foliaire chlorosée, calibrée par analyse d'image, permet des notations symptomatologiques standardisées.

En terme de connaissances scientifiques, les résultats sont nombreux et concernent :

les virus

L'inventaire des viroses du maïs en Afrique de l'Ouest et du Centre a révélé la présence, outre le MSV connu depuis longtemps, du MMV, du MStpV et du MDMV. Cette présence, probable car leurs vecteurs avaient déjà été identifiés, n'avait pas encore été prouvée dans ces pays. Ces virus infestent le maïs mais aussi d'autres céréales comme le sorgho, le mil et le fonio.

Nos résultats viennent confirmer et compléter la classification des viroses à stries des monocotylédones. Les isolats provenant de maïs sont presque toujours similaires du point de vue de leurs séquences avec les isolats de MSV décrits. Par contre, certains geminivirus provenant d'autres graminées sont suffisamment différents pour les considérer comme des virus distincts. Un geminivirus du mil a été caractérisé. Il se distingue nettement du MSV et est considéré actuellement comme une souche du sugarcane streak virus, le SSV-M. Ces conclusions ont des implications sur l'épidémiologie du MSV, notamment en ce qui concerne les plantes réservoirs qui hébergent le virus entre les cultures de maïs, et les plantes hôtes des vecteurs.

Une forte similitude existe, au sein des isolats de MSV, sur tout le continent africain. Par contre, les MSV de La Réunion et de Maurice se distinguent nettement du groupe africain.

Une variabilité importante a été mise en évidence à l'intérieur de souches de MSV provenant d'une même région (cas du Burkina), mais aussi à l'intérieur d'un isolat provenant d'une seule plante (cas de La Réunion). Cette variabilité a pu être caractérisée aux plans moléculaire et biologique.

Le gène de la protéine de capsid du MSV montre une remarquable stabilité, que l'on peut sans doute expliquer par la polyvalence de fonction de cette protéine et notamment par son rôle dans la reconnaissance du virus par l'insecte.

L'agressivité d'une souche de MSV peut être renforcée en maintenant cette souche sur un maïs présentant une forte résistance. Elle diminue dès que la pression de sélection exercée par la résistance de la plante sur le virus diminue. La base génétique de cette agressivité n'est pas encore clairement établie.

La résistance du maïs au MSV ne semble pas être due à un frein à la diffusion du virus dans les différents organes de la plante, mais se manifeste plutôt par une densité moindre de virions dans une variété résistante. Cette moindre densité pourrait être due à une résistance à la multiplication du virus.

Malgré cette diversité, les résistances au MSV disponibles actuellement se sont révélées remarquablement stables dans les différents pays d'Afrique où elles ont déjà été testées.

l'épidémiologie et les vecteurs

L'incidence des maladies a été étudiée. Même en dehors des épidémies fortes comme celle de MSV en 1983-1984, le pourcentage de plants infestés est préoccupant. C'est le MSV qui a l'incidence la plus forte, avec une moyenne de 20 à 30 % de plants atteints, ce qui représente des pertes déjà lourdes. Ce pourcentage est très variable selon les pays, les régions d'un pays ou même entre champs d'un même village (des incidences atteignant presque 100 % ont pu être relevées au Cameroun). Les incidences des autres viroses sont restées inférieures à 2 % sur le maïs. Elles n'en constituent pas moins une menace potentielle pour le maïs et d'autres cultures.

La gamme d'hôtes réservoirs du MSV déterminée au Burkina comprend actuellement 43 espèces, dont 28 n'avaient jamais été rapportées. Une grande proportion de ces plantes abritent le variant SK_F responsable des épidémies de striure. Leur rôle dans le déclenchement de la maladie semble être mineur car ce variant n'a été identifié chez des hôtes réservoirs qu'en saison humide. Par contre ils ont un rôle important de source relais pour la propagation du virus après le déclenchement de l'épidémie.

L'influence des facteurs climatiques sur les épidémies de striure a été précisée au Burkina et à La Réunion. Ces recherches ouvrent la voie à l'établissement d'un modèle général qui devrait, à terme, permettre une certaine prévisions des épidémies de striure.

Les travaux sur la bioécologie des *Cicadulina* spp vecteurs du MSV ont permis d'inventorier au Burkina, par la dissection de près de 18000 insectes, quatre espèces de *Cicadulina*. Le vecteur est présent dans toutes les zones écologiques du pays mais la population des différentes espèces varie suivant la zone écologique.

En zone sahélienne, *C. triangula* (= *C. storeyi*) est l'espèce dominante tandis qu'en zone soudanienne méridionale c'est *C. similis* qui prédomine. Les fluctuations de la population constatées d'une année à une autre traduisent les variations de répartition de la pluie mais également de la présence d'ennemis naturels

Le suivi des activités de vol des populations de cicadelles a montré que l'arrivée des premières cicadelles migrantes se faisait à partir de l'installation du régime des moussons et est à l'origine des épidémies de striure. Le pic de vol des cicadelles est lié aux fluctuations pluviométriques.

Les prospections en saison sèche ont montré l'existence d'une population résiduelle composée principalement de *C. triangula* qui se réfugie dans les plaines aménagées mais également aux abords de certaines retenues d'eau en zone soudanienne méridionale.

Les résultats acquis ont également permis de comprendre le comportement du vecteur en milieu réel, ce qui permet l'ébauche de méthodes de lutte simples à la portée du paysan comme le choix de dates de semis convenables.

Enfin, la découverte de deux parasitoïdes des cicadelles tels *Anteon traorei*, identifié pour la première fois au Burkina et dont la distribution montre qu'il est davantage présent en zone soudanienne centre nord, et *Gonatopus incognitus* apporte des éléments nouveaux sur la bioécologie du vecteur qu'il convient de prendre en compte pour l'épidémiologie du MSV.

Ces résultats permettent de mieux comprendre l'épidémiologie de la striure. Les épidémies sont déclenchées par l'arrivée de populations migrantes venant du sud en début de saison des pluies. Ces populations ont conservé, dans les régions où elles se maintiennent, le variant SK_F, agressif sur maïs, et le répandent à la fois dans les cultures de maïs et dans les nombreuses plantes hôtes réservoirs. En fin de saison des pluies, ces populations redescendent au sud. Une population résiduelle, composée quasi-uniquement de *C. triangula*, subsiste là où des plantes vivantes le permettent (zones irriguées, points d'eau). Mais elle n'abrite pas, pas plus que les plantes réservoirs encore présentes, le variant SK_F. Elle ne peut donc, seule, être responsable du déclenchement des épidémies. Cette population peut cependant directement déterminer l'importance des épidémies car elle peut, dès l'arrivée des premiers migrants, acquérir et répandre le virus.

Les capacités de transmission des différentes espèces ont été déterminées. *C. mbila* est de loin l'espèce qui transmet le mieux, quelque soit l'origine géographique des vecteurs. *C. similis* et *C. triangula* transmettent bien, alors que *C. arachidis* transmet peu au Burkina. L'injection de virus dans l'insecte augmente la capacité de transmission ce qui montre que, pour certaines espèces, il existe une barrière à l'acquisition du virus.

Le comportement alimentaire de *Peregrinus maidis* et de *C. mbila* a été longuement étudié par électropénétrographie. Les différents signaux électriques observés ont été décrits et caractérisés par analyses temporelles, spectrales, statistiques et en temps fréquence, puis corrélés à une localisation cellulaire de l'extrémité des stylets par microscopie électronique. Ces travaux nous permettent de proposer une première typologie des signaux de *C. mbila* et *P. maidis* qui demande encore à être précisée. Avec au moins 5 classes de signaux, celle-ci est très proche de celle établie pour les pucerons. Elle est à ce jour la plus complète pour les auchenorynches. Elle permet en outre la différenciation des signaux d'ingestion et de salivation dans le phloème qui est primordiale pour étudier les mécanismes de transmission, en particulier pour la résistance variétale. Les traitements numériques du signal par FFT et analyses temps fréquences montrent que l'on dispose de suffisamment de variables quantitatives pour caractériser les classes de signaux. La reconnaissance automatique des signaux est donc réalisable à court terme. Celle-ci va permettre de tester suffisamment de plants de maïs pour sélectionner la résistance à la transmission qui pourrait être utilisable à court terme, et est efficace contre plusieurs virus.

Enfin les homologues observées entre nos résultats et ceux déjà obtenues en EPG et même en AC montrent que ce programme de reconnaissance automatique pourrait être appliqué à d'autres modèles.

L'étude de la répartition, en temps, de l'activité alimentaire de *C. mbila* sur différentes graminées et différentes variétés de maïs, sains ou infestés par le MSV, d'âge différents, ouvre des perspectives intéressantes : les cicadelles s'alimentent de préférence dans le mésophylle des plants infestés ce qui leur permet d'acquérir le virus, les piqûres fréquentes dans le phloème assurant sa dispersion.

la plante et les résistances

résistance au MSV

La validité de l'échelle de notation symptomatologique a été démontrée car la note symptomatologique est fortement corrélée à la concentration en antigènes viraux, à la surface chlorotique de la feuille et à la diminution de la teneur de la feuille en chlorophylle.

La résistance présente dans les écotypes de La Réunion a pu être sélectionnée et concentrée dans une variété servant à la fois de source d'extraction de lignées et de donneur de résistance pour le transfert dans des cultivars sensibles. Des lignées homozygotes et des variétés présentant une immunité apparente ont déjà pu être sélectionnées. Les lignées obtenues, outre leur intérêt pour les études de virologie, constituent une gamme intéressante de donneurs pour les transferts de résistance dans des variétés à pollinisation ouverte et des géniteurs d'hybrides.

Une de ces lignées a servi de parent résistant pour l'étude du déterminisme génétique de la résistance totale au MSV. Cette résistance présente une dominance partielle positive et serait contrôlée par 2 à 3 gènes au moins. La part importante que représente la variance d'additivité et les valeurs d'héritabilité élevées indiquent la possibilité de sélectionner et de transférer ce caractère avec une bonne efficacité. La cartographie de ces gènes par la méthode des RFLP est actuellement en cours de façon à confirmer et préciser en biologie moléculaire les données obtenues par l'analyse génétique classique.

Le transfert de cette résistance a eu lieu dans une large gamme de variétés traditionnelles africaines déjà vulgarisées ou proches de ce stade. Elle complète la gamme variétale proposée par le CIMMYT et l'IITA. Nos résistances s'avèrent d'un niveau de résistance nettement supérieur à celui des variétés créées par d'autres organismes ces dernières ne pouvant être cultivées dans les zones fortement infestées.

De plus, ces résistances sont stables dans les différents pays d'Afrique de l'Ouest (Togo), du Centre (Cameroun) et de l'Est (Zimbabwe) et de l'Océan Indien (La Réunion) où elle ont été testées. Ce résultat est particulièrement intéressant face à l'importante variabilité du MSV telle qu'elle a été mise en évidence au cours de ce projet, car il montre que les variétés créées peuvent être largement diffusées.

résistance au MMV

Une résistance à la transmission de ce virus de l'insecte à la plante a été mise en évidence dans le matériel végétal réunionnais. Cette résistance, surmontable si le nombre de vecteurs par plant augmente, est distincte de la résistance au virus *sensus stricto*. Elle a été fixée dans quelques lignées homozygotes et l'analyse de son déterminisme génétique est engagée. Cette résistance de la plante vis à vis de l'insecte se traduit par un temps d'alimentation dans le phloème plus court que sur une variété sensible, ce qui entraîne une probabilité plus faible de transmettre le virus.

Une résistance au virus existe également et a été fixée. L'étude de son déterminisme génétique est en cours. Il n'y aurait très probablement qu'un seul gène, récessif, en jeu. La cartographie de ce gène est engagée.

résistance au MStpV

La maîtrise récente des élevages pour les infestations artificielles de MStpV permettra à court terme de fixer puis d'étudier la résistance à ce virus.

Les liens créés entre les partenaires à l'occasion de ce projet ont permis à tous des échanges mutuels enrichissants. C'est ainsi que les méthodes d'élevage, de transfert et de notations symptomatologiques mises au point à La Réunion ont été utilisées au Togo, au Cameroun et au Burkina. La technique d'infestation artificielle en cage suivie de repiquage du Togo a été adoptée à La Réunion.

Ils ont aussi permis des recherches qu'il eut été impossible de mener sans cela. Par exemple :

les variants du MSV au Burkina ont été étudiés en utilisant des anticorps monoclonaux produits au CIRAD, et des anticorps polyclonaux de même origine ont permis l'étude de la dispersion géographique du MMV et du MStpV.

les comparaisons d'isolats de MSV quant à leur agressivité se sont faites en Angleterre, en collaboration avec le CIRAD, ce laboratoire étant équipé pour introduire et étudier souches de virus et insectes, avec des isolats africains et réunionnais, sur une gamme de variétés de sensibilité différentes au virus créées à La Réunion.

l'essai multilocal des variétés résistantes qui a montré la stabilité de nos résistances a pu être implanté dans les pays des partenaires du sud.

Certains résultats peuvent avoir dès maintenant des répercussions positives **en terme de développement.**

En premier lieu, les connaissances acquises en épidémiologie permettent de préconiser certaines techniques de lutte, comme le semis précoce, mais surtout de prévoir, à partir de données climatiques obtenues en début d'année, l'importance des épidémies de striure à venir. Ce résultat remarquable, est, pour le moment, applicable seulement au Burkina. Il conviendrait donc de valider un modèle plus général, applicable à l'ensemble du continent, en intégrant les résultats acquis non seulement au cours de ce projet au Burkina et à la Réunion, mais aussi ceux obtenus par d'autres organismes en particulier au Nigéria et au Zimbabwe.

Le kit de diagnostic mis au point peut être facilement utilisé sur le terrain par toute personne qui souhaite préciser un diagnostic. Il peut largement contribuer à la connaissance de la répartition des virus, et à leur identification précise au cours d'une épidémie.

Enfin, les variétés ayant reçu la résistance au MSV pourront remplacer les formes sensibles déjà vulgarisées sans perturber les habitudes des agriculteurs, en particulier de ceux pratiquant une agriculture peu intensive. Elles contribueront donc à la sécurisation de la production du maïs en zone tropicale.

D'autres résultats demandent encore des recherches pour être utilisables par le développement. C'est le cas, par exemple, de l'utilisation de la résistance à la transmission du MMV (mais également du MSV et du MStpV) de l'insecte à la plante, ou de la mise au point de transferts de résistances à plusieurs virus dans un même cultivar.

L'expérience acquise au cours de ce projet permettra à chaque partenaire d'être mieux armé pour poursuivre ses recherches et peut avoir valeur d'exemple pour des recherches sur d'autres viroses tropicales. Plus important encore, la qualité des collaborations créées au cours du projet fait que tous les partenaires souhaitent poursuivre ensemble ces recherches.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ASANZI M.C. 1991. Etudes sur l'épidémiologie du virus de la striure du maïs et ses vecteurs du type *Cicadulina* au Nigeria In: Recherches à l'IITA n°4 Mars 1992.

BARROW M. R., 1992. Development of maize hybrids resistant to maize streak virus. *Crop Protection*, 11, 262-271.

BJARNASSON M., 1984. Approches used in breeding for streak resistance. In : U. S. Universities/CIMMYT Maize Conference, August 8-15, CIMMYT, MEXICO.

BOULTON M. I., KING D. I., MARKHAM P., PINNER M. S., DAVIES J. W., 1991. Host range and symptoms are determined by specific domains of the maize streak virus genome. *Virology*, 181, 312-318.

BREWBAKER J. L., AQUILIZAN F., 1965. Genetics of resistance in maize to a mosaic-stripe virus transmitted by *Peregrinus maidis*. *Crop Science*, 5, 412-415.

BREWBAKER J. L., 1974. Continuous genetic conversions and breeding of corn in a neutral environment. Twenty-ninth annual Corn and Sorghum Research Conference, Chicago, USA, december 10-12, 1974, 29, 118-133.

BREWBAKER J. L., KIM S. K., LOGRONO M. L., 1991. Resistance of tropical maize inbreds to major virus and virus-like diseases. *Maydica*, 5, 412-415.

BRIDDON R. W., LUNNESS P. A., CHAMBERLIN L. C. L., PINNER M. S., BRUNDISH H., MARKHAM P. G., 1992. The nucleotide sequence of an infectious insect-transmissible clone of *Panicum* streak virus. *Journal of General Virology*, 73, 1041-1047.

BRIGGS F. N., ALLARD R.W., 1953. The current status of the backcross method of plant breeding. *Agron. Journ.* 45 : 131-138.

CALATAYUDP. A., 1993. Etude des relations nutritionnelles de la cochenille du manioc avec sa plante hôte. Thèse de Docteur en Sciences. INSA, Lyon, 89 p.

CHANDHRA G., 1980. Dryinid parasitoids of rice Leafhoppers and planthoppers in the Philippines. I - Taxonomy and bionomics. *Acta Oecologia. Oecol. Applic.* Vol. 1 n° 2, p. 161-172.

DABROWSKI Z.T., 1983. Identifying and collecting *Cicadulina* for maize streak resistance screening. *IITA Research Briefs* 4(4) : 2-3.

DABROWSKI Z.T., 1987. Comparative studies of *Cicadulina* leafhoppers and planthoppers in west africa. In: proceeding of international workshop on leafhoppers and planthoppers of economic importance . Brigham young university, provo, utah, U.S.A., 28th July- 1st August 1986. Wilson M.R. and Nault L.R edit. pp 35- 39. London, UK, CAB international institute of entomology.

DABROWSKI Z.T., NWILENE F., KUMAR R. 1991. First regular observations on leafhoppers, *Cicadulina spp.*, vectors of maize streak virus (MSV) in southeastern Nigeria Insect Sci. Applic. Vol.12 n°1/2/3 pp 249-261

DEKKER E. L., PINNER M. S., MARKHAM P. G., VAN REGENMORTELM. H. V., 1989. Characterisation of maize streak virus isolates from different plant species by polyclonal and monoclonal antibodies. Journal of General Virology, 69, 983-990.

EKUKOLE G., AJAYI O. 1989. Survey of *Cicadulina* species in the Zaria area of Northern Nigeria. Samaru J. Agri. Res., 6: 95.

FALCONER D. S., 1974. Introduction à la génétique quantitative Masson et Cie, Paris, 284 p.

GOMEZ A.L., 1986. Rapport annuel projet lutte intégrée contre les ravageurs des culture vivrières. USAID / FAO / CILSS , composante du Burkina Faso.

GRAHAM C.L., 1979. Inability of certain vectors in North America to transmit maize streak. *Environ. Entomol.* , 8, 228- 230.

GUTHRIE E. J., 1976. Virus diseases of maize in East Africa. In : Proc. Int. Maize virus Disease Coll and Workshop. Eds L. E. William, DT Gordon and L. R. Nault : 62-68.

HAINZELIN E., MARCHAND J. L., 1986. Registration of IRAT 297 maize germplasm. Crop Science, 26, 839-840.

IITA, 1981. Cereal improvement program. Annual Report for 1980, 85-90.

KIM S. K., EFRON Y., FAJEMISIN J. M., BUDDENHAGEN I. W., 1989. Mode of gene action for resistance in maize to the maize streak virus. Crop Science, 29, 890-894.

KIMMINS F. M., 1989. Electrical Penetration Graphs from *Nilaparvata lugens* on Resistant and Susceptible Rice Varieties. Entomologia Experimentalis et Applicata, 50 : 69-79.

KONATE G., TRAORE O., 1992. Les hôtes réservoirs du virus de la striure du maïs (MSV) en zone soudano-sahélienne : identification et distribution spatio-temporelle. Phytoprotection, 73 : 111-117.

MACKINNEY G., 1941. Absorption of light chlorophyll solutions. J. Biol. Chem., 140, 315-322.

MATHER K., JINKS J. L., 1982. Biometrical genetics. Chapman & Hall, 3rd edition, 382 p.

- MCLEAN D. L., KINSEY M. G., 1964.** A technique for electrically recording of aphid feeding and salivation. *Nature*, 202, 1358-1359.
- MCLEAN D. L., KINSEY M. G., 1967.** Probing behavior of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. I. Definitive correlation of electronically recorded waveforms with probing activities. *Ann Entomol. Soc. Amer.*, 60, 400-406.
- MESFINT., HOLLANDER D.J., MARKHAM P.G., 1991.** *Cicadulina* species and maize streak virus in Ethiopia. *Tropical pest management*, 37(3) 240-244.
- MULLINEAUX P. M., DONSON J., MORRIS-KRSINICH B. A. M., BOULTON M. I., DAVIES J. W., 1984.** The nucleotide sequence of maize streak virus DNA. *EMBO Journal* 3, 3063-3068.
- NORRANDER J., KEMPE T., MESSING J., 1983.** *Gene*, 26., 01-106.
- OKOTH V.A.O., DABROWSKI Z.T., EFFRON, Y., 1985.** *Cicadulina* species, comparative biology and virus transmission . IITA Annual Report for 1984 , 44- 46 , Ibadan , Nigeria.
- OKOTH V.A.O., 1985.** Some characteristics of *Cicadulina spp.* populations associated with maize and streak virus in Nigeria. *PhD Thesis, University of Reading*, 132 p.
- OLMI M., 1994.** Taxonomic studies on the *Dryinidae* of Mozambique (Hymenoptera Chrysidoidea). *Oriental insects*, Vol. 28 : 67-80.
- PETERSCHMITT M., REYNAUD B., SOMMERMEYER G., BAUDIN P., 1991.** Characterization of Maize Streak Virus Isolates Using Monoclonal and Polyclonal antibodies and by Transmission to a Few Hosts. *Plant Disease*, 75, 27-32.
- PETERSCHMITT M., QUIOT J. B., REYNAUD B., BAUDIN P., 1992.** Detection of maize streak virus antigens over time in different parts of maize plants of a sensitive and a so called tolerant cultivar by Elisa. *Annals of Applied Biology*, 121 : 641-653.
- PINNER M. S., MARKHAM P. G., MARKHAM R. H., DEKKER E. L., 1988.** Characterisation of maize streak virus. Description of strains ; symptoms. *Plant Pathology*, 37, 74-87.
- PRADO E., TJALLINGII W. F., 1994.** Aphid activities during sieve element punctures. *Entomol. Exp. Appl.*, 72, 157-165.
- REYNAUD B., 1988.** Transmission des virus de la striure et de la mosaïque du maïs par leurs vecteurs *Cicadulina mbila* (NAUDE, 1924) et *Peregrinus maidis* (ASHMEAD, 1890) (homoptera). Approches biologique, génétique et épidémiologique de la relation vecteur-virus-plante. Thèse de Docteur en Sciences. USTL Montpellier, 173 p.
- ROSE D. J. W., 1978.,** Epidemiology of maize streak disease. *Ann. review of entomology* 23:259-282.

ROSE D. J. W., 1983. The distribution of various species of *Cicadulina* in different african countries, frequency of their attack and impact on crop production, p. 297-303. In W. J. KNIGHT, N. L. PANT, T. S. ROBERTSON, M. R. WILSON. Proc. Int. Workshop on Biotaxonomy, Classification and Biol. of Leafhoppers and Planthoppers (*Auchenorrhyncha*) of Economic Importance, London, October 4-7, 1982.

ROSE D. J. W., 1987. The effect of dispersal behaviour of *Cicadulina* species on the epidemiology of maize streak virus. pp 87-88 in séminaire sur les maladies et les ravageurs des cultures vivrières d'Afrique centrale. Bujumbura 16-20/02/1989.

SAIKI R. K. et al., 1988. Science 239, 487-491.

SCHAEFFERS G. A., 1966. The use of direct current for electronically recording of aphid feeding and salivation. Ann. Ent. Soc. Amer., 59, 1022-1029.

SERE Y., 1990. La striure et les autres maladies du maïs au Burkina Faso. In : Lutte intégrée contre les ennemis des cultures vivrières dans le Sahel. Bamako, Mali 4-9 Janvier 1990. Institut du Sahel. 276-284.

SHUCKLE R. H., LAMPE D. J., LISTER R., FOSTER J. E., 1987. Aphid feeding behavior: relationship to Barley Yellow Dwarf Virus resistance in Agropyron species. Phytopathology, 77, 725-729.

SIVAKUMAR M. V. K., GNOUMOU F., 1987. Agroclimatologie de l'Afrique de l'Ouest : le Burkina Faso. ICRISAT Bulletin d'Information, n° 23. 61 pp. Southeastern Nigeria. Insect Sci. Appli. Vol. 12, n° 1/2/3, pp 249-261.

SOTO P. E., BUDDENHAGEN I. W., ASNANI V. L., 1982. Development of streak -resistant maize populations through improved challenge and selection methods. Ann. Appl. Biol., 100, 539-546.

SPILLER N. J., 1990. An ultrasructural study of the stylet pathway of the brown planthopper *Nilaparvata lugen*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 54 : 191-193.

SPILLER N. J., KOENDERS L., TJALLINGII W. F., 1990. Xylem ingestion by Aphids. A Strategy for Maintaining Water Balance. Entomologia Experimentalis et Applicata, 55 : 101-104.

STOREY H. H., 1932. The inheritance by an insect vector of the ability to transmit a plant virus. Proc. R. Soc., 112, 46-60.

STOREY H. H., HOWLAND A. K., 1967a. Inheritance of resistance in maize to the virus of streak disease in East Africa. Ann. Appl. Biol., 59, 3, 429-436.

SUNTER G., COUTTS R. H. A., BUCK K. W., 1984. Negatively supercoiled DNA from plants infected with a single-stranded DNA virus. Biochemical and Biophysical Research Communications 118 : 747-752.

TANG C. Y., BJARNASON M., DABROWSKI Z., FAJEMISIN J., MARECK J., EFRON Y., 1986. Recent progress on maize streak virus resistance conversion. Nation wide Conference on maize held at the University of Ife, Ife-Ife, Nigéria, march 17-21, 1986.

TANG C. Y., BJARNASON M., 1993. Two approaches for the development of maize germplasm resistant to maize streak virus. *Maydica*, 38, 301-307.

TJALLINGII W. F., 1978. Electronic Recording of Penetration Behaviour by Aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 24 : 521-530.

TJALLINGII W. F., 1985. Electrical Nature of Recorded Signals During Stylet by Aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 38 : 177-186.

TJALLINGII W. F., 1988. Electrical Recording of Stylet Penetration Activities. Elsevier Science : 95-108.

TJALLINGII W. F., 1990. Continuous recording of stylet penetration by aphids. Aphid-Plant genotype Interactions (ed. by R. K. Campbell and R. D. Eikenbary), pp 89-99. Elsevier, Amsterdam.

TRAORÉ, S., 1990. Etude de quelques éléments de la biologie de *Cicadulina spp* au Burkina Faso. In : Lutte intégrée contre les ennemis des cultures vivrières dans le Sahel. Bamako, Mali. 4-9 Janvier 1990. Institut du Sahel . 264-275.

VAN RENSBURG G.D.J., GILIOMÉE J.M., 1990. A comparaison of females and males of *Cicadulina anetae* and *Cicadulina mbila* (Homoptera : Cicadellidea) as vectors of maize streak virus. *Phytophylactica*, 22, 241-243.

WALOFF N., 1973. Dispersal by flight of leafhoppers (Auchenorrhyncha : Homoptera), *J. App. Ecol.*, 10, 705-730.

WEBB M.D., 1987. Species recognition in *Cicadulina* leafhoppers (Hemiptera :Cicadellidae), vectors of pathogens of gramineae. *Bull. Ent. Res.*, 77,683-712.

WILLIAMS W. P., DAVIES F. M., 1984. Registration of Mp705, Mp706 and Mp707 germplasm lines of maize. *Crop. Sci.*, 24, 1217.

ZEIGLER R. S., MANIRAKIZA A., 1986. Tolerance to maize streak virus in local Burundi highland maize. *Tropicultura*, 4, 138-142.

PUBLICATIONS FAITES A L'OCCASION DU PROJET

BIGARRE L. (1994). Localisation *in situ* du maize streak virus dans un hybride sensible de maïs et une lignée résistante. DEA, Université Paris XI, 32 p.

BIGARRE L., GRANIER M., REYNAUD B., NICOLE M., PETERSCHMITT M. (1995). Localisation *in situ* du maize streak virus dans un maïs hybride sensible et une lignée résistante. *Agronomie*, 15, 506.

BRIDDON R. W., LUNNESS P., CHAMBERLIN L. C. L., MARKHAM P. (1994). Analysis of the genetic variability of maize streak virus. *Virus Genes* 9, 93-100.

BRIDDON R. W. et al. (1996). A streak disease of pearl millet caused by a leafhopper-transmitted geminivirus. *Europ. J. Pl. Pathology*, in press.

BONFILS, QUILICI, REYNAUD B., 1994. Les Hémiptères Auchénorhynques de l'île de La Réunion. *Bulletin de la Société Entomologique de France*, 99 (3) : 227-240.

BUDUCA C. (1995). Etude du comportement alimentaire de *Peregrinus maidis* (Ashmead, 1890) par électropénétrographie, en relation avec la résistance à la mosaïque du maïs. Thèse de Docteur en Sciences, USTL, Montpellier, 77 p.

BUDUCA C., REYNAUD B., LAN SUN LUCK D., MOLINARO F., 1996. Electrical Penetration Graphs from *Peregrinus maidis* (Ashmead) (Homoptera : Delphacidae) on a susceptible maize hybrid. *Entomol. Exp. Appl.*, 79, 131-139.

CLERGET B., DINTINGER J., REYNAUD B. (1996). Registration of maize inbred CIRAD 390 parental ligne. *Crop Science*, in press.

HOARAU C. (1996) : Reconnaissance automatique du signal EPG émis par un insecte piqueur. Maîtrise de Physique et applications, Université de La Réunion, 12 p.

KONATE G., TRAORE O. (1994). Variabilité du virus de la striure de maïs (MSV) en zone soudano-sahélienne. *Phytoprotection*, 75, 91-99

LEFRERE P. (1993). Importance des conditions d'inoculation du maize streak virus par *Cicadulina* pour l'évaluation de la résistance du maïs à la striure. Mémoire de DAA, 42p.

LETT J.M. (1996). Caractérisation du comportement alimentaire de *C. mbila* (NAUDE, 1924) (Hemiptera : Cicadellidae) sur maïs (*Zea mays* ssp. *mays*) par électropénétrographie corrélée à la localisation cellulaire des stylets. Maîtrise de Biologie des populations et des écosystèmes, Université de Montpellier II, 13p.

MARA Y. (1995). Identification des signaux émis par *Cicadulina mbila*. Maîtrise de Physique et applications, Université de La Réunion, 22p.

MARCHAND J. L., PETERSCHMITT M., REYNAUD B., DINTINGER J., Maize streak, maize stripe and maize mosaic virus in the tropics (Africa and Island in the Indian Ocean). Agriculture et Développement, 1995 Highlights, 55-69.

PETERSCHMITT M., GRANIER M., FRUTOS R., ISNARD M., REYNAUD B. (1995). Séquence du génome d'un clone infectieux de maize streak virus de la Réunion génétiquement distinct des isolats africains. Agronomie 15, 497.

PETERSCHMITT M., GRANIER M., REYNAUD B., FRUTOS R. (1996). Infectivity and complete nucleotide sequence of the genome of a genetically distinct strain of maize streak virus from Reunion Island. Archives of Virology (in press)

POMES J. (1994). Rôle du niveau d'infestation par *C. mbila* (NAUDE) et des méthodes d'évaluation des symptômes pour la sélection de la résistance au maize streak virus. Mémoire de fin d'études, ISTOM, 55p.

REYNAUD B., BUDUCA C., LEFRERE P. Analyse, par électropénéthrographie, du comportement alimentaire de *Peregrinus mbila*, vecteurs de viroses tropicales du maïs.

RODIER A. (1995). Déterminisme génétique de la résistance du maïs (*Zea mays* L.) au maize streak virus (MSV). Thèse de Docteur en Sciences, ENSA de Rennes, 172 p.

RODIER A., ASSIE J., MARCHAND J. L., HERVE Y. (1995). Breeding maize line for complete and partial resistance to maize streak virus (MSV). Euphytica, 81,57-70.